

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені
ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
ЛЬВІВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ імені
ДАНИЛА ГАЛИЦЬКОГО

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

ДОБРИК ДМИТРО СЕРГІЙОВИЧ

УДК: 616.34-007.21-053.32-037-084

ДИСЕРТАЦІЯ
ПРОГНОЗУВАННЯ ТА ПРОФІЛАКТИКА ПОРУШЕНЬ
ПОСТНАТАЛЬНОЇ АДАПТАЦІЇ НЕЗРІЛОГО ТРАВНОГО КАНАЛУ У
ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ ДІТЕЙ

228 – педіатрія

22 – охорона здоров'я

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

Д.С. Добрик

Науковий керівник: **Добрянський Дмитро Олександрович**, доктор медичних наук, професор

Львів – 2023

АНОТАЦІЯ

Добрик Д.С. Прогнозування та профілактика порушень постнатальної адаптації незрілого травного каналу у передчасно народжених дітей. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії за спеціальністю 228 – педіатрія (галузь знань 22 – охорона здоров'я). – Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького МОЗ України, Львів, 2023.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню наукового завдання, яке полягало в удосконаленні медичної допомоги передчасно народженим дітям з порушеннями постнатальної адаптації незрілого травного каналу (ТК) шляхом виявлення немовлят з відповідним ризиком і впровадження профілактичних заходів, опрацьованих на підставі отриманих клінічних і лабораторних даних.

Некротизуючий ентероколіт (НЕК), ранній та пізній неонатальний сепсис, залишаються важливими клінічними проблемами, які продовжують тривалість госпіталізації, збільшують видатки, підвищують імовірність довгострокових негативних наслідків і смертність.

Частота НЕК в різних країнах світу коливається від 2 до 10 %, з них 90 % випадків НЕК трапляються у немовлят з терміном гестації (ТГ) < 32 тиж, а летальність може досягати 25-40 %. Пізній неонатальний сепсис (ПНС) діагностують у 20-35 % таких дітей з летальністю близько 20 %. Окрім високої летальності, виникнення НЕК та ПНС у передчасно народжених немовлят асоціюється з підвищеним ризиком розвитку бронхолегеневої дисплазії, ретинопатії недоношених, внутрішньошлуночкових крововиливів та інших тяжких уражень центральної нервової системи (ЦНС), а також порушеннями нейрокогнітивного розвитку.

Ключовим механізмом запобігання виникненню цих захворювань є успішна постнатальна адаптація незрілого ТК, яка у передчасно народжених дітей відбувається у суттєво відмінних умовах порівняно зі здоровими доношеними новонародженими. Раннє відлучення від матері та госпіталізація у відділення

інтенсивної терапії новонароджених (ВІТН), емпіричне і тривале призначення антибіотиків, відстрочений початок ентерального харчування (ЕХ) з використанням сумішей або донорського ГМ, у поєднанні з анатомічно-функціональною незрілістю ТК, істотно підвищують імовірність порушень процесів постнатальної адаптації ТК, що в результаті призводить до виникнення НЕК та сепсису. Отже, патогенетично обґрунтованим втручанням у групі найбільш незрілих немовлят може бути додаткове імунне харчування, зокрема ентеральне призначення лактоферину (ЛФ) та пробіотиків.

На сьогодні існують лише докази низької якості, які свідчать, що ентеральне застосування коров'ячого ЛФ у цій популяції новонароджених потенційно здатне знижувати частоту виникнення інфекцій та уражень ТК; відсутні рекомендації щодо дозування, тривалості застосування та типу ЛФ, який слід застосовувати.

Пробіотики завжди розглядались як потенційний засіб профілактики НЕК й інфекційних захворювань новонароджених. Фрагментарні дані свідчать, що застосування *Lactobacillus.reuteri DSM 17938* може знижувати частоту сепсису та тривалість госпіталізації, а також покращувати толерантність до ЕХ у недоношених дітей, однак додаткового вивчення потребують клінічна ефективність цього штаму у профілактиці НЕК та неонатального сепсису, а також безпека його рутинного використання у цій популяції новонароджених немовлят.

Актуальним також залишається прогнозування виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК та пошук додаткових методів їх ранньої діагностики. Оскільки запальна відповідь є ключовою патогенетичною ланкою розвитку НЕК та сепсису, рівень фекального кальпротектину (ФК) може бути потенційним маркером цих захворювань, однак потрібно більше даних щодо його прогностичної цінності як раннього маркера НЕК і сепсису у таких дітей.

Все вище зазначене визначило мету дослідження – удосконалити медичну допомогу передчасно народженим дітям з порушеннями постнатальної адаптації

незрілого ТК шляхом виявлення немовлят з відповідним ризиком і впровадження профілактичних заходів, опрацьованих на підставі отриманих клінічних і лабораторних даних.

Для досягнення мети були вивчені чинники ризику, частота і структура захворювань, пов'язаних із порушенням адаптації незрілого ТК у передчасно народжених дітей; визначено діагностичну значущість ФК як маркера запального статусу незрілого ТК у прогнозуванні захворювань, пов'язаних з порушенням його адаптації, а також оцінено вплив застосування ЛФ на рівні ФК; вивчено клінічну ефективність ентерального застосування ЛФ та пробіотика *L. reuteri DSM 17938* у профілактиці НЕК та ПНС, а також вплив цього пробіотика на формування кишкової мікробіоти та зв'язок останньої з виникненням цих захворювань; розроблено стратегію виявлення немовлят з ризиком виникнення захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК, а також комплекс профілактичних заходів.

Загалом 164 дитини були залучені у дослідження в перші 72 години життя. Усі немовлята народились у ТГ ≤ 32 тижнів з масою тіла (МТ) ≤ 1500 г. Робота виконувалась на 3 етапах та у 4 напрямках. Пацієнти лікувались і перебували під спостереженням у відділеннях інтенсивного та постінтенсивного лікування КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» протягом 2019-2022 рр.

Першим напрямком першого етапу дослідження було оцінювання клінічної ефективності ентерального застосування ЛФ; другий напрямок цього етапу дослідження передбачав визначення прогностичної значущості ФК щодо виникнення раннього неонатального сепсису (РНС), ПНС та НЕК II+ стадії, а також впливу застосування ЛФ на рівні ФК. На першому етапі у проспективне когортне дослідження були залучені 117 передчасно народжених дітей. Двадцяти семи немовлятам, яких розпочали годувати ентерально, рандомізовано призначали ЛФ у дозі 100 мг/добу, а 90 дітей склали групу порівняння 1 й отримували стандартне лікування. У 26 новонароджених (в 11 дітей із групи ЛФ й у 15 немовлят із групи порівняння 1) визначали рівні ФК. Перше вимірювання здійснювали на першому тижні життя, повторне – на момент досягнення

постменструального віку (ПМВ) 36 тиж.

Першим напрямком другого етапу дослідження було оцінювання клінічної ефективності пробіотика *L. reuteri DSM 17938*; другий напрямок передбачав вивчення впливу цього пробіотика на формування мікробіоти ТК, а також встановлення зв'язку між складом кишкової мікробіоти та виникненням захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК. На цьому етапі у відкрите рандомізоване дослідження були залучені 100 немовлят, 50 з яких увійшли у групу пробіотика й отримували *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу до моменту виписки із стаціонару, а 50 сформували групу порівняння 2 й отримували стандартне лікування. Для виконання завдань другого напрямку цього етапу дослідження, за допомогою бактеріологічних методів досліджували випорожнення на першому тижні життя й у ПМВ 36 тиж (відповідно у 34 дітей із групи пробіотика й у 29 немовлят із групи порівняння 2 й у 33 дітей із групи пробіотика та 25 немовлят із групи порівняння 2).

На третьому етапі дослідження з метою вивчення чинників ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК, усі діти ретроспективно були розподілені у групу захворювань, до якої увійшли 49 дітей, які хворіли на НЕК II+ стадії та (або) ПНС, та групу порівняння 3, яку сформували 98 дітей без цих захворювань.

Отримані дані аналізували за допомогою стандартних методів описової статистики, категоріального, порівняльного, кореляційного, коваріантного і логістичного регресійного аналізів, а також кривих виживання. Для оцінки прогностичної цінності ФК використовували ROC-аналіз з визначенням площі під ROC-кривою та розрахунком чутливості та специфічності відповідних показників. Усі результати вважали достовірними, якщо $p < 0,05$.

Захворювання, пов'язані з незрілістю ТК, значно частіше виникали у немовлят з меншими ТГ і МТ при народженні, які народились від багатоплідної вагітності з нижчими оцінками за шкалою Апгар на 5 хв життя ($p < 0,05$). Ці діти достовірно частіше потребували введення екзогенного сурфактанту, медикаментозного лікування ВАП, замісних переливань еритроцитарної маси,

призначення стероїдів і лікування із застосуванням ШВЛ, а також триваліше перебували на дихальній підтримці (ДП) і були залежними від додаткового призначення кисню ($p < 0,05$). Дітей із групи захворювань також пізніше починали годувати ентерально, вони довше отримували мінімальне ентеральне харчування (МЕХ), у них також частіше виявляли епізоди зниженої толерантності до ЕХ ($p < 0,05$).

За підсумками багатофакторного логістичного регресійного аналізу лише три чинники ризику незалежно та достовірно впливали на ризик виникнення ПНС і НЕК: вік початку МЕХ (коефіцієнт співвідношення шансів (КСШ) (95% довірчий інтервал (ДІ): 1,042 (0,998-1,089); $p < 0,05$); кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ (КСШ (95% ДІ): 1,766 (1,323-2,356); $p < 0,001$) та потреба у замісних трансфузіях еритроцитарної маси (КСШ (95% ДІ): 3,280 (1,199-8,974); $p < 0,05$).

У проспективному дослідженні клінічної ефективності ЛФ не було виявлено достовірних відмінностей між групами за частотою виникнення ПНС й іншою тяжкою захворюваністю. Діти, які отримували ЛФ, достовірно скоріше досягали повних об'ємів ЕХ (14,0 (10,0-17,0) днів проти 19,0 (13,0-32,0) днів; $p < 0,05$), а немовлята з ТГ ≤ 28 тиж із групи ЛФ достовірно скоріше виписувались додому (74,0 (68,0-89,0) днів проти 98,0 (83,0-109,0) днів; $p < 0,05$).

Рівні ФК на першому тижні життя достовірно не відрізнялись у дітей із групи ЛФ та порівняння 2. У ПМВ 36 тиж вміст ФК у випорожненнях немовлят, які отримували ЛФ, зростав, а у дітей на стандартному лікуванні знижувався, однак відмінність між групами не була достовірною. Динаміка показників ФК немовлят в обидвох групах також не була статистично вірогідною. Рівні ФК на першому тижні життя у дітей, які в подальшому захворіли на ПНС та НЕК, достовірно не відрізнялись від цього показника у дітей без цих захворювань. Рівні ФК на першому тижні життя у немовлят, які хворіли на РНС, були достовірно вищими порівняно з дітьми без цього захворювання (800,0 (294,4-800,0) мкг/г проти 274,2 (195,5-639,1) мкг/г; $p < 0,05$). За даними ROC-аналізу встановлено, що показник ФК 373,9 мкг/г мав чутливість 71 % та специфічність

63 % щодо виявлення ПНС у передчасно народжених немовлят (площа під кривою – 0,79; 95% ДІ: 0,81-0,97; $p < 0,05$). Прогностична цінність результату $\geq 373,9$ мкг/г становила 41,6 %, а результату $< 373,9$ мкг/г – 85,7 %.

Призначення *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу, не впливало на частоту НЕК II+ стадії та ПНС, а також на загальну смертність. Водночас було встановлено, що ентеральне застосування *L. reuteri DSM 17938* достовірно скорочувало загальну тривалість госпіталізації у дітей з ТГ ≥ 28 тиж (відповідно 56,0 (46,0-71,0) днів проти 65,0 (60,0-87,9) днів; $p < 0,05$), також асоціювалось з недостовірно скорішим досягненням повного об'єму ЕХ. Ентеральне застосування *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу у передчасно народжених дітей з ТГ ≤ 32 тиж добре толерувалось і було безпечним, однак не впливало на частоту виявлення біфідо- і лактобактерій за допомогою бактеріологічних методів у ПМВ 36 тиж.

Менша загальна кількість бактерій у випорожненнях (2,0 (1,0-3,0) проти 3,0 (2,0-4,0); $p < 0,05$; $p < 0,05$) та низька частота виявлення *E. coli* (1 (4,8 %) випадок проти 18 (42,9 %) випадків; $p < 0,05$), достовірно асоціювались із виникненням ПНС (відповідно $rS = -0,25$ та КСШ (95% ДІ): 15,0 (1,84-122,41); $p < 0,05$). Водночас, менша кількість *Klebsiella pneumonia* ($0,02 (0,01-0,02) \times 10^8$ /г проти $(2,0 (0,4-3,9) \times 10^8$ /г; $p < 0,05$) у випорожненнях немовлят в перший тиждень життя достовірно корелювала з виникненням НЕК в подальшому ($rS = -0,67$; $p < 0,05$).

Отримані результати дозволили розширити наукові уявлення про особливості адаптації незрілого ТК у передчасно народжених дітей з ТГ ≤ 32 тиж та МТ при народженні ≤ 1500 г, оцінити прогностичну значущість клінічних і лабораторних даних щодо захворювань, які виникають внаслідок порушень цієї адаптації, а також оцінити ефективність відповідних нових методів профілактики. Вперше в Україні виконано рандомізоване дослідження, яке оцінювало клінічну ефективність ентерального застосування ЛФ, а також ефективність і безпеку використання *L. reuteri DSM 17938* у цій популяції новонароджених. Опрацьований диференційований підхід дозволяє удосконалити медичну допомогу значно недоношеним немовлятам.

Стратегія надання медичної допомоги передчасно народженим дітям із групи ризику виникнення порушень постнатальної адаптації ТК має бути комплексною та спрямованою на уникнення додаткових ризиків, до яких потрібно відносити відстрочений початок ЕХ (пізніше 12 год життя), швидко прогресуючу на тлі дихальної підтримки анемію з потребою щонайменше двох замісних трансфузії еритроцитарної маси, та виникнення щонайменше 2 епізодів зниженої толерантності до ЕХ.

Отримані дані вказують на можливий зв'язок між дисбіозом ТК на першому тижні життя, ознаками якого є менша частота виявлення *E. Coli* і менша кількість *Klebsiella pneumonia* у випорожненнях, та виникненням захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК. Однак, результатів одного бактеріологічного дослідження у ранній неонатальний період недостатньо для вірогідного прогнозування виникнення цих захворювань.

Щоби покращити діагностику РНС, на 2-3 добу життя доцільно визначати ФК, що дозволить заперечити наявність цього захворювання з вірогідністю 85 %, якщо отриманий результат буде меншим від 373,9 мкг/г. Точність діагностики можна покращити за допомогою обстеження в динаміці, через декілька днів.

Потрібно докладати максимум зусиль, щоб забезпечити якомога скоріший початок ЕХ передчасно народжених немовлят із групи ризику щодо виникнення захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК, материнським або донорським ГМ, а також зменшувати ймовірність розвитку ранньої ятрогенної анемії. Отримані дані обґрунтовують доцільність призначення дітям з ТГ ≤ 32 тиж коров'ячого ЛФ у дозі 100 мг/добу та *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу від моменту сталого толерування МЕХ до моменту виписки. Ці призначення дозволять не лише покращити толерантність до ЕХ та скоріше досягнути його повного об'єму, але і скоротити тривалість госпіталізації.

Ключові слова: незрілий травний канал, неонатальний сепсис, некротизуючий ентероколіт, профілактика, лактоферин, фекальний кальпротектин, кишкова мікробіота, *L. reuteri DSM 17938*, значно недоношені новонароджені.

SUMMARY

Dobryk D.S. Prediction and prevention of postnatal transition disorders of the immature digestive tract in preterm infants – on the rights of the manuscript.

A thesis for obtaining the scientific degree of Doctor of Philosophy. Specialty 228 – Pediatrics (field of knowledge 22 – Health Care). – Danylo Halytsky Lviv National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine, Lviv, 2023.

The dissertation is devoted to the solution of the scientific problem, which was to improve medical care for preterm infants with disorders of postnatal transition of the immature digestive tract (DT) by identifying infants with a corresponding risk and implementing preventive measures based on the clinical and laboratory data obtained.

Necrotizing enterocolitis (NEC), early- and late-onset neonatal sepsis remain important clinical problems that prolong hospitalization, increase costs, the likelihood of long-term adverse events, and mortality.

The incidence of NEC varies from 2 % to 10 % worldwide, of which 90 % of NEC cases occur in infants < 32 weeks gestational age (GA), and mortality can be as high as 25 % to 40 %. Late-onset neonatal sepsis (LOS) is diagnosed in 20 % to 35 % of these infants with a mortality rate of about 20 %. In addition to high mortality, the occurrence of NEC and LOS in preterm infants is associated with an increased risk of bronchopulmonary dysplasia, retinopathy of prematurity, intraventricular hemorrhage, and other severe brain injuries, as well as neurocognitive developmental disorders.

A key mechanism for preventing the occurrence of these diseases is the successful postnatal transition of immature DT, which in preterm babies occurs in significantly different conditions compared to healthy full-term newborns. Early separation from mother and admission to the neonatal intensive care unit (NICU), empirical and long-term antibiotics, delayed initiation of enteral feeds (EF) using formulas or donor breast milk (BM), in combination with anatomical and functional immaturity of the DT, significantly increase the likelihood of postnatal transition disorders of DT, resulting in NEC and sepsis. Therefore, supplemental immune nutrition, in particular, enteral administration of lactoferrin (LF) and probiotics, may be a pathogenetically justified

intervention in the group of the most immature infants.

To date, there is only low-quality evidence suggesting that enteral administration of bovine LF in this neonatal population has the potential to reduce the incidence of infections and disorders of DT; there are no recommendations regarding the dosage, duration of use, and type of LF to be used.

Probiotics have always been considered as a potential intervention for preventing NEC and neonatal infectious diseases. Fragmentary data indicate that the use of *Lactobacillus reuteri DSM 17938* may reduce the incidence of sepsis and the duration of hospitalization, as well as improve tolerance to EF in preterm infants, but the clinical efficacy of this strain in the prevention of NEC and neonatal sepsis, as well as the safety of its routine use in this newborn infant population, requires further study.

It is also relevant to predict the occurrence of diseases associated with disorders of postnatal transition of immature DT and to search for additional methods for their early diagnosis. Since the inflammatory response is a key pathogenetic link in the development of NEC and sepsis, fecal calprotectin (FC) levels may be a potential marker of these diseases, but more data are needed on its predictive value as an early marker of NEC and sepsis in these infants.

All of the above determined the aim of the study – to improve the medical care for preterm infants with disorders of postnatal transition of immature DT by identifying infants with a corresponding risk and implementing preventive measures based on the clinical and laboratory data obtained.

To achieve this goal, the risk factors, incidence, and spectrum of diseases associated with disorders of postnatal transition of immature DT in preterm infants were studied; the diagnostic significance of FC as a marker of the inflammatory status of immature DT in the prognosis of diseases associated with impaired transition was determined, and the impact of LF use at the level of FC was evaluated; the clinical efficacy of enteral use of LF and probiotic *L. reuteri DSM 17938* were studied in the prevention of NEC and LOS, as well as the effect of this probiotic on the formation of the intestinal microbiota and the link between intestinal microbiota and the occurrence of the mentioned diseases; a strategy for identifying infants at risk of diseases

associated with DT immaturity, as well as a set of preventive measures, has been developed.

A total of 164 infants were enrolled in the study in the first 72 hours of life. All infants were born with GA of ≤ 32 weeks with a birth weight (BW) of ≤ 1500 g. The study was carried out in 3 stages and 4 directions. Patients were treated and monitored in the intensive and post-intensive care units at Lviv Regional Clinical Hospital during 2019-2022.

The first direction of the first stage of the study was to evaluate the clinical efficacy of enteral use of LF; the second direction of this phase of the study involved determining the prognostic significance of FC for the occurrence of early-onset neonatal sepsis (EOS), LOS and NEC stage II+, as well as the impact of LF use at the levels of FC. In the first stage, 117 preterm babies were enrolled in the prospective cohort study. Twenty-seven infants who started enteral feeding were randomly assigned LF at a dose of 100 mg/day, and 90 infants made up comparison group 1 and received standard care. In 26 neonates (11 infants in the LF group and 15 infants in the comparison group 1), FC levels were measured. The first measurement was carried out in the first week of life, and the second – at the time of reaching postmenstrual age (PMA) of 36 weeks.

The first direction of the second stage of the study was to evaluate the clinical efficacy of the probiotic *L. reuteri DSM 17938*; the second direction involved investigating the effect of this probiotic on the formation of the intestinal microbiota, as well as the establishment of a relationship between the composition of the intestinal microbiota and the occurrence of diseases associated with disorders of postnatal transition of immature DT. At this stage, 100 infants were enrolled in an open randomized trial, 50 of whom were enrolled in the probiotic group and received *L. reuteri DSM 17938* at a dose of 10^8 CFU/day until discharge, and 50 formed a comparison group 2 and received standard care. To achieve the goals of the second direction of this stage of the study, bacteriological methods were used to examine feces in the first week of life and at PMA of 36 weeks (in 34 infants from the probiotic group and 29 infants in the comparison group 2 and 33 infants in the probiotic group and 25

infants in the comparison group 2, respectively).

At the third stage of the study, to determine the risk factors for diseases associated with disorders of postnatal transition of immature DT, all infants were retrospectively divided into the group of diseases, which included 49 newborns with stage II+ NEC and/or LOS, and the comparison group 3, which was formed by 98 newborns without these diseases.

The obtained data were analyzed using standard methods of descriptive statistics, categorical, comparative, correlation, and logistic regression analysis, as well as analysis of covariance and survival curves. To assess the predictive value of FC, ROC analysis was used to determine the area under the ROC curve and to calculate the sensitivity and specificity of the relevant indicators. All results were considered significant if $p < 0.05$.

Diseases associated with disorders of postnatal transition of immature DT were significantly more likely to occur in infants with lower GA and BW who were born from multiple pregnancies with lower Apgar scores at 5 minutes of life ($p < 0.05$). These newborns were significantly more likely to require exogenous surfactant, PDA pharmacological closure of patent ductus arteriosus, red blood cell replacement transfusions, postnatal steroids, and mechanical ventilation, as well as longer periods of respiratory support and dependence on supplemental oxygen ($p < 0.05$). Compared to infants in the comparison group, infants in the disease group were introduced to EF later, received minimal enteral nutrition (MEF) for a longer time, and were also more likely to have episodes of feeding intolerance ($p < 0.05$).

According to the results of multivariate logistic regression analysis, only three risk factors independently and reliably influenced the risk of LOS and NEC: age of MEF introduction (OR (95% CI): 1.042 (0.998-1.089); $p < 0.05$), number of episodes of feeding intolerance (OR (95% CI): 1.766 (1.323-2.356); $p < 0.001$) and need for red blood cell replacement transfusions (OR (95% CI): 3.280 (1.199-8.974); $p < 0.05$).

In a prospective study of the clinical efficacy of LF, no significant differences between the incidence of LOS and other severe morbidities were found between the groups. Infants who received LF were significantly more likely to achieve full EF earlier (14.0 (10.0-17.0) days vs 19.0 (13.0-32.0) days; $p < 0.05$), and infants with GA

of ≤ 28 weeks from the LF group were significantly more likely to be discharged home earlier (74.0 (68.0-89.0) days vs 98.0 (83.0-109.0) days; $p < 0.05$).

FC levels in the first week of life did not differ significantly between children in the LF group and the comparison group 2. At PMA of 36 weeks, the FC levels in the feces of infants treated with LF increased, while in newborns on standard treatment, those levels decreased, but the difference between the groups was not significant. The dynamics of FC levels in both groups were not statistically significant either. FC levels in the first week of life in infants who subsequently developed LOS and NEC did not differ significantly from those in children without these diseases. FC levels in the first week of life in infants with EOS were significantly higher compared to infants without this disease (800.0 (294.4-800.0) mcg/g vs 274.2 (195.5-639.1) mcg/g; $p < 0.05$). According to the ROC analysis, it was found that the FC level of 373.9 mcg/g had a sensitivity of 71 % and a specificity of 63 % for the detection of EOS in preterm infants (area under the curve – 0.79; 95 % CI: 0.81-0.97; $p < 0.05$). The positive predictive value of the result of ≥ 373.9 mcg/g was 41.6 %, and the negative predictive value for the result of < 373.9 mcg/g was 85,7 %.

Administration of *L. reuteri DSM 17938* at a dose of 10^8 CFU/day did not affect either the incidence of stage II+ NEC and LOS, or overall mortality. At the same time, it was found that enteral administration of *L. reuteri DSM 17938* significantly reduced the duration of hospital stay in infants with GA of ≥ 28 weeks (respectively 56.0 (46.0-71.0) days vs 65.0 (60.0-87.9) days; $p < 0.05$), also it has been associated with an insignificantly quicker achievement of full EF volume. Enteral administration of *L. reuteri DSM 17938* at a dose of 10^8 CFU/day in preterm infants with GA of ≤ 32 weeks was well tolerated and safe but did not affect the incidence of bifidobacteria and lactobacilli detection rate by bacteriological methods at PMA of 36 weeks.

A lower total number of bacteria in the feces sample (2.0 (1.0-3.0) vs. 3.0 (2.0-4.0); $p < 0.05$) and a low incidence of *E. coli* detection (1 (4.8%) samples vs. 18 (42.9%) samples; $p < 0.05$) were significantly associated with the occurrence of LOS (rS = -0,25 and RR (95% CI): 15.0 (1.84-122.41); $p < 0.05$). At the same time, a lower abundance of *Klebsiella pneumonia* ($0.02 (0.01-0.02) \times 10^8/g$ vs. $(2.0 (0.4-3.9) \times 10^8/g$; $p < 0.05$)

in infants' feces in the first week of life was significantly correlated with the occurrence of NEC later ($rS = -0.67$; $p < 0.05$).

The obtained results expand scientific ideas about the peculiarities of postnatal transition of immature DT in preterm infants with GA of ≤ 32 weeks and BW ≤ 1500 g, assess the prognostic significance of clinical and laboratory data on diseases that arise as a result of disorders of this transition, as well as the assessment of the effectiveness of relevant new methods of prevention of these diseases. For the first time in Ukraine, a randomized trial was performed to evaluate the clinical efficacy of enteral LF, as well as the efficacy and safety of *L. reuteri DSM 17938* in this neonatal population. The elaborated differential approach makes it possible to improve the medical care for very preterm infants.

The strategy of providing medical care to preterm infants at risk of postnatal transition disorders should be comprehensive and aimed at avoiding additional risks, which include delayed introduction of EF (for more than 12 hours after birth), rapidly progressing anemia with the need for at least two replacement red blood cell transfusions, and the occurrence of at least 2 episodes of feeding intolerance. The obtained data indicate a possible link between intestinal dysbiosis in the first week of life, which is represented by a lower incidence of *E. coli* and a lower abundance of *Klebsiella pneumoniae*, and the occurrence of diseases associated with impaired postnatal transition of immature DT. However, the results of a single feces examination in the early neonatal period are not sufficient to predict the occurrence of these diseases.

To improve the diagnosis of EOS, FC measurement on the 2-3 day of life is advised, which will rule out this disease with a probability of 85 % if the obtained result is less than 373.9 mcg/g.

Every effort should be made to ensure the earliest possible introduction of EF with maternal or donor BM in preterm infants at risk for diseases associated with DT immaturity and to reduce the likelihood of developing early iatrogenic anemia. The obtained data justify the feasibility of prescribing bovine LF at a dose of 100 mg/day and *L. reuteri DSM 17938* at a dose of 10^8 CFU/day in infants with GA of ≤ 32 weeks from the moment of constant tolerance of MEF until discharge. These prescriptions

will not only improve tolerance to EF and to reach its full volume quicker, but also shorten the duration of hospitalization.

Keywords: immature digestive tract, neonatal sepsis, necrotizing enterocolitis, prophylaxis, lactoferrin, fecal calprotectin, intestinal microbiota, *L. reuteri* DSM 17938, very preterm infants.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1) Добрянський Д.О, Добрик Д.С. Можливості та перспективи імунного харчування передчасно народжених немовлят. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2021; 11(1(39)): 39–47. doi: 10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.6 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, написанні статті, формулюванні висновків, підготував матеріал до друку).*

2) **Dobryk D.S.**, Dobryk O.O., & Dobryanskyu D.O. The effect of enteral lactoferrin supplementation in prevention of morbidity associated with immature digestive tract in premature infants: prospective cohort study. Georgian medical news. 2022; (323): 94–101. PMID: 35271478.28 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

3) **Dobryk D.S.**, Dobryanskyu D.O. Fecal calprotectin, lactoferrin and morbidity associated with immature digestive tract in preterm infants. Modern Pediatrics. Ukraine. 2022; 7(127): 38–45. doi: 10.15574/SP.2022.127.38 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

4) **Добрик Д.С.**, Добрянський Д.О. Пробіотики, кишкова мікробіота та захворювання, пов'язані з незрілістю травного каналу, у значно недоношених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 2023; 3(131): 22-30. doi: 10.15574/SP.2023.131.22 *(Особистий внесок: здійснював пошук і вивчав*

літературні джерела, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

1) **Добрик Д.С., Добрянський Д.О.** Залежність показників фекального кальпротектину від ентерального застосування лактоферину у передчасно народжених дітей». Матеріали української науково-практичної конференції лікарів-педіатрів з міжнародною участю «Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією». 2021; 76-78. *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

2) **Dobryk D.S., Dobryanskyu D.O.** Bovine lactoferrin and fecal calprotectin in premature infants», 4th Congress of Joint European Neonatal Societies: Nutrition. *Pediatr Res.* 2021; 90: 27–34. doi: 10.1038/s41390-021-01762-6 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

3) **Добрик Д.С., Добрянський Д.О.** Клінічна ефективність ентерального застосування лактоферину у передчасно народжених дітей». Матеріали І науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні мультидисциплінарні питання перинатології, неонатології та педіатрії: клінічні і правові аспекти». 2021 11-12. *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, ТЕРМІНІВ.....	21
ВСТУП.....	23
РОЗДІЛ 1. КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ НЕЗРІЛОСТІ ТРАВНОГО КАНАЛУ У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ НЕМОВЛЯТ (АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	31
1.1 Анатомо-фізіологічні особливості незрілого травного каналу у передчасно народжених немовлят	31
1.2 Особливості місцевого імунітету незрілого ТК у передчасно народжених немовлят.....	35
1.3 Бактеріальна колонізація кишечника в передчасно народжених немовлят.....	40
1.3.1 Пренатальні чинники.....	42
1.3.2 Постнатальні чинники.....	42
1.4 Потенційні методи профілактики захворювань, пов'язаних з незрілістю травного каналу у передчасно народжених дітей.....	45
1.4.1 Молозиво.....	47
1.4.2 Імуноглобуліни.....	48
1.4.3 Лактоферин.....	48
1.4.4 Пробіотики.....	49
1.4.5 Пребіотики.....	50
1.4.6 Олігосахариди грудного молока.....	51
1.4.7 Раннє ентеральне харчування.....	52
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	54
2.1 Загальна організація і дизайн дослідження.....	54

2.2	Стандартні клінічні, інструментальні та лабораторні методи дослідження.....	59
2.3	Спеціальні дослідження.....	64
2.3.1	Визначення рівнів фекального кальпротектину	64
2.3.2	Бактеріологічне дослідження випорожнень.....	64
2.4	Статистичні методи.....	65
2.5	Дотримання вимог біоетики.....	65
	РОЗДІЛ 3. ЧИННИКИ РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ПОВ'ЯЗАНИХ З НЕЗРІЛІСТЮ ТРАВНОГО КАНАЛУ, У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ НЕМОВЛЯТ.....	67
3.1	Однофакторний аналіз пери- та постнатальних чинників ризику виникнення НЕК та ПНС у дітей груп дослідження.....	67
3.2	Багатофакторна ЛРМ ймовірності виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого травного каналу.....	72
	РОЗДІЛ 4. КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ БИЧАЧОГО ЛАКТОФЕРИНУ ТА ВПЛИВ ЛАКТОФЕРИНУ НА РІВНІ ФЕКАЛЬНОГО КАЛЬПРОТЕКТИНУ У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ НЕМОВЛЯТ.....	74
4.1	Клінічна характеристика пацієнтів.....	74
4.2	Вплив лактоферину на захворюваність та смертність дітей.....	76
	РОЗДІЛ 5. ПРОГНОСТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ ФЕКАЛЬНОГО КАЛЬПРОТЕКТИНУ ЯК МАРКЕРА ЗАПАЛЬНОГО СТАТУСУ НЕЗРІЛОГО ТРАВНОГО КАНАЛУ У ПРОГНОЗУВАННІ ЗАХВОРЮВАНЬ, ПОВ'ЯЗАНИХ З ПОРУШЕННЯМ АДАПТАЦІЇ НЕЗРІЛОГО ТРАВНОГО КАНАЛУ. ВПЛИВ ЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛАКТОФЕРИНУ НА РІВНІ ФЕКАЛЬНОГО КАЛЬПРОТЕКТИНУ.....	82
5.1	Клінічна характеристика дітей, у яких досліджувався фекальний кальпротектин.....	82

	19
5.2 Прогностичне значення фекального кальпротектину щодо виникнення захворювань, пов'язаних з незрілістю травного каналу	86
5.2.1 Зв'язок ФК та РНС.....	86
5.2.2 Зв'язок ФК і ПНС.....	87
5.2.3 Зв'язок ФК і НЕК.....	87
5.3 Вплив ентерального застосування коров'ячого ЛФ та рівні ФК у передчасно народжених немовлят.....	89
РОЗДІЛ 6. КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКА <i>LACTOBACILLUS REUTERI DSM 17938</i>	91
6.1 Клінічна ефективність ентерального застосування пробіотику <i>L. reuteri DSM 17938</i>	91
6.1.1 Клінічна характеристика пацієнтів.....	91
6.1.2 Результати клінічної ефективності пробіотичної терапії.....	91
6.2 Вплив пробіотику на мікробіоту травного каналу.....	96
6.3 Мікробіота травного каналу та захворювання, пов'язані з порушенням адаптації незрілого ТК.....	102
АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	107
7.1 Основні результати дослідження та їх обговорення.....	107
7.2 Стратегія профілактики та прогнозування порушень постнатальної адаптації у передчасно народжених немовлят.....	131
7.2.1 Профілактика порушень постнатальної адаптації у передчасно народжених немовлят.....	131
7.2.2 Прогнозування порушень постнатальної адаптації у передчасно народжених немовлят.....	133
ВИСНОВКИ.....	135
ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ.....	138
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ.....	140
Додаток А. СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ	

	20
ДИСЕРТАЦІЇ І ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ.....	170
Додаток Б. ВПРОВАДЖЕННЯ В ПРАКТИКУ.....	173

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ, ТЕРМІНІВ

АМП	антимікробні пептиди
БЛД	bronхолегенева дисплазія
ВАП	відкрита артеріальна протока
ВІТН	відділення інтенсивної терапії новонароджених
ВШК	внутрішньошлуночковий крововилив
ГМ	грудне молоко
ДІ	довірчий інтервал
ДП	дихальна підтримка
ЕХ	ентеральне харчування
ЗВУР	затримка внутрішньоутробного розвитку
КЛР	кисотно-лужна рівновага
КСШ	коефіцієнт співвідношення шансів
КУО	колонієутворюючі одиниці
ЛФ	лактоферин
МЕХ	мінімальне ентеральне харчування
МТ	маса тіла
НЕК	некротизуючий ентероколіт
ОСГМ	олігосахариди грудного молока
ПВЛ	перивентрикулярна лейкомаляція
ПЕХ	парентеральне харчування
ПМВ	постменструальний вік
ПНС	пізній неонатальний сепсис
РДС	респіраторний дистрес-синдром
РН	ретинопатія недоношених
РНС	ранній неонатальний сепсис
ФК	фекальний кальпротектин

ЦНС	центральна нервова система
ШВЛ	штучна вентиляція легень
ТГ	термін гестації
CPAP	постійний позитивний тиск у дихальних шляхах
Ig	Імуноглобуліни
IL	Інтерлейкіни
DSLNT	дисіаліллакто-N-тетраоза
TLR	дзвоноподібні рецептори

ВСТУП

Обґрунтування вибору теми дослідження

Передчасне народження є однією з найважливіших проблем сучасної охорони здоров'я у світі. За останні 20 років було досягнуто значного покращення результатів медичної допомоги передчасно народженим немовлятам. Завдяки застосуванню антенатальних кортикостероїдів, екзогенного сурфактанту та сучасних режимів штучної вентиляції легень вдалось суттєво знизити захворюваність та смертність, пов'язану з респіраторним дистрес-синдромом (РДС) новонароджених. Проте передчасне народження асоціюється з іншими тяжкими захворюваннями, які подовжують тривалість госпіталізації, збільшують видатки, підвищують імовірність довгострокових негативних наслідків і смертність. Зокрема, до таких захворювань відносяться некротизуючий ентероколіт (НЕК), ранній та пізній неонатальний сепсис, а також затримка постнатального фізичного розвитку, пов'язана з недостатнім харчуванням в неонатальний період.

Частота НЕК в різних країнах світу коливається, у середньому, від 2 до 10 % [1], з них 90 % випадків НЕК трапляються саме у немовлят з терміном гестації менше 32 тиж [2], а летальність може досягати 25-40 % [3]. Пізній неонатальний сепсис (ПНС) уражає від 20 % до 36 % таких немовлят [4,5] з летальністю близько 20 % [6]. Окрім високої летальності, виникнення НЕК та ПНС у передчасно народжених дітей асоціюється з підвищеним ризиком розвитку бронхолегеневої дисплазії (БЛД), ретинопатії недоношених (РН), внутрішньошлуночкових крововиливів (ВШК) та інших тяжких уражень ЦНС, а також порушеннями нейрокогнітивного розвитку [7].

Ключовим механізмом запобігання виникненню цих захворювань є успішна постнатальна адаптація незрілого травного каналу (ТК) передчасно народжених дітей. Остання, у свою чергу, залежить від двох важливих процесів: формування мікробіоти ТК та формування місцевого імунітету [8,9]. Колонізація ТК –

вразливий, повільний та поступовий процес, перебіг якого може змінюватись під впливом пери- та постнатальних чинників, зокрема терміну гестації, типу пологів, грудного або штучного вигодовування, застосування антибіотиків широкого спектра дії, особливостей середовища тощо [10]. Специфічні бактерії у поєднанні з імунологічними компонентами грудного молока (ГМ) відіграють критичну роль у формуванні адекватної імунної відповіді та дозріванні місцевого імунітету.

Однак, постнатальна адаптація ТК передчасно народжених дітей відбувається у суттєво відмінних умовах порівняно із здоровими доношеними новонародженими. Раннє відлучення від матері та госпіталізація у відділення інтенсивної терапії, емпіричне і тривале призначення антибіотиків [11], відстрочений початок ентерального харчування (ЕХ) з використанням сумішей або донорського ГМ, які не містять або містять недостатню кількість імунологічних компонентів [12,13], у поєднанні з анатомічно-функціональною незрілістю ТК, істотно підвищують імовірність порушень процесів постнатальної адаптації незрілого ТК [14]. Такі порушення можуть призводити до виникнення запалення, ішемії та втрати цілості кишок з наступним розвитком НЕК та сепсису. Відповідно патогенетично обґрунтованим дієвим профілактичним утручанням у групі найбільш незрілих передчасно народжених немовлят може бути додаткове імунне харчування, зокрема ентеральне призначення лактоферину (ЛФ) та пробіотиків, особливо якщо з будь-якої причини їх неможливо годувати молоком матері [15,16].

Завдяки широкому спектру бактерицидних, протигрибкових і противірусних властивостей, а також його здатності модулювати процес дозрівання та проліферації кишкового епітелію [16], ЛФ зацікавив дослідників в контексті потенційних профілактики та лікування НЕК і сепсису у передчасно народжених немовлят. За підсумками кількох рандомізованих досліджень на сьогодні існують лише докази низької якості, які свідчать, що ентеральне застосування коров'ячого ЛФ у цій популяції новонароджених потенційно здатне достовірно знижувати частоту виникнення інфекцій та уражень травного

каналу. Однак необхідні додаткові докази клінічної ефективності ЛФ, додаткового вивчення потребують дозування, тривалість застосування та тип ЛФ (людський або коров'ячий) для розробки чітких рекомендацій щодо застосування цього біологічно-активного білка у передчасно народжених дітей [17].

Враховуючи, що одну з ключових ролей в патогенезі НЕК та сепсису відіграє стан мікробіоти ТК передчасно народжених немовлят, пробіотики завжди розглядались як потенційний засіб профілактики цих захворювань [18]. *Lactobacillus reuteri DSM 17938* є одним із широко вживаних пробіотичних штамів, однак його ефективність і безпека недостатньо вивчені у передчасно народжених немовлят [19]. Результати клінічних досліджень вказують на потенційне зниження частоти сепсису та тривалості госпіталізації, а також покращення толерантності до ЕХ у недоношених немовлят, яким призначали цей пробіотик [20]. Однак, додаткового вивчення потребують його клінічна ефективність у профілактиці НЕК та неонатального сепсису, а також безпека рутинного використання у найменших недоношених немовлят [21].

Окрім профілактики та лікування захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, актуальними є прогнозування виникнення таких захворювань та пошук додаткових методів їх ранньої діагностики [22]. Оскільки запальна відповідь є ключовою патогенетичною ланкою розвитку НЕК та сепсису, рівень фекального кальпротектину (ФК) може бути потенційним маркером цих захворювань [23]. Наявних даних недостатньо для встановлення чітких референтних значень ФК у популяції передчасно народжених немовлят; потребує також додаткового вивчення діагностична цінність ФК як раннього маркера НЕК і сепсису у таких дітей.

Таким чином, надзвичайно актуальним залишається пошук методів і профілактики, і прогнозування захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК у передчасно народжених немовлят.

Мета дослідження

Удосконалити медичну допомогу передчасно народженим дітям з

порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК шляхом виявлення немовлят з відповідним ризиком і впровадження профілактичних заходів, опрацьованих на підставі отриманих клінічних і лабораторних даних.

Завдання дослідження

1. Вивчити чинники ризику, частоту і структуру захворювань, пов'язаних із порушеннями адаптації незрілого ТК у передчасно народжених дітей.

2. Визначити прогностичну значущість ФК як маркера запального статусу незрілого ТК у прогнозуванні захворювань, пов'язаних з порушеннями його адаптації, а також оцінити вплив застосування ЛФ на рівні ФК.

3. Оцінити клінічну ефективність ентерального застосування ЛФ з метою профілактики захворювань, асоційованих з порушеннями адаптації незрілого ТК.

4. Оцінити клінічну ефективність застосування пробіотику *L. reuteri DSM 17938* у профілактиці захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, вплив на формування кишкової мікробіоти та вивчити зв'язок останньої з виникненням таких захворювань.

5. Розробити стратегію виявлення немовлят з ризиком виникнення захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК, та відповідні профілактичні заходи.

Об'єкт дослідження: порушення адаптації незрілого ТК у передчасно народжених немовлят (ТГ \leq 32 тиж).

Предмет дослідження: чинники ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК, НЕК II+ стадії, неонатальний сепсис, ЕХ, мікробіота ТК, ФК, ЛФ, *L. reuteri DSM 17938*.

Методи дослідження

Загальноклінічні (стандартні клінічні визначення), стандартні лабораторні (загальний аналіз крові, вміст глюкози, електролітів, С-реактивного білка і білірубину у крові, дослідження газового складу і кислотно-лужного стану крові), інструментальні (рентгенографія органів грудної клітки та органів черевної порожнини, нейросонографія, ультразвукове обстеження внутрішніх органів), спеціальні лабораторні (визначення рівнів ФК на першому тижні життя та у

постменструальному віці (ПМВ) 36 тиж; бактеріологічне дослідження випорожнень на першому тижні життя та у ПМВ 36 тиж); статистичні.

Наукова новизна отриманих результатів

У роботі отримано нові дані щодо чинників ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК у значно недоношених новонароджених. Зокрема, встановлено, що пізніший початок ЕХ (коефіцієнт співвідношення шансів (КСШ) (95% довірчий інтервал (ДІ): 1,042 (0,998-1,089); $p=0,062$), більша кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ (КСШ (95% ДІ): 1,766 (1,323-2,356); $p<0,001$) і більша кількість замісних трансфузій еритромаси (КСШ (95% ДІ): 3,280 (1,199-8,974); $p=0,021$) достовірно та незалежно підвищують ймовірність виникнення НЕК та (або) ПНС.

Вперше визначено прогностичну значущість рівнів ФК у діагностиці РНС у значно недоношених немовлят. У цій популяції дітей показник ФК $\geq 373,9$ мкг/г має чутливість 71 % та специфічність 63 % щодо виявлення РНС (площа під кривою – 0,79; 95% ДІ: 0,81-0,97; $p=0,026$). Прогностична цінність позитивного результату $\geq 373,9$ мкг/г становить 41,6 %, а прогностична цінність результату $< 373,9$ мкг/г для виключення можливості розвитку РНС дорівнює 85,7 %. Вперше встановлено, що ентеральне призначення ЛФ не впливає на рівні ФК у передчасно народжених немовлят.

Вперше у рандомізованому дослідженні вивчено клінічну ефективність ЛФ у дозуванні 100 мг/добу у профілактиці виникнення ПНС, НЕК II+ стадії та зниженні загальної смертності у вітчизняній популяції передчасно народжених дітей з ТГ ≤ 32 тиж. Отримані результати засвідчили достовірно скоріше досягнення повного об'єму ЕХ (14 (10-17) проти 19 (13-72) днів; $p<0,05$) незалежно від ТГ та скорочення тривалості госпіталізації у підгрупі дітей з ТГ < 28 тиж (74 (68-89) проти 98 (83-109) днів; $p<0,05$).

У відкритому рандомізованому контрольованому дослідженні отримано нові докази безпеки та клінічної ефективності ентерального застосування *L. reuteri DSM 17938* у значно недоношених немовлят. Зокрема, підтверджено дані інших авторів щодо позитивного впливу застосування *L. reuteri DSM 17938* на

покращення толерантності до ЕХ та скоріше досягнення його повного об'єму у вітчизняній популяції значно недоношених немовлят. Доведено істотне скорочення тривалості загальної госпіталізації дітей, які отримували цей пробіотик. Встановлено, що позитивні ефекти призначення *L. reuteri DSM 17938* не пов'язані зі збільшенням кількості живих лактобактерій у випорожненнях немовлят. Розширено доказову базу рекомендацій щодо використання *L. reuteri DSM 17938* з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК у передчасно народжених дітей.

Особистий внесок здобувача

Виконана дисертаційна робота є самостійним науковим дослідженням та особистою працею автора. Автор самостійно виконав літературний та патентний пошук, узагальнив його результати для визначення напрямків дослідження та проаналізував дані сучасної наукової літератури за темою роботи. Разом з науковим керівником були сформульовані мета і завдання дослідження та розроблено дизайн його виконання. Дисертант самостійно набрав та проаналізував клінічний матеріал, особисто систематизував отримані результати, створив електронну базу даних для подальших статистичних розрахунків, написав усі розділи дисертаційної роботи, підготував отримані дані до публікацій та виступів на конференціях. У публікаціях, написаних у співавторстві, дисертанту належить ідея видання, отримання й обробка результатів, написання і підготовка до друку рукописів. Співавтори робіт (науковий керівник, працівники кафедри педіатрії №2 ЛНМУ ім. Данила Галицького) надавали консультативну, методологічну й організаційну допомогу, а також брали участь у виконанні дослідження.

Апробація результатів дослідження

Основні положення роботи обговорювалися на:

- Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією» (Харків, 2021);
- IV Конгресі об'єднаних європейських неонатологічних товариств (Афіни,

2021);

- Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні мультидисциплінарні питання перинатології, неонатології та педіатрії: клінічні і правові аспекти» (Львів, 2021);

- Науково-практичній конференції з міжнародною участю «IV Полтавські перинатальні читання ім. Н.М. Максимовича-Амбодика «Здоров'я жінки та дитини: нові виклики сьогодення та можливості» (Полтава, 2022).

Публікації

За матеріалами дисертації опубліковано 7 наукових праць, з них – 3 статті у вітчизняних наукових фахових виданнях, які визначені МОН України та входять у наукометричні бази даних (усі цитуються у базі Scopus), 1 стаття у зарубіжному журналі, віднесеному до четвертої квартилі (цитується у базі Scopus), 3 публікації у збірниках наукових праць та матеріалах конференцій (з них 1 – у зарубіжному журналі, віднесеному до Q1).

Обсяг і структура дисертації

Дисертаційна робота викладена українською мовою на 176 сторінках комп'ютерного тексту, з яких 117 сторінок займає основний текст. Робота складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу «Матеріали і методи дослідження», чотирьох розділів власних досліджень, аналізу й обговорення результатів, висновків, списку літератури і 2 додатків. Список використаних джерел літератури містить 244 найменування. Роботу ілюстровано 22 таблицями і 5 рисунками.

Зв'язок роботи з науковими темами

Дисертаційна робота виконана на кафедрі педіатрії №2 Львівського національного медичного університету ім. Данила Галицького і є фрагментом двох комплексних тем: «Удосконалення методів діагностики, лікування і профілактики найпоширеніших захворювань дитячого віку» (№ держреєстрації 0117U001083; роки виконання – 2017-2021) і «Клініко-лабораторне та інструментальне обґрунтування диференційних підходів до діагностики, лікування та профілактики захворювань дитячого віку» (№ державної реєстрації

0122U000164; роки виконання – 2022-2026).

Практичне значення отриманих результатів

Визначені вірогідні чинники ризику захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК у значно недоношених новонароджених, що дозволить формувати відповідну групу ризику і спрямовано використовувати профілактичні заходи. Зокрема, це початок ЕХ після 12 год життя, два або більше епізодів зниженої толерантності до ЕХ та потреба 2-х і більше разових замісних трансфузії еритроцитарної маси.

Встановлено, що пороговий рівень ФК 373,9 мкг/г в перші 3 доби життя є додатковим діагностичним критерієм РНС у передчасно народжених немовлят з ТГ \leq 32 тиж.

Доведено, що ентеральне застосування коров'ячого ЛФ у дозі 100 мг/добу та *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу від моменту сталого толерування МЕХ до моменту виписки є безпечним втручанням, яке покращує толерантність до ЕХ, сприяє скорішому досягненню його повного об'єму, а також скороченню тривалості застосування антибактеріальної терапії і госпіталізації у вітчизняній популяції передчасно народжених немовлят з ТГ \leq 32 тиж.

Встановлено, що однократне дослідження випорожнень значно недоношених дітей за допомогою класичних бактеріологічних методів у ранній неонатальний період не дозволяє прогнозувати порушення адаптації незрілого ТК.

Розроблено рекомендації щодо виявлення немовлят з ризиком виникнення захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК, а також комплекс відповідних профілактичних заходів з використанням ЛФ і *L. reuteri DSM 17938*.

Впровадження в практику

Результати дослідження впроваджено у роботу відділення інтенсивної терапії новонароджених КНП «1-е ТМО м. Львова, Лікарня Святого Миколая», ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології ім. акад. О. М. Лук'янової НАМН України», КНП «Івано-Франківський обласний перинатальний центр Івано-Франківської обласної ради», КНП «Чернівецький обласний перинатальний центр».

РОЗДІЛ 1
КЛІНІЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ НЕЗРІЛОСТІ ТРАВНОГО КАНАЛУ У
ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ НЕМОВЛЯТ
(АНАЛІТИЧНИЙ ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

1.1 Анатомо-фізіологічні особливості незрілого ТК у передчасно народжених немовлят

Після народження ТК дитини зазнає цілий ряд генетично запрограмованих динамічних біохімічних, структурних і функціональних змін, щоб забезпечити виконання своєї ключової функції у процесах харчування, імунної відповіді, самовідновлення та взаємозв'язку з іншими внутрішніми органами [24]. Однак, ці процеси можуть мати негативний характер у незрілому ТК передчасно народжених немовлят. Менша абсорбційна поверхня, незріла природжена й адаптивна місцева імунна відповідь, порушення моторики, підвищена кишкова проникність та вплив умовно-патогенних бактерій можуть порушувати адаптацію незрілого ТК та спричинювати виникнення захворювань [25,26].

Можливість перетравлювати їжу та засвоювати поживні речовини залежить від зрілості ТК дитини. Оскільки ферментативна та моторна функції шлунково-кишкового тракту дозрівають на пізніх стадіях внутрішньоутробного розвитку, то функціонування ТК в передчасно народжених дітей є субоптимальним [27,28]. Окрім того, незріла моторика ТК в передчасно народжених дітей може спричиняти затримку поживних речовин у його просвіті, що у свою чергу буде сприяти транслокації мікроорганізмів або їх токсичних продуктів життєдіяльності у кров'яне русло [29].

Від зрілості ТК залежить також і функціонування шлунково-кишкового бар'єру, що має вирішальне значення для підтримки місцевого гомеостазу. Передчасно народжені діти мають більш проникний кишечник в перші тижні життя [30]. Окрім ТК, на проникність кишкової стінки у недоношених немовлят

впливають і такі чинники, як інфекція, запалення, тип ЕХ та застосування антибіотиків [31].

Передчасне народження порушує природний внутрішньоутробний процес розвитку ТК загалом і місцевої імунної системи зокрема, що насамперед впливає на зрілість слизової оболонки тонкої кишки.

Для забезпечення бар'єрної функції ТК необхідним є формування та дозрівання слизової оболонки тонкої кишки, яка складається з крипт і ворсинок, вкритих суцільним моношаром епітеліальних клітин. Структурне дозрівання кишечника включає збільшення розмірів ворсинок, поглиблення крипт і накопичення кишкових стовбурових клітин в їх основі. Кишкові крипти та ворсинки формуються на 8-24 тиж вагітності, а глибина крипт і висота ворсинок збільшуються зі зростанням ТГ [32]. На розвиток крипт і ворсинок впливає комплекс факторів росту, які продукуються навколишніми мезенхімальними клітинами, а також містяться в амніотичній рідині [33–35]. Результатом цього процесу є формування унікального середовища, в якому кишкові стовбурові клітини диференціюються у зрілі епітеліальні клітини, включаючи ентероцити, клітини Панета, а також келихоподібні, ентероендокринні, пучкові та мікроскладчасті клітини. Проте, у недоношених дітей спостерігається порушення процесів розвитку кишечника з місцевим накопиченням стовбурових клітин і недостатнім утворенням похідних зрілих епітеліальних клітин.

Через зменшену кількість ентероцитів ТК недоношених немовлят є більш проникним, особливо в перші дні життя [30], оскільки ентероцити, як найпоширеніші клітини кишкового епітелію, є основним бар'єром, що регулює транспорт речовин між просвітом кишечника та кровообігом [36].

Між собою ентероцити з'єднуються за допомогою щільних контактів, які утворюються за участі спеціалізованих білків клаудинів та оклюдинів, завдяки чому підтримується цілість бар'єрної функції кишок [37]. Утворення перших щільних контактів описано у ТГ 10 тиж. Пізніше їх кількість збільшується зі зростанням терміну гестації плода [38]. Порушення щільності контактів підвищує проникність кишкового бар'єру та відповідне надходження антигенів,

бактерій та ендотоксинів із просвіту кишки у кров, що може спричинювати розвитку некротизуючого ентероколіту (НЕК) та сепсису [39]. Результати експериментальних досліджень на тваринах вказують на те, що порушення експресії генів, які кодують білкові структури щільних контактів, асоціюються з порушенням цілості кишкового епітелію та виникненням НЕК [40].

Ентероцити виділяють у просвіт кишки лужну фосфатазу, яка здатна знешкоджувати бактеріальні токсини, зокрема дефосфорилувати ліпополісахариди на поверхні грамнегативних бактерій, запобігати фіксації патогенної кишкової палички до епітелію ТК [41], і, таким чином запобігати запаленню кишки і підтримувати гомеостаз кишечника [42–44]. Проте здатність синтезувати лужну фосфатазу у передчасно народжених немовлят є нижчою порівняно з доношеними новонародженими [43]. Менша кількість лужної фосфатази у просвіті кишки призводить до виникнення дисбактеріозу та НЕК. Така ймовірність підтверджується результатами експериментальних досліджень. Так, активність цього ферменту у щурів з НЕК була нижчою, ніж у щурів з контрольної групи [45]. Ентеральне введення лужної фосфатази щурам з НЕК зменшувало ступінь ураження кишечника [45] і запалення, спричинене ліпополісахаридами бактерій [46].

Менша кількість клітин Панета у передчасно народжених немовлят безпосередньо впливає на стан природженої імунної відповіді ТК та його подальший розвиток [47], оскільки вони секретують фактори росту, зокрема епідермальний, трансформуючий β і Wnt3, які сприяють проліферації кишкових стовбурових клітин та формуванню ворсинок у тонкій кишці [48,49]. Клітини Панета також виділяють лізоцим, антимікробні пептиди (АМП) та фосфоліпазу А2 [50,51]. Ці АМП здатні знищувати патогенні мікроорганізми, запобігати транслокації бактерій через епітелій кишки та захищають кишкові стовбурові клітини від апоптозу [52]. Окрім зменшеної кількості клітин Панета, їх здатність до виділення лізоциму й АМП у передчасно народжених немовлят знижена і поступово зростає до досягнення ТГ 35-40 тиж [53]. Зменшення кількості та незрілість функції клітин Панета асоціюються з виникненням дисбіозу через

надмірний ріст кишкової палички й (або) інших грамнегативних бактерій, які містять ліпополісахариди у своїй мембрані [54], що підвищує ризик виникнення неонатального сепсису в результаті проникнення бактерій із ТК у кров'яне русло.

Результати лабораторних досліджень вказують на те, що запалення стінки ТК може призводити до подальшого руйнування клітин Панета. Це дозволяє бактеріям легше переміщатися у слизовій оболонці кишок та наближатися до поверхні епітелію, з наступним прикріпленням і проникненням в епітелій.

Келихоподібні клітини виконують бар'єрну й імунну функції. Вони виробляють слиз, секретують антимікробні протеїни і сприяють презентації антигенів імунним клітинам ТК за допомогою специфічного пасажу антигенів, асоційованого з цим типом клітин [55]. Порушення функції келихоподібних клітин призводить до зниження захисту клітин кишкового епітелію від кишкових бактерій, що, як наслідок, може підсилювати запалення [56]. З іншого боку, порушення пасажу антигенів може бути пов'язаним з виникненням неонатального сепсису, спричиненого *Escherichia coli* [57]. Пасаж антигенів за участі келихоподібних клітин є важливим для захоплення антигенів клітинами, які презентують антигени, що активує імунну відповідь. У новонароджених існує делікатний баланс між імунною сенсibiliзацією та запобіганням поширенню потенційно шкідливих бактерій.

Важливою є роль ентероендокринних клітин, які вкривають ТК від стравоходу до відхідника. У відповідь на нейрогенні сигнали та контакт з мікроорганізмами вони продукують пептидні гормони, які діють на епітелій, слизову оболонку, підслизову основу, а також на такі органи, як підшлункова залоза, печінка та мозок [58]. Ці клітини здатні розпізнавати бактеріальну інвазію за допомогою дзвоноподібних рецепторів і сигналізувати іншим клітинам про активацію імунної відповіді [59], сприяти травленню, засвоєнню поживних речовин і кишковому транзиту [60], контролювати мікробіоту кишечника, вивільняючи хемокіни та дефензини [61], запобігаючи таким чином виникненню НЕК. Проте жодне дослідження не порівнювало функціональність і величину

популяції ентероендокринних клітин у недоношених немовлят залежно від розвитку НЕК, а також у передчасно народжених і доношених дітей.

Як вже зазначалось вище, усі клітини кишкового епітелію походять від кишкових стовбурових клітин. Отже, фізіологічне функціонування кишкових стовбурових клітин є ключовим елементом дозрівання кишкового епітелію, його регенерації та запобігання захворюванням ТК, включно з НЕК. І хоча кількість цих клітин в епітелії незрілого ТК є вищою, порівняно з доношеними новонародженими, лабораторні дані вказують на те, що виникнення запальних процесів у шлунково-кишковому тракті та НЕК зокрема порушують функціонування та диференціацію і можуть навіть спричинювати апоптоз кишкових стовбурових клітин [62,63].

Таким чином, менша абсорбційна поверхня ТК, порушення моторики, підвищена кишкова проникність, незрілий кишковий епітелій, знижена здатність виробляти слиз келихоподібними клітинами, знижений синтез кишкової лужної фосфатази ентероцитами, знижена секреція лізоцимів і дефензинів клітинами Панета, роблять передчасно народжених немовлят вразливими до інфекційних захворювань та запалення, пов'язаного з НЕК. Постнатальне дозрівання кишкового епітелію, зокрема келихоподібних клітин, клітин Панета й ентероцитів, безпосередньо впливає на проникність кишки та захист від запальних й інфекційних процесів у ТК і відповідно є одним з ключових аспектів його постнатальної адаптації.

1.2 Особливості місцевого імунітету незрілого ТК у передчасно народжених немовлят

Незрілість імунних функцій у новонароджених дітей робить їх вразливими до бактеріальних, вірусних, грибкових інфекцій, які не становлять загрози для дорослих людей. Ця вразливість є ще вищою у передчасно народжених немовлят, що пов'язано з більш значущою незрілістю імунної системи, яка виявляється особливостями і природженої, і набутої імунної відповіді. Відомо, що стан

природженої імунної системи кишечника відіграє вирішальне значення для розвитку та здоров'я в пізнішому віці [64].

Внутрішньоутробний розвиток імунної системи є складним процесом, який реалізується на молекулярному, клітинному й епігенетичному рівнях у стерильному або у майже стерильному внутрішньоутробному середовищі [65,66]. Після народження відбувається стрімкий процес колонізації дитини різними мікроорганізмами. Формування та відмінності у складі мікробіоти відіграють вирішальну роль у розвитку імунітету й алергії, травленні їжі, а також, у роботі мозку й інших органів організму. Тобто, імунна система має бути належним чином налаштована на протидію потенційним інфекціям, і водночас забезпечити фізіологічну мікробну колонізацію для запобігання потенційно шкідливим запальним та автоімунним реакціям. Реакція природженого імунітету має бути не лише швидкою, щоб запобігти поширенню інфекції, але і мати широкий спектр дії, щоб забезпечити захист від численних патогенів одночасно.

Першочергово за захист новонародженого відповідає природжений імунітет. Він включає слиз на поверхні слизових оболонок, механічний бар'єр та власне імунні клітини. Слизовий шар вважається першою лінією захисту ТК від патогенних мікроорганізмів. Його основними компонентами є муцини, АМП та секреторний імуноглобулін А (sIgA) [67,68]. Слизовий шар виконує бар'єрну функцію між патогенами й епітеліальними клітинами та сприяє знищенню патогенів, тим самим запобігаючи виникненню запалення й активації неспецифічної імунної відповіді, яка реалізується за допомогою фагоцитів (нейтрофіли, моноцити), природних клітин-кілерів (НК), клітин, які презентують антигени, гуморальних медіаторів запалення, системи комплементу тощо [69,70].

Другою лінією природженого імунітету є механічний бар'єр, який складається з моношару епітеліоцитів, з'єднаних щільними зв'язками [71]. Механічний бар'єр діє як вибірково проникна структура завдяки щільним білковим зв'язкам, які механічно з'єднують сусідні клітини та закривають міжклітинний простір, що дозволяє засвоювати поживні речовини, одночасно

запобігаючи проникненню макромолекулярних антигенів та кишкових бактерій [72].

Остання, третя лінія природженого імунного захисту забезпечується дендроцитами, нейтрофілами, макрофагами, плазматичними клітинами, що продукують імуноглобулін (IgA), природні клітини-кілери, Т-кілери, звичайні Т-лімфоцити та регуляторні Т-лімфоцити. Ця частина імунної системи ТК відома як лімфоїдна тканина, асоційована з кишечником (GALT), і включає Пейєрові пляшки, ізольовані лімфоїдні фолікули та мезентеріальні лімфатичні вузли [64,73].

На кількість і функції імунних клітин впливає ступінь незрілості передчасно народжених дітей [74]. Зокрема, значно недоношені діти при народженні мають дефіцит субпопуляцій лімфоцитів (за винятком природних клітин-кілерів), а їх кількість може досягати нормального рівня приблизно через 6 міс після народження та навіть пізніше [75,76]. Менше моноцитів здатні продукувати цитокіни порівняно з доношеними дітьми [77]. Отже, кишкова імунна система недоношених і доношених дітей відрізняється при народженні, з чим може асоціюватись довгостроковий ризик імунних дисфункцій.

У природженій імунній відповіді важливу роль відіграють рецептори розпізнавання патерну, функціонування яких забезпечує один із ключових механізмів природженого імунного захисту у ТК. Зокрема, це дзвоноподібні рецептори (TLR), здатні розпізнавати молекулярну структуру мікроорганізмів, а саме молекулярні патерни, асоційовані з патогенами, й активувати важливі компоненти природженого імунного захисту.

Найбільш дослідженим є TLR-4, який є рецептором розпізнавання ліпополісахаридів – компонентів зовнішньої мембрани грамнегативних бактерій [25]. Після розпізнавання молекулярних патернів, асоційованих з патогенами, TLR запускають механізми природженого імунного захисту шляхом активації таких транскрипційних факторів, як-от ядерний фактор каппа В та регуляторний фактор інтерферону 3 [78]. Хоча TLR мають важливе значення для природженого захисту від патогенів, порушена або тривала їх активація може

призводити до виникнення імунних та запальних захворювань, зокрема НЕК.

Вищі рівні експресії імунних рецепторів у недоношених новонароджених, порівняно з доношеними, можуть призводити до підсилення запального процесу в кишковому епітелії, втрати цілості епітеліального шару та потрапляння патогенів у кровообіг, підвищуючи ймовірність виникнення сепсису [79–81]. Зокрема, надмірна активація TLR-4 призводить до стимуляції апоптозу ентероцитів, порушення процесу їх проліферації і міграції, та як наслідок, - до порушення цілості епітеліального шару кишечника [82,83]. Окрім цього, активація TLR-4 може зменшувати експресію ендотеліальної синтази оксиду азоту в кишковому ендотелії, порушуючи кровоплин у кишці та спричинюючи ішемію, що є однією з важливих патогенетичних ланок виникнення НЕК [84].

Причиною підвищеної експресії TLR-4 в передчасно народжених немовлят є їх більша кількість, а також особливості локалізації в кишкових епітеліальних клітинах. Дослідження експресії TLR4 у плода та новонароджених мишей вказують на підвищену експресію кишкових TLR-4 у внутрішньоутробний період з наступним значним її зниженням після народження до моменту досягнення терміну доношеної вагітності [85]. Цей процес є одним із ключових механізмів регуляції запальної відповіді під час бактеріальної колонізації в постнатальний період.

Результати досліджень фетальних ентероцитів свідчать, що на мембрані апікальної поверхні незрілих клітин виявляється велика кількість TLR-4 [86]. Проте, в процесі дозрівання, поверхнева експресія TLR-4 зменшується, оскільки ці рецептори інтерналізуються. Зміни експресії та локалізації TLR-4 визначають здатність ТК новонароджених адаптуватися до мікроорганізмів, які його колонізують, без ініціації або активації запальних реакцій.

Leaphart та співавт. представили дані щодо вищої частоти виникнення експериментального НЕК у мишей з високою експресією TLR-4 та нижчої захворюваності на НЕК у СЗН/HeJ мишей зі зниженою експресією TLR-4 [87]. Активація TLR-4 також призводила до більшого ушкодження кишок, стимулюючи апоптоз ентероцитів [88]. Натомість Yazji та співавт. виявили, що

активація кишкових TLR-4 погіршувала перфузію, тим самим збільшуючи ймовірність ушкодження ентероцитів внаслідок ішемії. Крім того, було показано, що активація цих рецепторів порушує відновлення кишки, гальмуючи проліферацію та міграцію ентероцитів [63].

Зразки клубової кишки людських ембріонів характеризувались підвищеною експресією TLR-4 порівняно зі зрілими ентероцитами, що свідчить про схильність недоношених немовлят до НЕК може бути пов'язана зі станом гіперреактивності TLR-4 у незрілому кишечнику [80]. Також, на користь цієї гіпотези свідчать результати аналізу тканин кишки недоношених немовлят після резекції з приводу НЕК, які продемонстрували значно вищі рівні експресії TLR-4 [85].

Генетичні дослідження виявили, що схильність до виникнення НЕК у передчасно народжених немовлят також асоціюється з наявністю генетичних мутацій у сигнальному шляху активації TLR [89–91].

Як зазначалось вище, щоби створити відносно стерильне та захищене середовище у криптах кишки, у відповідь на мікробні або холінергічні подразники епітеліальні клітини кишечника секретують β -дефензини, а клітини Панета виділяють лізоцим, фосфоліпазу A2, антимікробні пептиди, дефензини (α і β) і кателіцидини [92–95]. Однак, кількість клітин Панета у передчасно народжених немовлят є меншою, а їх здатність продукувати АМП обмежена [47].

Зріла імунна система здатна відрізнити мікроорганізми-коменсали від патогенів завдяки вибірковій експресії імунних рецепторів. Наприклад, у доношених дітей кишкові епітеліальні клітини переважно не містять TLR на апікальній поверхні, де вони контактують із бактеріями-коменсалами [79]. Патогенні мікроби, які проникають через шар епітеліальних клітин, розпізнаються ендосомальними TLR, цитозольними рецепторами природженого імунного розпізнавання, а також TLR, розташованими на базолатеральній поверхні епітеліальних клітин, з наступною ініціацією запальної відповіді. Бактерії-коменсали здатні пригнічувати передачу сигналів і продукцію медіаторів запалення або індукувати синтез протизапальних цитокінів, тим самим активно пригнічуючи запальні реакції в кишечнику. Однак, недостатньо розвинений

кишковий епітелій у передчасно народжених дітей є більш проникним і легше колонізується патогенними бактеріями внаслідок зниженої моторики ТК та незрілої функції місцевої імунної та нервової систем [96]. Це створює передумови для «деструктивного» дисбіозу, хронічного запалення і транслокації бактерій через відносно проникний кишковий бар'єр, що призводить до потенційно летальних захворювань, зокрема НЕК і сепсису. Крім того, незрілий кишковий епітелій містить на своїй поверхні велику кількість TLR4, що спричинює надмірну реакцію імунної системи дитини на кишкові бактерії і призводить до надмірного запалення [97]. Підвищена експресія TLR-4 у незрілому кишечнику пояснюється неімунною роллю у регуляції розвитку кишечника завдяки його активації шляхів Notch і Wnt [98,99]. Таким чином, у відносно стерильному середовищі ТК плода TLR-4 регулюють його розвиток, тоді як у передчасно народженої дитини нефізіологічна колонізація кишечника мікроорганізмами на тлі підвищеної експресії TLR-4 спричинює надмірну запальну реакцію [100]. Наслідком цього є порушення бар'єрних функцій слизової оболонки ТК, створення передумов для транслокації бактерій у кров'яне русло і відповідно виникнення сепсису та НЕК [9]. Узагальнені дані щодо особливостей місцевого імунітету ТК у передчасно народжених дітей представлені на рисунку 1.1.

1.3 Бактеріальна колонізація кишечника в передчасно народжених немовлят

Фізіологічна мікробна колонізація ТК немовлят після народження має вирішальне значення для постнатальної адаптації та подальшого розвитку травної системи людини. Кишкова мікробіота відіграє важливу роль у набутті постнатальної толерантності до ендотоксинів, регулює дозрівання регуляторних Т-клітин (CD4+, Foxp3+), природних клітин-кілерів та гамма-дельта Т-клітин (агранулярні лейкоцити), що виконують функцію захисту слизових оболонок [101]. Виникнення дисбіозу у цей критичний період пов'язано з розвитком запальних, метаболічних, неврологічних, серцево-судинних та шлунково-

кишкових захворювань [102]. Однак, передчасно народжені немовлята мають значно вищий ризик порушення процесу формування мікробіоти порівняно з доношеними немовлятами.

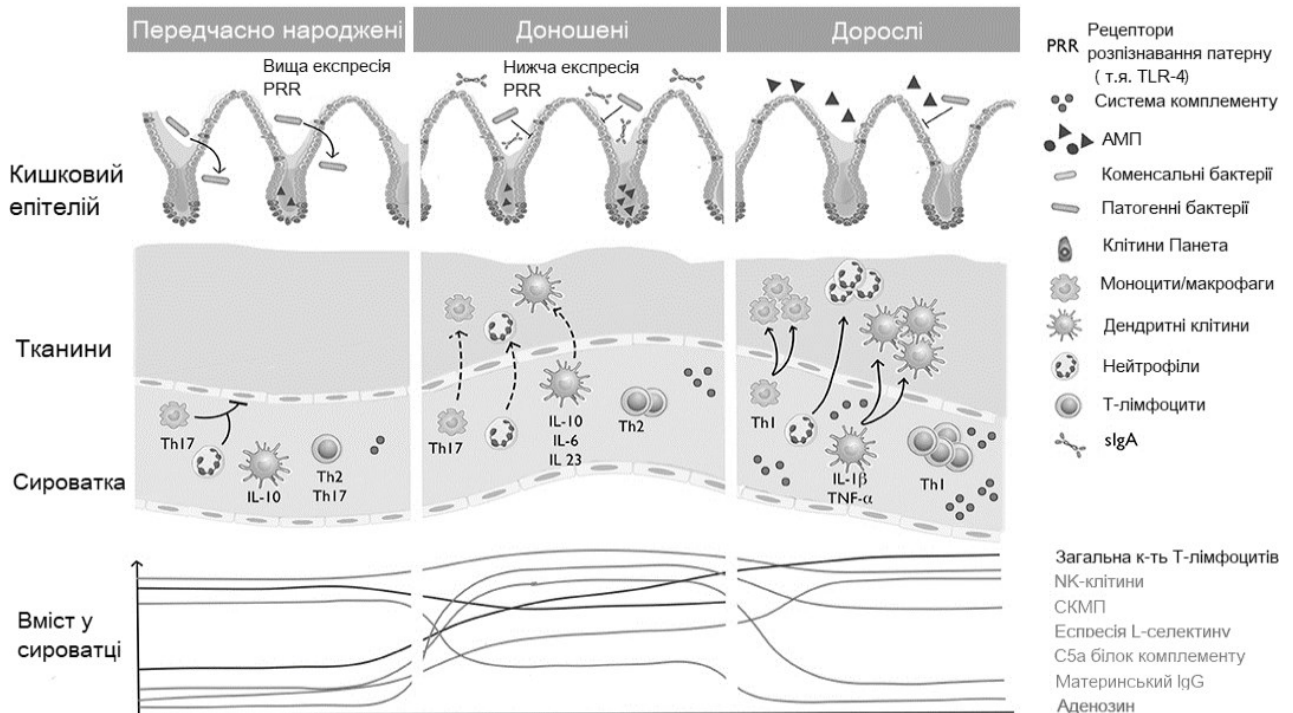


Рисунок 1.1 – Схематичне зображення імунологічних особливостей ТК у недоношених немовлят порівняно з доношеними та дорослими [103]

Передчасно народжені діти стикаються з декількома унікальними умовами навколишнього середовища, які впливають на розвиток їх кишкової мікробіоти. Насамперед, до моменту народження приблизно 25–30 % недоношених немовлят зазнають впливу мікроорганізмів внаслідок передчасного розриву оболонок плода й інтраамніальної інфекції [104]. Також, передчасно народжені діти частіше народжуються шляхом кесаревого розтину, що обумовлює подальшу колонізацію мікроорганізмами, які знаходяться на поверхні шкіри, порівняно з доношеними немовлятами, які народжуються природним шляхом і колонізуються вагінальними та ректальними бактеріями матері [105]. Після передчасного народження немовлята відокремлюються від матері, отримують початкову медичну допомогу та чимало з них потребують наступної

госпіталізації у ВІТН, що негативно впливає на формування кишкової мікробіоти. Особливості ЕХ, зокрема його відтермінування, початок з МЕХ з наступним поступовим збільшенням об'єму, а також застосування сумішей, донорського ГМ або змішаної дієти, додатково впливають на формування мікробіоти [106].

1.3.1 Пренатальні чинники. Декілька досліджень вказують, що дієта матері під час вагітності може впливати на вміст бактерій у меконії [107,108]. Виникнення амніотичної інфекції або хоріоамніоніту асоціювалось зі збільшенням відносної кількості представників родини *Mycoplasmataceae* і бактерій типу *Bacteroidetes* у випорожненнях немовлят [109].

Призначення матері антибіотиків під час пологів також істотно впливає на формування мікробіоти немовлят. Nogacka та співавт. продемонстрували зростання відносної кількості бактерій з родів *Proteobacteria* та *Firmicutes*, зниження частки представників *Acinetobacter* та *Bacteroides*, а також частіше виявлення бактеріальних генів, які кодують резистентність до β -лактамаз, у випорожненнях немовлят, матері яких отримували антибіотики під час пологів [110]. Результати іншого дослідження вказують на зменшення кількості бактерій *Bifidobacteria spp.* на 7 день життя, однак відсутність такого впливу антибіотиків на лактобактерії [111]. Окрім того, вплив антибіотиків під час пологів може мати селективний характер. Зокрема, встановлено, що призначення пеніциліну пригнічує ріст бактероїдів, а цефалоспорини сповільнюють збільшення кількості біфідобактерій [112].

Підсумовуючи, можна сказати, що дієта матері, амніальні інфекції та використання антибіотиків можуть суттєво впливати на формування мікробіоти ТК дитини.

1.3.2 Постнатальні чинники. У немовлят, народжених шляхом кесарського розтину, в перші тижні життя виявляють меншу різноманітність кишкової мікробіоти, знижену колонізацію біфідобактеріями, бактероїдами і лактобактеріями і більше бактерій, характерних для мікробіоти поверхні шкіри, таких як стрептококи та стафілококи [105,113]. Відмінності у складі мікробіоти,

пов'язані з типом пологів, стають менш виразними зі зменшенням терміну гестації дитини, ймовірно, через те, що інші чинники, як-от ЕХ, мають вагоміший вплив на формування мікробіоти ТК [114].

Іншим істотним чинником впливу на формування кишкової мікробіоти є раннє застосування антибіотиків [115,116]. Fouhy та співавт. продемонстрували, що призначення ампіциліну та гентаміцину в перші 48 год життя асоціювалось зі збільшенням кількості протеобактерій і зменшенням кількості актино-, біфідо-і лактобактерій [117]. Відповідно до даних Gibson та співавт. використання антибіотиків широкого спектра дії, зокрема меропенему, цефалоспоринів і тикарцилін-клавуланату, зменшувало загальне різноманіття мікроорганізмів [118]. Вони також виявили появу генів, стійких до антибіотиків, які були специфічними для певних антибіотиків і видів мікроорганізмів. Zwittink та ін. відзначили, що коротко- або довгострокове лікування амоксициліном і цефтазидимом було пов'язаним зі значно більшою кількістю ентерококів протягом перших двох тижнів життя за рахунок зменшення кількості біфідобактерій і стрептококів [119].

Іншим значущим чинником впливу на формування кишкової мікробіоти у передчасно народжених дітей є ЕХ. Передчасно народжені немовлята, яких годували сумішшю, демонстрували менш різноманітну мікробіоту ТК з меншою кількістю клостридій та біфідобактерій порівняно з недоношеними дітьми, яких годували материнським ГМ [120].

Отже, основними постнатальними чинниками, які впливають на формування кишкової мікробіоти, є тип пологів, використання антибіотиків та особливості ЕХ передчасно народжених немовлят.

Ці чинники у поєднанні з особливостями незрілого ТК та місцевої імунної відповіді, описаними вище, суттєво впливають на постнатальну адаптацію ТК у передчасно народжених немовлят.

Після народження шлунково-кишковий тракт зазнає послідовних хвиль мікробного впливу та колонізації [121–123]. Рання кишкова мікробіота еволюціонує від відносно незначного різноманіття до поступового дозрівання до

дорослої кишкової мікробіоти людини, яка має довготривалий вплив на формування складу та функції мікробіоти протягом усього життя.

Тобто мікробіота кишечника у дитини раннього віку є динамічною, а на її остаточне формування впливають декілька чинників, як-от тип пологів, ентеральне харчування та гестаційний вік [123–125]. Водночас, особливості впливу кожного із зазначених чинників залишаються недостатньо вивченими.

Загалом, більшість недоношених немовлят з перших днів життя переважно колонізовані бактеріями, які найчастіше виявляють на поверхні шкіри людини, та лікарняними мікроорганізмами. Це відрізняє їх від здорових доношених немовлят, які колонізуються бактеріями від матері [126].

Якщо мікробіота доношених немовлят характеризується великою кількістю корисних мікроорганізмів, зокрема представниками родів *Bifidobacteria* та *Bacteroides*, і меншою кількістю факультативних бактерій, кишкова мікробіота недоношених немовлят, навпаки, характеризується стійкою присутністю представників роду *Proteobacteria*, таких як *Klebsiella* та *Escherichia*, а також відстроченою появою корисних бактерій [125].

Протягом першого тижня життя у складі кишкової мікробіоти передчасно народжених дітей домінують стафілококи, кишкові бактерії та ентерококи, тоді як кількість представників родів *Bacteroides*, *Bifidobacterium* і *Lactobacillus* є різко зниженою [127].

Стосовно наступного розвитку мікробіоти у передчасно народжених немовлят існують суперечливі дані. Зокрема, у дослідженні Drell та співавт., протягом перших 2 міс життя у складі кишкової мікробіоти не було виявлено жодних корисних бактерій, проте встановлено збільшення кількості таких бактерій, як-от *Klebsiella*, *Veillonella*, *Enterococcus*, *Escherichia* та *Shigella* [127]. Однак, в іншому дослідженні у недоношених немовлят було виявлено біфідобактерії та бактероїди з поступовим зростанням їх кількості від першого до шостого місяця життя [122]. За підсумками регулярного дослідження мікробіоти у випорожненнях недоношених немовлят через різні проміжки часу під час госпіталізації до постнатального віку 2 міс було виявлено, що

формування кишкової мікробіоти перебігало у 4 фази, в яких послідовно переважали представники стафілококів, ентерококів, кишкових бактерій, і тільки після цього – біфідобактерій [14].

1.4 Потенційні методи профілактики захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК в передчасно народжених дітей

ГМ вважається оптимальним продуктом ЕХ і доношених, і передчасно народжених немовлят. Окрім еволюційно оптимізованого складу макро- та мікронутрієнтів, ГМ містить широкий спектр імунологічно-активних компонентів, які взаємодіють з незрілою імунною системою передчасно народжених дітей (таблиця 1.1).

Таблиця 1.1 – Захисні імунологічні фактори ГМ, які можуть компенсувати незрілість природженого імунітету передчасно народжених немовлят [128]

Характеристика природженого імунітету передчасно народжених немовлят	Захисні імунологічні чинники, які містяться у грудному молоці
Недостатність материнських антитіл, які передаються через плаценту	Імуноглобуліни: секреторний IgA, IgM, IgG
Неадекватна позаклітинна відповідь на інфекційні чинники	Цитокіни: IL-6, IL-8, TNF- α , TGF- β 1 та TGF- β 2
Підвищена чутливість рецепторів розпізнавання та недостатня щільність міжклітинних контактів, що впливає на адекватність запальної відповіді	Фактори росту: EGF, TGF- α і TGF- β .
Змінений процес колонізації ТК	Мікробіологічні чинники: ЛФ, лізоцим, олігосахариди, пробіотичні бактерії

У випадках відсутності молока матері або недостатньої його кількості, альтернативами для годування передчасно народжених немовлят стають донорське молоко або молочні суміші. У численних країнах стандартною практикою вигодовування недоношених новонароджених у випадках, коли немає можливості годування молоком матері, є використання донорського ГМ [129]. Однак, створення і забезпечення роботи банків ГМ є дорогавартісним. Для профілактики передачі потенційних збудників інфекцій, ГМ пастеризують за методом Холдера, підігрівуючи його до температури 62,5 °С упродовж 30 хв з наступним швидким охолодженням [130]. Цей процес повністю або частково інактивує біологічно активні компоненти грудного молока, зокрема, імунні клітини, переважно Т-лімфоцити, які в активованому стані здатні проникати через оболонку ТК та сприяти дозріванню власних Т-лімфоцитів дитини [131].

Термічна обробка також інактивує В-лімфоцити, макрофаги та нейтрофіли, під її впливом знижується концентрація й активність імуноглобулінів, концентрація та функції ЛФ і лізоциму, а також утрачають свої властивості переважна кількість цитокінів та чинників росту [132–134].

Однак певні імунологічні компоненти є стійкими або частково стійкими до процесу пастеризації, залишаючись у пастеризованому молоці у незмінній або дещо зниженій концентрації. Це зокрема стосується окремих цитокінів (IL-8) [135], олігосахаридів [136], гангліозидів, ліпідів та жирних кислот [137], а також частини чинників росту (епідермальний чинник росту, HB-EGF, трансформуючі фактори росту b1, b2, α тощо [134]. Завдяки утворенню бактерицидних пептидів у процесі перетравлювання зберігаються певні імунологічні властивості ЛФ [138], а також дія окремих бактерицидних ензимів у поєднанні з лізоцимом [139].

Кокрейнівський систематичний огляд 2019 р., який включив 12 рандомізованих досліджень і 1879 пацієнтів, засвідчив, що порівняно з вигодовуванням донорським молоком застосування спеціальних сумішей для недоношених немовлят було пов'язано з кращими показниками динаміки маси і довжини тіла та обводу голови. Проте, вигодовування сумішами асоціювалось з

майже удвічі вищим ризиком НЕК порівняно з вигодовуванням грудним молоком [140].

Враховуючи значну втрату імунологічних властивостей під час пастеризації, здатність донорського молока реально зменшити частоту виникнення пізнього неонатального сепсису залишається невизначеною. Miller та співавт. у своєму аналізі вказують на наявність доказів низької або дуже низької якості щодо потенційного зменшення частоти пізнього неонатального сепсису під час годування донорським молоком порівняно із сумішами [141], тоді як Vázquez et al. вказують на відсутність впливу застосування донорського молока на частоту пізнього неонатального сепсису [142].

Загалом на сьогодні захисний ефект вигодування передчасно народжених немовлят донорським молоком доведено лише щодо НЕК. Інші захисні ефекти стосовно сепсису та загальної смертності продемонстровані лише для нативного ГМ.

1.4.1 Молозиво. Молозиво, яке продукується в перші дні після народження дитини, містить велику кількість антимікробних речовин, зокрема інтерферон А, цитокіни, лактоферин та лізоцим [143], концентрація яких є ще вищою у молозиві матерів, які народили передчасно [144]. Однак, у таких матерів зазвичай можна отримати дуже малу кількість молозива, яка є недостатньою для введення через носошлунковий зонд. Тому альтернативним варіантом може бути орофарингеальне введення невеликої кількості молозива (до 0,5 мл) у ротову порожнину шприцом. Взаємодія молозива зі слизовою оболонкою ротової порожнини може стимулювати орофарингеальну лімфоїдну тканину та підвищувати абсорбційні властивості місцевих захисних чинників, а також може знижувати адгезію мікроорганізмів до слизової оболонки [145]. Проте результати невеликих досліджень, підсумовані у Кокрейнівському огляді 2018 р., не доводять зниження частоти НЕК, ПНС та загальної смертності у немовлят, які отримували молозиво орофарингеальним методом. Водночас, відмічалось скоріше досягнення повного об'єму ЕХ у дітей, які отримували молозиво, порівняно з контролем [146]. Також, введення молозива шприцом у рот

асоціювалось зі зниженням рівнів прозапальних цитокінів, зокрема ІЛ-6, ІЛ-8, TNF- α та INF- γ , у сироватці крові передчасно народжених немовлят [147], що в подальшому могло впливати на виникнення інших патологічних станів. Хоча для остаточного вивчення ефекту застосування молозива у передчасно народжених немовлят потрібна більша кількість досліджень відповідної потужності й якості, раннє введення молозива орофарингеальним методом є рекомендованою клінічною практикою в багатьох країнах світу.

1.4.2 Імуноглобуліни. Пасивний імунний захист дитини після народження значною мірою забезпечують IgG-антитіла, отримані трансплацентарно від матері, і sIgA ГМ. Відомо, що імуноглобуліни передаються від матері дитині, починаючи із другого триместру вагітності. Однак, оскільки найбільша кількість імуноглобулінів передається в останні кілька тижнів вагітності, у недоношених дітей рівень імуноглобулінів значно нижчий, ніж у доношених, що робить їх більш вразливими до інвазійної інфекції. Незважаючи на теоретичну ймовірність того, що ентеральне або парентеральне введення імуноглобулінів може підсилити кишковий або системний гуморальний імунітет у недоношених немовлят, а також зменшити ризик інфікування та розвитку НЕК, проведені рандомізовані контрольовані дослідження не виявили доказів їх захисної дії щодо НЕК та сепсису [148,149].

1.4.3 Лактоферин. ЛФ – глікопротеїн з родини трансферинів, є одним з компонентів природженого імунітету та потужним імуномодулятором. У найбільшій концентрації міститься в молозиві та ГМ. Завдяки широкому спектру бактерицидних, протигрибкових і противірусних властивостей, а також його здатності модулювати процес дозрівання та проліферації кишкового епітелію [16], ЛФ цікавить дослідників в контексті потенційних лікування та профілактики НЕК і сепсису у передчасно народжених немовлят.

Згідно з даними Кокрейнівського огляду 2017 р., який підсумував результати 6 рандомізованих досліджень із залученням понад 1000 передчасно народжених немовлят, ентеральне застосування ЛФ знижувало частоту ПНС та НЕК II-III стадії, але не зменшувало загальну смертність [150].

Британське дослідження ELFIN, яке залучило 2203 передчасно народжених дітей з дуже малою масою тіла, не виявило значущої відмінності за частотою виникнення ПНС залежно від призначення ЛФ [151].

У австралійському дослідженні LIFT за участі 1542 передчасно народжених немовлят з дуже малою масою тіла при народженні, не було виявлено достовірних відмінностей за частотою виникнення НЕК II-III стадії, ПНС, а також за загальною смертністю та захворюваністю [152]. Водночас, австралійськими дослідниками було проведено мета-аналіз досліджень 2009-2020 років, в яких вивчався вплив ентерального застосування ЛФ на частоту НЕК, сепсису, а також загальну смертність передчасно народжених немовлят з дуже малою масою тіла при народженні, результати якого вказують на зниження частоти ПНС у немовлят, які отримували лактоферин [152]. В обидвох дослідженнях використовували коров'ячий ЛФ.

Кокрейнівський огляд 2020 р., який включив 12 рандомізованих клінічних досліджень із загальною кількістю пацієнтів 5425, засвідчив наявність доказів низької якості щодо зниження частоти ПНС в передчасно народжених немовлят завдяки ентеральному призначенню ЛФ. Водночас, це втручання не впливало на частоту НЕК, загальну смертність та віддалені неврологічні наслідки у віці 24 міс та пізніше [17]. Також, існує припущення, що ефект додаткового призначення ЛФ може бути різним залежно від того, чим годують дитину – ГМ або сумішшю [153].

1.4.4 Пробіотики. Враховуючи, що одну з ключових ролей в патогенезі НЕК та сепсису відіграє стан мікробіоти ТК передчасно народжених немовлят, пробіотики завжди розглядались як потенційний засіб профілактики цих захворювань. За останні два десятиліття численні дослідження вивчали вплив окремих пробіотичних штамів та їх комбінацій на захворюваність і смертність передчасно народжених немовлят, результати яких були підсумовані в кількох мета-аналізах. Відповідно до висновків цих документів на сьогодні існують докази низької якості щодо впливу пробіотиків на зниження частоти НЕК, інфекційних ускладнень та загальної смертності [154].

Тривають дискусії щодо потреби рутинного застосування пробіотиків у певних групах новонароджених високого ризику, оскільки оптимальні штами, тривалість та дози залишаються невизначеними. Не знято з порядку денного питання безпеки застосування пробіотичних препаратів, оскільки були описані випадки бактеріємії, спричинених пробіотичними штамми [155]. Також можливим є поширення антибіотикорезистентності через передавання відповідних генів комерційно доступними пробіотичними штамми [156].

Кокрейнівський огляд 2020 р., який включив результати 56 досліджень за участі 10812 пацієнтів, засвідчив наявність доказів максимум помірної якості щодо впливу пробіотиків на зменшення частоти НЕК й асоційованих захворюваності та смертності передчасно народжених немовлят. Водночас, експерти вважають, що потрібно більше якісних досліджень із залученням дітей з дуже й екстремально малою масою при народженні [157].

У 2020 р. Європейським товариством дитячих гастроентерологів, гепатологів та нутриціологів (ESPGHAN) був опублікований документ з офіційними рекомендаціями щодо застосування пробіотиків у передчасно народжених немовлят [19], де висвітлені питання вибору пробіотичних штамів, їх дозування та безпеки на підставі наявних наукових даних. Зокрема, для зменшення частоти НЕК рекомендується використання *L. rhamnosus GG ATCC 53103* у кількості 1×10^9 - 6×10^9 КУО або поєднання *B. infantis Bb-02*, *B. lactis Bb-12* і *Str. thermophilus TH-M* у дозуванні $3-3,5 \times 10^8$ КУО (кожного штаму). Водночас, відсутні переконливі дані щодо впливу цих штамів на загальну смертність та частоту виникнення пізнього сепсису.

1.4.5 Пребіотики. Відповідно до зростання інтересу до мікробіоти ТК у передчасно народжених дітей, зростає увага і до пребіотиків. Застосування пребіотиків для сприяння формуванню здорової мікробіоти ТК потенційно може бути безпечнішою альтернативою застосуванню пробіотиків. Одними з найбільш уживаних пребіотиків є галакто- та фруктоолігосахариди, застосування яких асоціювалось з підвищенням кількості біфідобактерій у випорожненнях передчасно народжених немовлят [158]. Окрім цього, певні дослідження

вказують на імуномодулюючі властивості екзогенних олігосахаридів, а саме на їхню здатність блокувати адгезію ентеропатогенних мікроорганізмів [158], впливати на експресію генів протизапальних цитокінів [159] та підтримувати цілість бар'єру слизової оболонки кишки [160].

У 2018 р. Cheng Chi та співавт. опублікували мета-аналіз, який включив 18 досліджень із залученням 1322 передчасно народжених дітей [161], результати якого свідчать, що застосування пребіотиків, а саме олігосахаридів молока тваринного походження, фруктану, інуліну або олігофруктози, знижує частоту виникнення сепсису та загальної смертності, проте не впливає на частоту виникнення НЕК. Кращі результати отримали у дослідженнях, в яких пребіотики додавали до ГМ або суміші, порівняно з роботами, в яких пребіотики додавали до дистильованої води. Аналіз у підгрупах виявив, що у новонароджених з ТГ < 28 тиж застосування пребіотиків може бути менш ефективним. Автори пов'язують це зі значною незрілістю слизової оболонки ТК, імунної відповіді та складу мікробіоти у таких немовлят [162]. Однак, подібно до ситуації з пробіотиками, невизначеними залишаються вибір оптимального пребіотика або їх комбінацій, дозування, вік призначення і тривалість лікування.

1.4.6 Олігосахариди ГМ. Протягом останніх двох десятиліть активно вивчаються олігосахариди грудного молока (ОСГМ) як потенційні компоненти захисту від НЕК. Вони є третім за величиною компонентом ГМ, але відсутні в молочних сумішах, що стало підставою для гіпотези потенційного захисного ефекту ОСГМ щодо НЕК. Перше підтвердження даній гіпотезі було отримано в експериментальних тваринних моделях, в яких використання суміші, збагаченої ОСГМ, асоціювалось із кращим загальним виживанням та меншою частотою тяжкого НЕК [163]. В подальшому було встановлено, що з поміж 150 різних ОСГМ найефективнішою у профілактиці НЕК є дисіаліллакто-N-тетраоза (DSLNT) [164]. Незважаючи на важливість отриманих лабораторних даних, виконання рандомізованих клінічних досліджень ефективності ОСГМ є проблематичним з етичних причин (потреба годувати ГМ). Водночас, у двох спостережних дослідженнях показано, що низька концентрація DLSNT у ГМ

матері достовірно асоціювалась з підвищенням ризику виникнення НЕК [164,165]. Таке поєднання лабораторних і клінічних даних є поштовхом для подальшого вивчення ефективності DSLNT й інших ОСГМ як потенційного засобу профілактики НЕК. Також, на думку авторів одного з досліджень, визначення концентрації DSLNT у ГМ матерів передчасно народжених немовлят може бути одним з маркерів ризику виникнення НЕК [164].

1.4.7 Раннє ЕХ. Історично підхід до ЕХ передчасно народжених немовлят тривалий час був консервативним, передбачаючи пізніший його початок та повільне збільшення об'єму. Проте, тривале парентеральне харчування підвищувало ризик виникнення інфекційних та інших ускладнень.

Оскільки годування ГМ стимулює секрецію гормонів і моторику шлунково-кишкового тракту, пізній початок ЕХ сповільнював постнатальну адаптацію ТК передчасно народженої дитини [166]. Результати нещодавніх масштабних клінічних досліджень засвідчили безпеку і переваги раннього початку ЕХ та вищих темпів збільшення його об'єму. Збільшення добового об'єму ЕХ із кроком 30 мл/кг/добу не асоціювалось зі збільшенням частоти НЕК та загальної смертності, але достовірно зменшувало тривалість застосування парентерального харчування, тим самим зменшуючи ризик виникнення ускладнень [167].

Отже, передчасно народженим дітям притаманна структурно-функціональна незрілість ТК, яка істотно впливає на його постнатальну адаптацію, підвищуючи ризик виникнення насамперед інфекційно-запальних захворювань. На сьогодні детально вивчено анатомічні особливості та функціональний стан незрілого ТК, встановлено відмінності у формуванні мікробіоти незрілого кишечника від аналогічних процесів у здорових новонароджених та чинники, які на це впливають.

Доведено, що найкращим засобом харчування передчасно народжених дітей як чинником, який позитивно впливає на стан незрілого ТК та імунної системи, є ГМ та молозиво матері. Проте, передчасні пологи впливають на лактацію у матері, а тяжкий стан дитини не дозволяє призначати повноцінне ЕХ. Саме тому

є актуальним виробництво і застосування біологічно активних компонентів ГМ, які можуть бути клінічно ефективними у профілактиці НЕК та сепсису в передчасно народжених немовлят. Незважаючи на потенційні корисні ефекти ЛФ, насамперед його ефективність у профілактиці інфекційних захворювань, користь його застосування у передчасно народжених немовлят надалі залишається суперечливою. Тривають дослідження з вивчення клінічної ефективності синтезованих олігосахаридів ГМ.

Отже, актуальним з наукової і практичної точок зору залишається вивчення порушень постнатальної адаптації незрілого ТК у передчасно народжених дітей та клінічних можливостей їх корекції.

Дані, представлені у розділі 1, наведено у публікації [168]:

1) Добрянський Д.О, Добрик Д.С. (2021). Можливості та перспективи імунного харчування передчасно народжених немовлят. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина, 11(1(39)), 39–47. <https://doi.org/10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.6> (Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, написанні статті, формулюванні висновків, підготував матеріал до друку).

РОЗДІЛ 2

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

2.1 Загальна організація і дизайн дослідження

Дисертаційна робота виконувалась на базі відділень інтенсивної терапії недоношених новонароджених дітей з виїзною неонатальною транспортною бригадою і патології недоношених новонароджених дітей КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» із залученням 164 передчасно народжених немовлят масою тіла ≤ 1500 г і терміном гестації ≤ 32 тиж. Усі немовлята, залучені у дослідження, перебували під нашим спостереженням до досягнення ПМВ 36 тиж, смерті або виписки додому.

Для досягнення мети і виконання дослідницьких завдань робота виконувалась на 3 етапах й у 4 напрямках, а також включала ретроспективний аналіз даних усіх залучених пацієнтів.

Перший напрямок першого етапу дослідження передбачав вивчення клінічної ефективності застосування коров'ячого ЛФ з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого травного каналу у передчасно народжених немовлят, та іншої важкої неонатальної захворюваності. Другий напрямок першого етапу дослідження передбачав вивчення прогностичної значущості ФК як раннього лабораторного маркера виникнення неонатального сепсису та НЕК II+ стадії, а також вплив ентерального застосування ЛФ на рівні ФК у ПМВ 36 тиж.

Завдання цього етапу роботи виконувались у відкритому проспективному дослідженні. У це дослідження були залучені 164 передчасно народжені дитини, які народились в акушерських стаціонарах міста Львова й області, були переведені і лікувались у відділеннях інтенсивної терапії новонароджених та патології новонароджених КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» в період від червня 2019 р. до лютого 2020 р.

Критеріями включення у дослідження були: маса тіла при народженні ≤ 1500 г, термін гестації ≤ 32 тиж, вік на момент госпіталізації у відділення ≤ 72 год. Додатковим критерієм включення було призначення і толерування МЕХ. Наявність значних природжених вад розвитку, потреба повного парентерального харчування, наявність ускладнень і станів на момент залучення у дослідження, які істотно зменшують шанси виживання (наприклад, ВШК 3-4 ступеня), а також відсутність інформованої згоди батьків, були критеріями виключення пацієнта з дослідження.

За умови відповідності критеріям включення й отримання письмової інформованої згоди батьків дитину включали відповідно до плану рандомізації у групу ЛФ або у групу порівняння 1. Рандомізацію здійснювали за допомогою генерованого комп'ютером ряду випадкових чисел.

Двадцять дев'ять немовлят після включення у дослідження отримували ЛФ. Препарат призначали в перші 72 год життя одразу після залучення у дослідження у дозі 100 мг 1 раз на добу ентерально (із ГМ або сумішшю) до моменту досягнення ПМВ 36 тиж або виписки зі стаціонару (щонайменше протягом 4 тиж). Використовували суспензію коров'ячого ЛФ «Лактоферил» виробництва ТзОВ «ЕкоКіде» (Польща), 1 крапля якої містила 10 мг ЛФ. Дві дитини із групи ЛФ померли протягом перших 7 днів життя та були виключені з остаточного аналізу. В остаточному аналізі результатів у групі ЛФ використані дані 27 дітей (рисунок 2.1).

Тридцять п'ять немовлят були включені у групу порівняння 1 та перебували на стандартному лікуванні. Серед них 2 дітей померли протягом першого тижня життя та були виключені з остаточного аналізу (рисунок 2.1). Процес залучення пацієнтів у рандомізовану фазу дослідження був завершений передчасно у зв'язку з пандемією SARS-CoV-2 та спричиненим нею дефіцитом сировини для виготовлення препарату ЛФ, який став недоступним. У зв'язку з цим, щоби забезпечити більшу потужність дослідження, було вирішено додатково залучити у групу порівняння 1 шістдесят дві дитини, які відповідали критеріям включення, брали участь у другому етапі дослідження та протягом лікування не отримували

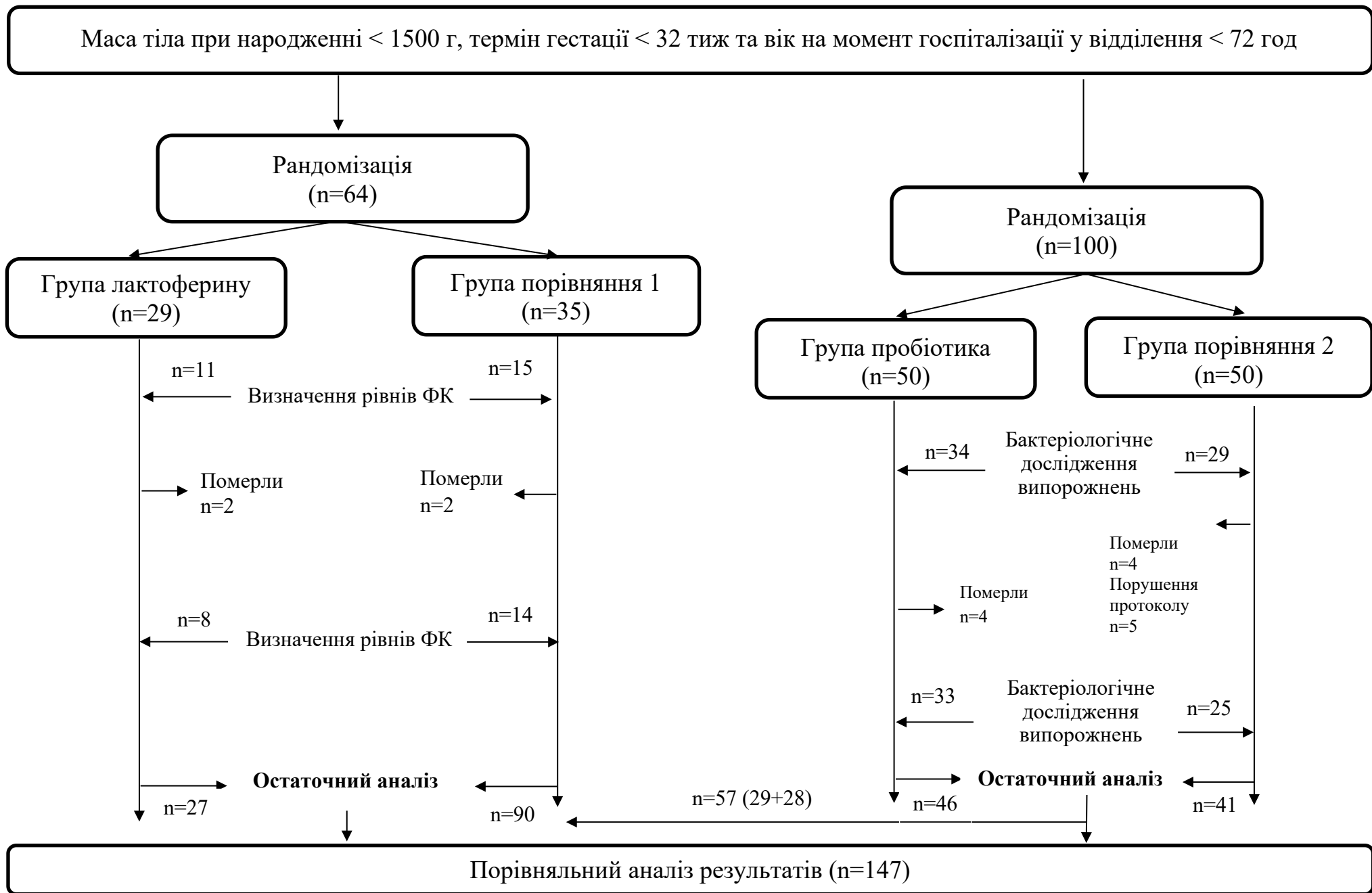


Рисунок 2.1 – Організація проспективного дослідження

ЛФ. Загалом у групі порівняння 1 в остаточному аналізі були використані дані 90 дітей.

Ефективність ентерального застосування ЛФ оцінювали до моменту виписки зі стаціонару або смерті. Основним критерієм ефективності ентерального застосування ЛФ у недоношених немовлят була частота виникнення ПНС, яку порівнювали у двох групах. Вторинними критеріями ефективності були порівняльні частота НЕК II+ стадії, РН, тяжкого ураження мозку за даними нейросонографії (ПВЛ або тяжкі ВШК 3-4 ступеня), частота та тяжкість БЛД у ПМВ 36 тиж, загальна смертність, а також вік на момент досягнення повного об'єму ЕХ (160 мл/кг/добу), тривалість застосування антибактеріальної терапії, тривалість перебування у ВІТН і загальна тривалість госпіталізації.

Відповідно до завдань дослідження для оцінки прогностичної значущості ФК як раннього лабораторного маркера виникнення РНС, ПНС та НЕК II+ стадії та впливу ентерального застосування ЛФ на рівні ФК у ПМВ 36 тиж у 26 дітей, залучених в проспективне дослідження (11 дітей із групи ЛФ та 15 дітей із групи порівняння 1), порівнювали концентрації ФК у випорожненнях на першому тижні життя. Повторно, у ПМВ 36 тиж, ФК визначали у 22 немовлят (у 8 дітей у групі ЛФ та у 14 дітей у групі порівняння 1).

Перший напрямок другого етапу дослідження передбачав вивчення клінічної ефективності застосування пробіотичного штаму *L. reuteri DSM 17938* з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК у передчасно народжених немовлят. Завданнями другого напрямку другого етапу дослідження були 1) вивчення впливу застосування пробіотика *L. reuteri DSM 17938* на формування кишкової мікробіоти, а саме на частоту виявлення біфідо- та лактобактерій у випорожненнях у ПМВ 36 тиж, а також на частоту виявлення та загальну кількість грамнегативних та грампозитивних бактерій; 2) вивчення зв'язку між складом кишкової мікробіоти та виникненням захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК, зокрема ПНС та НЕК II+ стадії.

Завдання цього етапу роботи виконувались у відкритому рандомізованому дослідженні. У нього були залучені 100 передчасно народжених дітей, які народились в акушерських стаціонарах міста Львова й області, були переведені і лікувались у відділеннях інтенсивної терапії новонароджених та патології новонароджених КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» в період від лютого 2020 р. до жовтня 2021 р. (рисунок 2.1).

Застосовували ті самі критерії включення та виключення пацієнтів, що і на першому етапі роботи. За умови відповідності критеріям включення та отримання письмової інформованої згоди батьків, дитину рандомізовано включали у групу пробіотика або у групу порівняння 2. Процес рандомізації відбувався за допомогою генерованого комп'ютером ряду випадкових чисел.

П'ятдесят немовлят після включення у дослідження отримували пробіотик *L. reuteri* DSM 17938 (n=50). Пробіотик призначали з першого тижня життя з моменту сталого толерування МЕХ у дозі 10^8 КУО (5 крапель) 1 раз на добу ентерально (із ГМ або сумішшю) до моменту виписки зі стаціонару. Використовували пробіотик у формі крапель, який містив життєздатні бактерії *L. reuteri* в кількості щонайменше 10^8 КУО в 5 краплях «БіоГая ПроТектіс» (БіоГая Продакшн АБ, Швеція, Вінделваген 3, SE-241 38 Еслев). Чотири дитини у групі пробіотика померли протягом перших 7 днів життя та були виключені з остаточного аналізу. В остаточному аналізі у групі пробіотика використані дані 46 дітей. П'ятдесят немовлят, які не отримували пробіотиків та перебували на стандартному лікуванні, були включені у групу порівняння 2. Серед них 4 дітей померли протягом першого тижня життя та були виключені з остаточного аналізу. Також, 5 дітей було виключені із дослідження через порушення його протоколу. Загалом у групі порівняння 2 в остаточному аналізі були використані дані 41 дитини.

Як згадувалось вище, 57 дітей, які були залучені у другий етап дослідження, а саме 29 дітей із групи пробіотика та 28 дітей із групи порівняння 2, були включені до групи порівняння 1, а їх дані використані в остаточному аналізі клінічної ефективності ентерального застосування ЛФ з метою забезпечення

більшої потужності першого етапу дослідження.

Ефективність ентерального застосування пробіотики *L. reuteri DSM 17938* оцінювали до моменту виписки зі стаціонару або смерті. НЕК II+ стадії, ПНС та показник загальної смертності були основними критеріями ефективності ентерального застосування пробіотики *L. reuteri DSM 17938* у наших пацієнтів. В якості вторинних критеріїв ефективності оцінювали вік дітей на момент досягнення повного об'єму ЕХ (160 мл/кг/добу), кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ, тривалість антибактеріальної терапії, масу тіла на момент досягнення ПМВ 36 тиж, а також тривалість перебування у ВІТН та загальної госпіталізації. Показники, які слугували основними та вторинними критеріями ефективності, додатково порівнювали у підгрупах немовлят з ТГ < 28 тиж і ≥ 28 тиж.

Відповідно до завдань дослідження у 63 немовлят на першому тижні життя було проведено бактеріологічне дослідження випорожнень (у 34 дітей у групі пробіотики і 29 немовлят із групи порівняння 2). У ПМВ 36 тиж було проведено повторне бактеріологічне обстеження випорожнень у 58 дітей – 33 у групі пробіотики та 25 у групі порівняння 2.

На третьому етапі дослідження для вивчення чинників ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК, зокрема ПНС та НЕК II+ стадії, ретроспективно були сформовані група захворювань, в яку були залучені усі діти, включені до остаточного порівняльного аналізу результатів та в яких виник НЕК II+ стадії та/або ПНС, та група порівняння 3, до якої увійшли діти, включені до остаточного порівняльного аналізу результатів та в яких не було цих захворювань (рисунок 2.2). У групу захворювань було залучено 49 немовлят, а групу порівняння 3 склали 98 дітей.

2.2 Стандартні клінічні, інструментальні та лабораторні методи дослідження

У групах порівнювали частоту найважливіших чинників ризику, пов'язаних

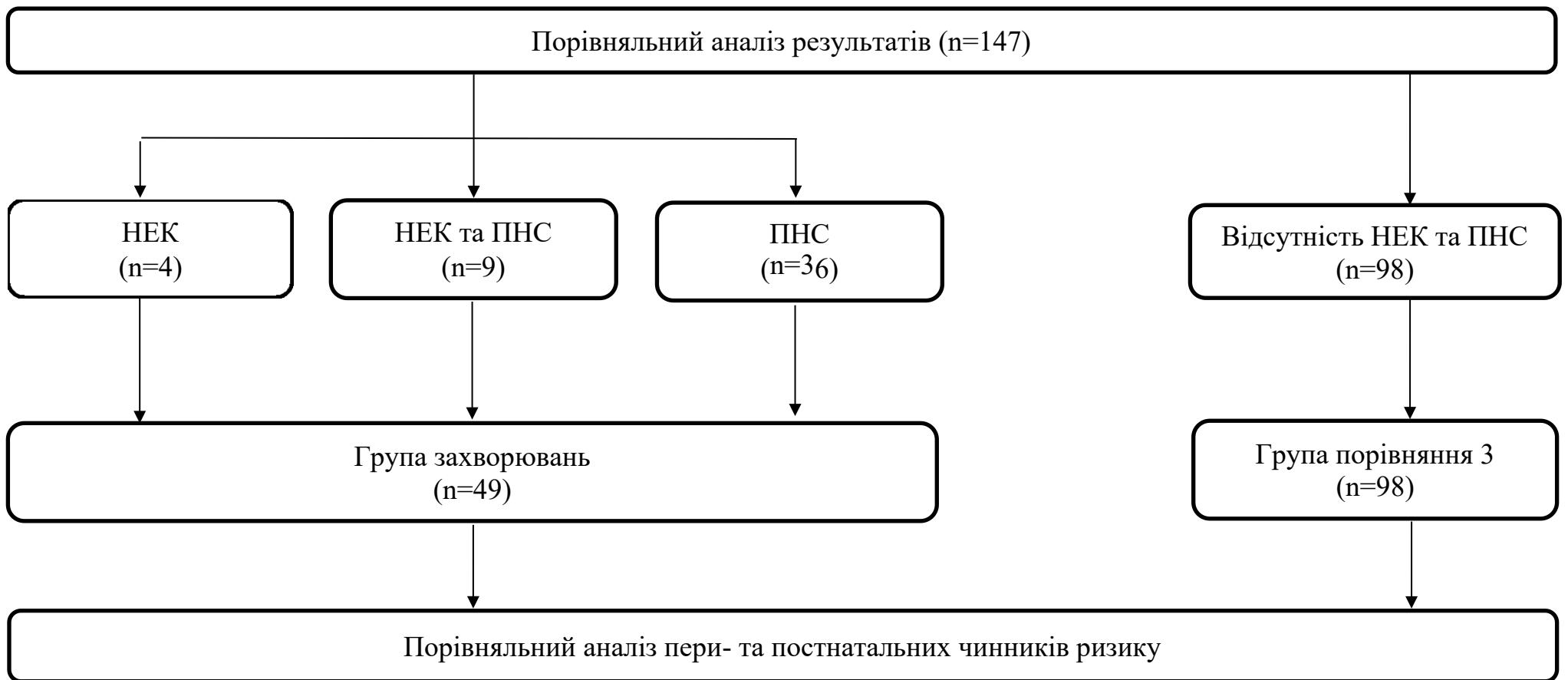


Рисунок 2.2 – Ретроспективний аналіз чинників ризику

з перебігом вагітності і пологів, вік матерів, тип пологів, частоту антенатального призначення стероїдів, масу тіла при народженні і гестаційний вік, результати оцінювання стану за шкалою Апгар на 5 хв, особливості надання первинної реанімаційної допомоги, методи, особливості і тривалість ДП, терапію препаратами екзогенного сурфактанту тощо. Під час лікування порівнювали тривалість застосування антибактеріальної терапії, частоту медикаментозного лікування ВАП, переливання препаратів крові із замісною метою, використання кортикостероїдів з метою профілактики БЛД, а також тривалість перебування у ВІТН і загальну тривалість госпіталізації. Також порівнювали особливості ЕХ, зокрема вік початку МЕХ та його тривалість, кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ, вік початку вигодовування ГМ та вік на момент досягнення повного об'єму ЕХ.

Патологічні стани неонатального періоду діагностували за стандартними критеріями. У всіх новонароджених використовували стандартні протоколи дихальної підтримки (ДП), парентерального й ентерального харчування з моніторингом газового складу крові, біохімічних показників та спостереженням за станом життєво важливих функцій і клінічними ознаками зниженої толерантності до ЕХ.

Під час госпіталізації у ВІТН всім пацієнтам забезпечувався моніторинг насичення гемоглобіну киснем і ЧСС за допомогою моніторів Trio (Datascop, США) і Radical (Masimo, США). Вимірювання артеріального тиску неінвазійним методом здійснювалось що 3 год або, за необхідності, частіше за допомогою електронного сфігмоманометра (Colins Press Mate BP 8800, Colin Corporation, Японія). Здійснювали рутинний моніторинг температури тіла, оцінювали діурез і загальний добовий об'єм спожитої рідини.

Для рентгенографії органів грудної клітки використовувався портативний рентген-апарат (SAXO Arelem, Франція). Рентгенографію виконували повторно за наявності клінічних показань. Доза опромінення кожного рентгенологічного обстеження становила 0,02 мЗв.

Стандартне лабораторне обстеження включало розгорнутий загальний

аналіз крові, визначення газового й електролітного складу крові, даних, що характеризують кислотно-лужний стан крові, дослідження біохімічних показників крові (вмісту глюкози, рівня білірубіну та його фракцій, креатиніну, С-реактивного білка тощо), а також стандартне бактеріологічне обстеження (кров, ліквор, кал, трахеальний аспірат тощо).

Визначення газового складу та кислотно-лужного стану крові досліджували за допомогою аналізатора АВС-2а (Radiometer, Данія).

Неонатальний сепсис діагностували на підставі критеріїв та прогностичної моделі Європейського агентства з лікарських засобів (таблиця 2.1) [169]. За відсутності позитивної культури крові, діагноз сепсису встановлювали за наявності щонайменше п'яти клінічних діагностичних ознак. Ранній неонатальний сепсис (РНС) діагностували в перші 72 год життя. Якщо клінічні симптоми захворювання виявлялися після 72 год життя, діагностували ПНС.

Діагноз НЕК II+ стадії встановлювали відповідно до критеріїв Bell у модифікації Kliegman [170].

Знижену толерантність до ЕХ встановлювали за критеріями Moore та Wilson, які відповідають рекомендаціям національного уніфікованого клінічного протоколу медичної допомоги «Ентеральне харчування недоношених немовлят». Ці критерії включають 1) неможливість засвоювати призначений об'єм годування, що виявляється наявністю залишку у шлунку $> 50\%$ від об'єму попереднього годування, 2) здуття живота більше ніж на 2 см та/або блювання, та 3) потребу зменшувати об'єм ЕХ за відсутності ознак сепсису та НЕК [171].

ВШК та ПЛВ діагностували за допомогою нейросонографії (SONOASE X8, Корея) та за даними автопсії. Скринінгову або діагностичну нейросонографію робили усім дітям на 3-5, 7 і 14 добу життя, а також у віці 1 міс. Використовували ультразвукові секторальні датчики (7,5 МГц). Ступінь ВШК оцінювали за класифікацією Papile [172].

БЛД діагностували за необхідності застосування $> 21\%$ кисню у вдихуваній суміші протягом щонайменше 28 днів. Тяжкість БЛД встановлювали у ПМВ 36 тиж відповідно до критеріїв Національного інституту здоров'я дитини та розвитку

людини (США) [173].

Усі діти перебували під наглядом під динамічним спостереженням дитячого офтальмолога. Діагностика стадії РН, а також визначення потреби оперативного втручання, відбувались відповідно до міжнародної класифікації ретинопатії недоношених [174].

Таблиця 2.1 – Діагностичні критерії неонатального сепсису [169]

Клінічні критерії	Лабораторні критерії
<ol style="list-style-type: none"> 1. Потреба збільшувати відсоток кисню у вдихуваній суміші або застосовувати ДП. 2. Збільшення частоти виникнення апное та брадикардії. 3. Нестабільність температури тіла. 4. порушення толерантності до ЕХ та/або здуття живота. 5. Олігурія < 1 мл/кг/год. 6. Ознаки порушення периферичної гемодинаміки (симптом «білої плями» довше 3 с, мармуровий рисунок шкіри). 7. Артеріальна гіпотензія (з клінічною потребою призначати додаткову рідину або інотропи). 8. Ознаки тактильної гіперестезії, летаргії або м'язової гіпотонії. 	<ol style="list-style-type: none"> 1. Підвищення рівня С-реактивного білка > 15 мг/л. 2. Кількість лейкоцитів < 4 або > 20 x 10⁹/л або тромбоцитопенія < 100 x10⁹/л. 3. Лейкоцитарний індекс > 0,2. 4. Зниження толерантності до глюкози (рівень глюкози < 2,2 ммоль/л або > 10 ммоль/л). 5. Метаболічний ацидоз (дефіцит основ > -10 ммоль/л).

2.3 Спеціальні дослідження

2.3.1 Визначення рівнів ФК. Випорожнення забирали з підгузка у стерильну пробірку після самовільного акту дефекації. Отриманий матеріал після забору якомога скоріше доставляли в лабораторію. За потреби пробірка зберігалась до 12 год при температурі 2-8 °С. Матеріал досліджували у лабораторії ТОВ «МЛ «ДІЛА», ліцензія МОЗ України № 071280 від 22.11.2012 р.

Рівень ФК у випорожненнях вимірювали за допомогою імуноферментного аналізу на імуноферментному фотоелектричному аналізаторі Sunrise (Tecan, Швейцарія) згідно з рекомендаціями виробника. Границі вимірювань становили 3,8-6000,0 мкг/г, похибка – $\pm 5,4\%$.

2.3.2 Бактеріологічне дослідження випорожнень. Матеріал для дослідження збирали з підгузка у стерильну пробірку після самовільного акту дефекації та якомога скоріше доставляли в лабораторію. За потреби, пробірка з матеріалом могла зберігатись протягом 12 год при температурі +2-8 °С перед доставкою в лабораторію. Дослідження виконувалось на базі науково-дослідного інституту епідеміології та гігієни Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, лабораторії вакцинокерованих та інших бактерійних інфекцій. Дослідження здійснювалось з використанням дозатора піпеткового Finnpiquette (Labsystems, Фінляндія), ваг лабораторних електронних VIC-412-U (Sartorius AG, Німеччина), термостата сухоповітряного ТС-80 (Одеський завод медичного обладнання, Україна), інкубатора лабораторного Heraeus UB6 (Thermo Fischer Scientific Inc, Німеччина), інкубатора BROWA (FRANZ Skorczewski KG, Німеччина) відповідно до рекомендацій виробників. Матеріал досліджували із застосуванням класичного методу посіву (розведення в ізотонічному розчині натрію хлориду до 10^2 - 10^9) на диференційно-діагностичні поживні середовища: Ендо (ТОВ «Фармактив», Україна), Макконкі («Graso Biotech», Польща), агар із кров'ю (основа «Biolife», Італія), жовтково-сольовий агар із манітом (основа «Biolife», Італія), агар для ентерококів («Graso Biotech», Польща); агар Сабуро («Graso Biotech», Польща); для виявлення біфідобактерій

і лактобактерій використано напіврідкі агаризовані середовища Блаурока і MRS відповідно («Graso Biotech», Польща), які регенерували безпосередньо перед посівом. Усі посіви інкубували при температурі $(37\pm 0,1)$ °C, посіви на агарі Сабуро протягом доби додатково витримували при температурі $(23\pm 1,0)$ °C. Результати оцінювали після 24, 48 і 72 год інкубування. Ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали за стандартними методиками.

2.4 Статистичні методи

Для аналізу даних використовували стандартні методи описової статистики, категоріального, порівняльного, кореляційного, коваріантного і логістичного регресійного аналізів.

Для оцінки прогностичної цінності вимірних показників ФК будували ROC-криву з наступним визначенням площі під нею та розрахунком чутливості та специфічності відповідних граничних показників.

Для оцінки відмінностей між безперервними показниками використовували тест Мана-Уїтні, дискретні величини порівнювали за допомогою критерію χ^2 , динаміку показників визначали за допомогою Sign тесту, порівняльні криві виживання пацієнтів оцінювали за допомогою аналізу Каплана-Мейера.

Непараметричні дані представлені як медіана (нижній і верхній квартилі). Наявність кореляційного зв'язку між непараметричними показниками оцінювали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмана. Усі показники вважали достовірними, якщо $p < 0,05$.

2.5 Дотримання вимог біоетики

Усі дослідження виконано з дотриманням прав безпеки пацієнтів, збереженням морально-етичних норм, прав і канонів людської гідності відповідно до основних положень GCP (1996 р.) Конвенції Ради Європи про права людини і біомедицину (від 04.04.1997 р.), Гельсінської декларації

Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи виконання наукових медичних досліджень за участю людини (1964-2000 рр.) і наказу МОЗ України від 23.09.2009 р. № 690, що підтверджено комісією з питань етики Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького (протокол № 2 від 17 лютого 2020 р.).

РОЗДІЛ 3

ЧИННИКИ РИЗИКУ ВИНИКНЕННЯ ЗАХВОРЮВАНЬ, ПОВ'ЯЗАНИХ З НЕЗРІЛІСТЮ ТРАВНОГО КАНАЛУ, У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ НЕМОВЛЯТ

Для виконання завдань на цьому етапі були використані дані 147 передчасно народжених немовлят, які були залучені у проспективне дослідження, яке порівнювало клінічну ефективність ентерального застосування коров'ячого ЛФ та пробіотика *L. reuteri DSM 17938* у значно недоношених немовлят з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК (рисунок 2.1). Ці діти ретроспективно були розподілені у 2 групи. Сорок дев'ять немовлят, в яких під час спостереження виник НЕК та (або) ПНС, були включені у групу захворювань. Дев'яносто вісім дітей, які не хворіли на ці захворювання, утворили групу порівняння 3.

3.1 Однофакторний аналіз пери- та постнатальних чинників ризику виникнення ПНС та НЕК

Значно недоношені немовлята, в яких порушення постнатальної адаптації ТК були пов'язані з розвитком ПНС і (або) НЕК, істотно частіше народжувались від молодших матерів і багатоплодових вагітностей з достовірно меншими середніми ТГ і МТ. Серед них також була значно більшою частка дітей, народжених при ТГ < 28 тиж. Ці немовлята достовірно частіше потребували первинної реанімації з інтубацією трахеї і ШВЛ, мали значно нижчі оцінки за Апгар на 5 хв життя та вірогідно частіше потребували введення екзогенного сурфактанту (таблиця 3.1). Водночас, сформовані групи істотно не відрізнялись за частотою використання антибактеріальної терапії та стероїдів у матерів під час вагітності, частотою передчасного розриву оболонок плода, народження шляхом кесарського розтину, а також за частками новонароджених із затримкою

внутрішньоутробного розвитку і хлопчиків (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1 – Порівняння перинатальних чинників ризику, демографічних та вихідних клінічних показників у сформованих групах пацієнтів

Показник	Група захворювань (n=49)	Група порівняння 3 (n=98)	<i>p</i>
1	2	3	4
Маса тіла при народженні, грами ¹	950,0 (800,0– 1200,0)	1200,0 (1000,0– 1300,0)	<0,01
Замалі для ТГ ²	9 (18,4)	16 (16,3)	>0,05
Термін гестації, тиж ¹	28,0 (26,0-29,0)	29,0 (28-30,0)	<0,01
Термін гестації <28 тиж ²	23 (46,9)	24 (24,5)	<0,01
Хлопчики ²	29 (59,2)	49 (50,0)	>0,05
Вік матері, роки ¹	28 (24-35)	31 (27-36)	<0,05
Багатоплодова вагітність ²	18 (36,7)	20 (20,4)	<0,05
Антибактеріальна терапія під час вагітності ²	13 (27,1)	17 (17,4)	>0,05
Стаціонарне лікування під час вагітності ²	10 (20,4)	19 (19,4)	>0,05
Передчасний розрив оболонок плода ²	15 (30,6)	36 (36,7)	>0,05
Аntenатальні стероїди ²	33 (67,4)	75 (76,6)	>0,05
Пологи шляхом кесарського розтину ²	27 (55,1)	51 (52,6)	>0,05
Реанімація після народження з інтубацією трахеї ²	37 (75,5)	54 (55,1)	<0,05
Оцінка за Апгар на 5хв ¹	5 (4-6)	6 (5-6)	<0,01
Уведення сурфактанту ²	42 (87,5)	65 (66,3)	<0,01

Кінець таблиці 3.1

1	2	3	4
Вік на момент госпіталізації у ВІТН, год ¹	20 (5-34)	8,5 (4-29)	>0,05

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній квантилі

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Найбільш поширеним основним діагнозом на момент госпіталізації був респіраторний дистрес-синдром, який був встановлений у 46 (93,9%) дітей із групи захворювань й у 94 (95,9%) немовлят із групи порівняння 3 ($p>0,05$). У 42 дітей із групи захворювань (85,7%) та у 80 немовлят із групи порівняння 3 (81,6%) на момент госпіталізації був також встановлений діагноз неонатальної пневмонії ($p>0,05$). Водночас, новонароджені із групи захворювань достовірно частіше потребували лікування із застосуванням ШВЛ, медикаментозної терапії ВАП, переливання еритроцитарної маси з метою корекції гострої анемії та призначення постнатальних стероїдів. У них також значно частіше катетеризували вену пуповини. Ці немовлята значно довше були залежними від ШВЛ, неінвазійної ДП і додаткового кисню. Між групами не було відмінностей за частотою призначення ЛФ і пробіотиків (таблиця 3.2).

Таблиця 3.2 – Порівняльні особливості лікування у сформованих групах

Показник	Група захворювань (n=49)	Група порівняння 3 (n =98)	<i>p</i>
1	2	3	4
Використання пупкового венозного катетера ²	8 (16,3)	5 (5,1)	<0,05
Медикаментозне лікування ВАП ²	28 (57,1)	34 (34,7)	<0,05
Переливання еритромаси ²	41 (85,4)	43 (43,9)	<0,01
Кількість переливань еритромаси ¹	2,0 (1,0-3,0)	1,0 (1,0-2,0)	<0,05

Кінець таблиці 3.2

1	2	3	4
Використання ШВЛ ²	38 (77,5)	42 (42,9)	<0,01
Використання неінвазійної ДП ²	46 (93,9)	87 (88,8)	>0,05
Лікування стероїдами ²	10 (20,4)	4 (3,9)	<0,01
Лікування ЛФ ²	10 (20,4)	17 (15,3)	>0,05
Лікування пробіотиками ²	30 (61,2)	63 (64,3)	>0,05
Тривалість ШВЛ, год ¹	120,0 (24,0- 200,0)	25,0 (3,0- 85,0)	<0,01
Тривалість ШВЛ, год ^{1,3}	117,5 (27,5- 174,5)	24,0 (3,0- 80,5)	<0,01
Тривалість неінвазійної ДП, год ¹	256,5 (138,0- 500,0)	100,0 (55,0- 216,0)	<0,01
Тривалість неінвазійної ДП, год ^{1,3}	319,5 (161,0- 576,0)	107,5 (55,0- 216,0)	<0,01
Тривалість оксигенотерапії, год ¹	384,0 (254,0- 815,0)	242,0 (72,0- 679,0)	>0,05
Тривалість оксигенотерапії, год ^{1,3}	384,0 (259,0- 796,0)	221,0 (72,0- 663,0)	<0,05
Загальна тривалість кисневої залежності, год ¹	594,0 (265,5- 1339,0)	120,0 (24,0- 618,0)	<0,01
Загальна тривалість кисневої залежності, год ^{1,3}	863,0 (266,0- 1360,0)	120,0 (24,0- 618,0)	<0,01

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній кватилі

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Примітка 3. Для дітей, які вижили

Діти із групи захворювань достовірно частіше і довше потребували повного парентерального харчування. Відповідно їх починали годувати ентерально у достовірно пізнішому віці, однак в обидвох групах це відбувалось в першу добу життя. Тривалість МЕХ була істотно довшою у дітей, в яких пізніше

діагностували ПНС і (або) НЕК. Також, у немовлят із групи захворювань частіше відмічались епізоди зниженої толерантності до ЕХ, які вимагали часткової зупинки або корекції призначеного харчування. Усіх дітей розпочинали годувати спеціальними сумішами, і частка немовлят, які в подальшому отримували ГМ матерів, не відрізнялась між групами. Однак, дітей із групи захворювань починали годувати ГМ майже на тиждень пізніше, ніж немовлят із групи порівняння, проте ця відмінність не виявилась достовірною. Водночас, немовлят в обидвох групах починали годувати молоком матері, у середньому, після другого тижня життя (таблиця 3.3).

Таблиця 3.3 – Порівняльні особливості харчування у сформованих групах

Показник	Група захворювань (n=49)	Група порівняння 3 (n =98)	<i>p</i>
1	2	3	4
Повне парентеральне харчування ¹	23 (46,9)	23 (23,5)	<0,05
Тривалість повного парентерального харчування, дні ²	3,0 (1,0-8,0)	1,0 (1,0-2,0)	<0,05
Вік на момент початку МЕХ, год ²	11 (6,0-11,0)	8,5 (6,0-12)	<0,01
Тривалість МЕХ, дні ²	4,0 (3,0-6,0)	3,0 (2,0-4,0)	<0,01
Змішане вигодовування ¹	19 (41,3)	52 (51,5)	>0,05
Вік на момент початку годування ГМ, дні ²	23,0 (16,0-38,0)	17,0 (13,5-27,0)	>0,05
Кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ ²	3,0 (1,0-4,0)	1,0 (0,0–2,0)	<0,01

Примітка 1. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Примітка 2. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній кuartили

3.2 Багатофакторна логістична регресійна модель ймовірності виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК

Усі чинники ризику, за якими було встановлено наявність вірогідних відмінностей між групами за підсумками одноваріантного аналізу, були включені до логістичної регресійної моделі, в якій як залежну дихотомічну змінну використовували відсутність або наявність захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК. За підсумками багатофакторного аналізу було встановлено, що на ризик виникнення цих захворювань достовірно та незалежно впливали вік дітей на момент початку ЕХ, кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ та кількість замісних трансфузій еритроцитарної маси з метою корекції гострої анемії (таблиця 3.4).

Отримана модель характеризується добрими параметрами відповідності, про що свідчать результати тесту Hosmer і Lemeshow (таблиця 3.4), тому розраховані коефіцієнти регресії можуть бути використані для розрахунку індивідуального ризику виникнення порушень адаптації незрілого ТК у значно недоношених немовлят.

Таблиця 3.4 – Незалежні та достовірні чинники ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК

Показник	Коефіцієнт регресії (β)	Стандартна похибка	Скоригований КСШ (95% ДІ)	p
Вік на момент початку МЕХ, години	0,042	0,022	1,042 (0,998-1,089)	<0,05
Кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ	0,569	0,147	1,766 (1,323-2,356)	<0,001
Кількість переливань еритромаси	1,188	0,514	3,280 (1,199-8,974)	<0,05
Константа	-3,258	0,572	0,038	<0,001

Примітка. Тест Hosmer і Lemeshow: $p=0,751$; $\chi^2 = 5,057$

Підсумовуючи отримані результати, можна дійти висновку, що основні відмінності між сформованими групами немовлят переважно залежали від ступеня незрілості дитини на момент народження. Зокрема, це менші ТГ і МТ при народженні, нижчі оцінки стану за Апгар на 5 хв, потреба у введенні екзогенного сурфактанту, триваліша залежність від ШВЛ, неінвазійної ДП та кисню та, як наслідок, частіше використання постнатальних стероїдів. Медикаментозне лікування ВАП, вища потреба у замісних трансфузіях еритроцитарної маси, як і пізніший початок ЕХ також частково пов'язані з меншим ТГ.

Водночас варто зазначити, що за підсумками багатофакторного логістичного регресійного аналізу ані ТГ, ані МТ при народженні безпосередньо не впливали на імовірність виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК у нашій популяції значно недоношених немовлят. У результаті багатофакторного аналізу було виявлено три чинники, які достовірно і незалежно впливали на ризик виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК. Можливість розпочати ЕХ і стабільно збільшувати його об'єм виявились критичними індикаторами успішної адаптації ТК передчасно народжених немовлят з ТГ ≤ 32 тиж, яка вірогідно зменшувала ймовірність виникнення ПНС і НЕК. На цю імовірність також незалежно впливав розвиток гострої анемії, яка потребувала корекції, і могла порушувати оксигенацію незрілого ТК.

РОЗДІЛ 4

КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ КОРОВ'ЯЧОГО ЛФ ТА ЙОГО ВПЛИВ НА РІВНІ ФК У ПЕРЕДЧАСНО НАРОДЖЕНИХ НЕМОВЛЯТ

4.1 Порівняльна клінічна характеристика пацієнтів

У цій частині роботи використані дані 117 передчасно народжених немовлят, залучених у проспективне дослідження, яке порівнювало клінічну ефективність ентерального застосування коров'ячого ЛФ у значно недоношених немовлят з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК (розділ 2; рисунок 2.1). Діти, які відповідали критеріям включення, були рандомізовані у групу ЛФ або контролю. Рандомізована частина дослідження була завершена достроково у зв'язку з пандемією SARS-CoV-2 у 2020 р. та спричиненим нею дефіцитом сировини для виготовлення препарату ЛФ. З метою збільшення потужності дослідження у групу порівняння 1 були залучені 57 пацієнтів, які брали участь у дослідженні клінічної ефективності пробіотика *L. reuteri DSM 17938* та не отримували ЛФ протягом лікування. Загалом дані 27 дітей, які отримували ЛФ, порівнювали з даними 90 немовлят у групі порівняння 1.

Сформовані групи достовірно не відрізнялись за демографічними показниками та частотою перинатальних чинників ризику, однак немовлята із групи лактоферину були госпіталізовані у відділення достовірно скоріше. Також дітям у цій групі значно частіше катетеризували вену пуповини. Групи не відрізнялись за частками дітей, які отримували пробіотики (таблиця 4.1).

МЕХ призначали в першу добу життя, проте вірогідно скоріше у немовлят, які отримували ЛФ. Водночас, тривалість МЕХ не відрізнялась між групами. Частка немовлят, які перебували на змішаному вигодовуванні, достовірно не відрізнялась у групах, хоча дітей у групі лактоферину починали годувати грудним молоком скоріше ($p > 0,05$). Також групи не відрізнялись за кількістю

епізодів зниженої толерантності до ЕХ (таблиця 4.2).

Таблиця 4.1 – Порівняння демографічних та вихідних клінічних показників у сформованих групах пацієнтів

Показник	Група лактоферину (n=27)	Група порівняння 1 (n=90)	<i>p</i>
1	2	3	4
Маса тіла при народженні, г ¹	1095,0 (860,0–1300,0)	1150 (870,0–1300,0)	>0,05
Термін гестації, тиж ¹	28,5 (27,0-31,0)	29,0 (27,0-30,0)	>0,05
Термін гестації < 28 тиж ²	9 (33,3)	26 (38,9)	>0,05
Хлопчики ²	13 (48,1)	52 (57,8)	>0,05
Багатоплодова вагітність ²	9 (33,3)	20 (22,2)	>0,05
Вік матерів, роки ¹	29 (22-36)	30 (27-35)	>0,05
Антибактеріальна терапія під час вагітності ²	2 (7,4)	18 (20)	>0,05
Будь-які стероїди антенатально ²	17 (62,9)	67 (74,4)	>0,05
Повний курс антенатальних кортикостероїдів ²	16 (59,2)	55 (61,1)	>0,05
Пологи шляхом кесаревого розтину ²	14 (52)	50 (55,5)	>0,05
Оцінка за Апгар < 7 на 5 хв ²	18 (66,6)	68 (75,5)	>0,05
Вік на момент госпіталізації у відділення, год ¹	6 (2-10)	23 (5-44)	<0,05
Уведення сурфактанту ²	16 (59,3)	65 (72,2)	>0,05
Переливання еритромаси ²	14 (51,9)	46 (51,1)	>0,05
Лікування пробіотиками ²	21 (77,8)	60 (68,9)	>0,05
Лікування стероїдами ²	3 (11,1)	6 (6,8)	>0,05

1	2	3	4
Лікування з використанням ШВЛ ²	14 (51,9)	43 (47,8)	>0,05
Потреба повторних інтубацій трахеї ²	7 (25,9)	15 (16,7)	>0,05
Використання пупкового венозного катетера ²	6 (22,2)	3 (3,3)	<0,001

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квартилі

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Таблиця 4.2 – Порівняльні особливості ЕХ у групах дослідження

Показник	Група лактоферину (n=27)	Група порівняння 1 (n=90)	<i>p</i>
Вік на момент початку МЕХ, год ¹	7 (6,0-11,0)	10,0 (6,0-16,0)	<0,05
Тривалість МЕХ, дні ¹	3,0 (2,0-5,0)	3,0 (2,0-5,0)	>0,05
Годування лише сумішшю ²	17 (63)	48 (53,3)	>0,05
Змішане вигодування ²	10 (37)	42 (46,7)	>0,05
Вік на момент початку годування ГМ, дні ¹	14,0 (12,0-23,0)	22,5 (16,0-30,0)	>0,05
Кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ ¹	1,0 (0-2,0)	1,0 (1,0-3,0)	>0,05

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квартилі

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

4.2 Вплив ЛФ на захворюваність та смертність передчасно народжених дітей

Ентеральне застосування ЛФ не знижувало частоту виникнення ПНС та найважливіших захворювань, віднесених до вторинних критеріїв ефективності

(розділ 2), а також загальну смертність. Додатковий аналіз у підгрупах дітей також засвідчив, що ентеральне застосування ЛФ не впливало на захворюваність залежно від ТГ (таблиця 4.3).

Порівняльний аналіз виживання у групах за Каплан-Мейер виявив достовірно більше випадків смерті у групі лактоферину в ранній неонатальний період порівняно з групою порівняння (рисунок 4.1).

Таблиця 4.3 – Порівняння захворюваності, пов'язаної з незрілістю ТК, та частоти інших неонатальних захворювань у сформованих групах пацієнтів

Показник	Група лактоферину (n=27)	Група порівняння 1 (n=90)	КСШ (95% ДІ)	<i>p</i>
1	2	3	4	5
ПНС				
Усі діти	8 (29,6)	28 (22,2)	0,95 (0,49-1,84)	>0,05
ТГ < 28 тиж	3 (30,8)	14 (48,8)	0,62 (0,23-1,67)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	5 (27,8)	14 (22,2)	1,27 (0,53-3,05)	>0,05
НЕК II+ стадії				
Усі діти	4 (14,8)	5 (5,6)	2,67 (0,77-9,24)	>0,05
ТГ < 28 тиж	2 (22,2)	3 (12)	1,96 (0,38-9,74)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	2 (11,1)	2 (3,1)	3,56 (0,54-23,53)	>0,05
Смертність				
Усі діти	5 (18,5)	6 (6,7)	2,78 (0,92-8,39)	>0,05
ТГ < 28 тиж	3 (30,8)	5 (14,6)	1,73 (0,52-5,83)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	2 (11,1)	1 (1,6)	7,11 (0,68-73,98)	>0,05
ВШК 3-4 ступеня				
Усі діти	5 (18,5)	8 (9,1)	2,08 (0,74-5,84)	>0,05
ТГ < 28 тиж	3 (33,3)	5 (19,2)	5,80 (1,65-20,37)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	2 (11,1)	3 (4,8)	2,37 (0,43-13,12)	>0,05

Кінець таблиці 4.3

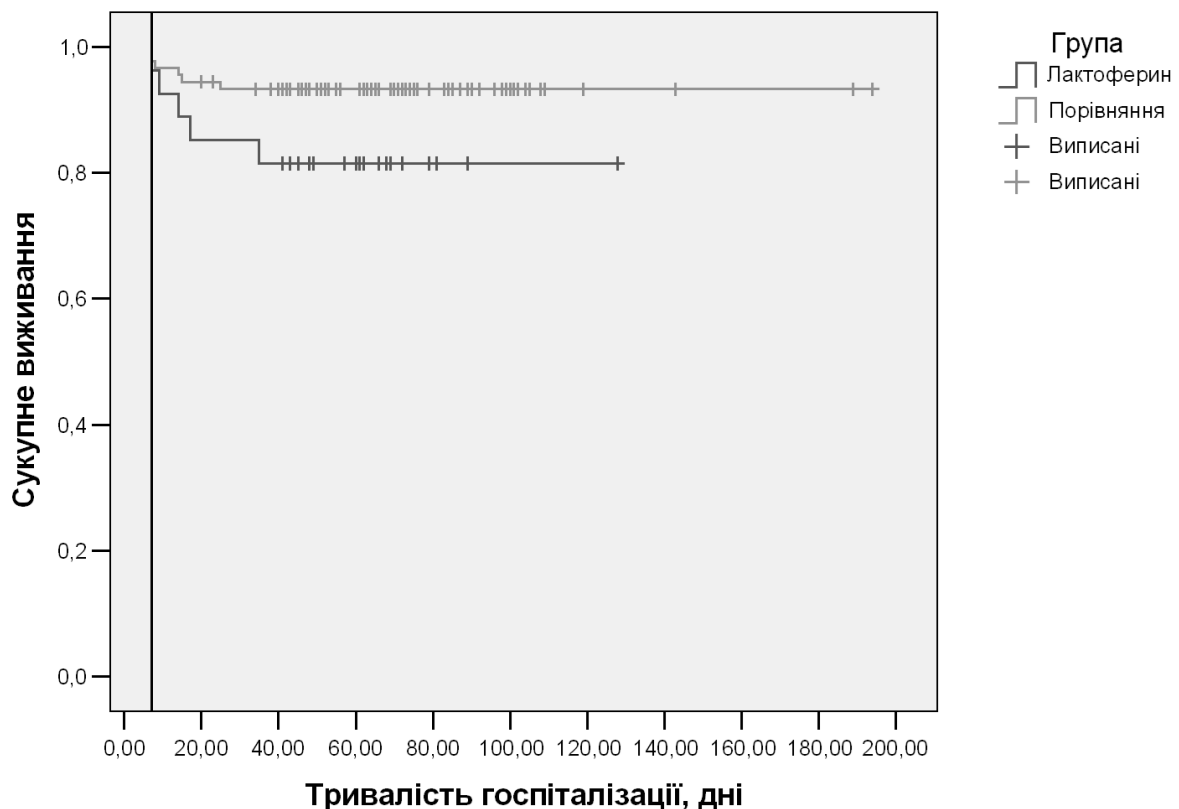
1	2	3	4	5
ПВЛ				
Усі діти	3 (11,1)	2 (2,3)	5,00 (0,88-28,39)	>0,05
ТГ < 28 тиж	2 (22,2)	1 (4,0)	5,78 (0,59-56,35)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	1 (5,6)	1 (1,6)	3,56 (0,23-54,11)	>0,05
Тяжка РН з потребою в операції				
Усі діти	3 (11,1)	7 (7,8)	1,43 (0,40-5,15)	>0,05
ТГ < 28 тиж	2 (22,2)	5 (19,2)	1,16 (0,27-4,95)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	1 (5,6)	2 (3,1)	1,78 (0,17-18,5)	>0,05
Загальна частота БЛД				
Усі діти	4 (14,8)	23 (25,6)	0,58 (0,22-1,53)	>0,05
ТГ < 28 тиж	3 (33,3)	15 (57,7)	0,58 (0,22-1,54)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	1 (5,6)	8 (12,5)	0,44 (0,06-3,32)	>0,05
Частота помірної і тяжкої БЛД				
Усі діти	1 (3,7)	6 (6,6)	0,56 (0,07-4,42)	>0,05
ТГ < 28 тиж	1 (11,1)	3 (11,6)	0,96 (0,11-8,12)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	0 (0)	3 (4,7)	1,19 (0,13-10,71)	>0,05

Примітка. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Водночас, призначення ЛФ асоціювалось з достовірно скорішим досягненням повного об'єму ЕХ й істотним з клінічної точки зору, хоча і статистично невірогідним скороченням тривалості антибактеріальної терапії. Додатковий аналіз у підгрупах засвідчив достовірно скоріше досягнення повного об'єму ЕХ у немовлят, які отримували ЛФ, незалежно від ТГ. Окрім цього, призначення ЛФ асоціювалось з меншою тривалістю загальної госпіталізації та перебування у ВІТН, хоча останні відмінності не були

достовірними. Однак, відмінності за тривалістю лікування у ВІТН, загальної госпіталізації і застосування антибактеріальної терапії залежно від призначення ЛФ були особливо виразними у підгрупі екстремально недоношених немовлят з ТГ < 28 тиж (таблиця 4.4).

Рисунок 4.1 – Порівняльний аналіз виживання у групах за Каплан-Мейер (F-тест Кокса: $p=0,049$)



Підсумовуючи, можна зазначити, що ентеральне застосування ЛФ у дозі 100 мг/добу не знижувало частоту ПНС, НЕК, РН, тяжких уражень ЦНС і БЛД у передчасно народжених немовлят з дуже малою масою тіла при народженні, залучених у наше дослідження. Однак, діти, які отримували ЛФ, скоріше досягали повного об'єму ЕХ, а найбільш незрілі з них (ТГ < 28 тиж) скоріше виписувались з лікарні.

Таблиця 4.4 – Порівняння вторинних критеріїв клінічної ефективності ЛФ

Показник	Група лактоферину (n=27)	Група порівняння 1 (n=90)	P
Вік на момент досягнення повного об'єму ЕХ, дні ^{1,2}			
Усі діти	14 (10-17)	19 (13-32)	<0,01
ТГ < 28 тиж	16,5 (15,0-18,0)	34 (19,0-43,0)	<0,05
ТГ ≥ 28 тиж	13 (8-17)	18 (12-27)	<0,05
Тривалість АБ, дні ^{1,2}			
Усі діти	23,5 (18-32)	31,5 (22,5-36,5)	>0,05
ТГ < 28 тиж	35 (29-40)	52 (38-70)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	28 (18-34)	32 (23-38)	>0,05
Тривалість госпіталізації у ВІТН, дні ^{1,2}			
Усі діти	9 (5-25)	12 (7-32)	>0,05
ТГ < 28 тиж	28 (16-38)	45 (29-62)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	8 (3-11)	10 (6-15)	>0,05
Загальна тривалість госпіталізації, дні ^{1,2}			
Усі діти	61 (48-72)	69 (50-89)	>0,05
ТГ < 28 тиж	74 (68-89)	98 (83-109)	<0,05
ТГ ≥ 28 тиж	57 (45-66)	61,5 (47-74)	>0,05

Примітки 1. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Примітка 2. Для немовлят, які вижили

Результати досліджень, представлені у розділі 4, наведено у публікації [177]:

1) Dobryk D.S., Dobryk O.O., & Dobryanskyu D.O. (2022). The effect of enteral

lactoferrin supplementation in prevention of morbidity associated with immature digestive tract in premature infants: a prospective cohort study. *Georgian medical news*, (323), 94–101. PMID: 35271478.28 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

РОЗДІЛ 5

ПРОГНОСТИЧНА ЗНАЧУЩІСТЬ ФК ЯК МАРКЕРА ЗАПАЛЬНОГО СТАТУСУ НЕЗРІЛОГО ТК У ПРОГНОЗУВАННІ ЗАХВОРЮВАНЬ, ПОВ'ЯЗАНИХ З ПОРУШЕННЯМИ АДАПТАЦІЇ НЕЗРІЛОГО ТК. ВПЛИВ ЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ЛФ НА РІВНІ ФК

5.1 Клінічна характеристика дітей, в яких досліджували ФК

На першому етапі роботи у 26 немовлят, залучених у проспективне дослідження клінічної ефективності ЛФ, визначали рівні ФК в перший тиждень життя, а у 22 із них це вимірювання повторювали у ПМВ 36 тиж (розділ 2; рисунок 2.1). Четверо дітей після першого обстеження припинили участь у дослідженні – троє з них померли, а одну дитину перевели в інший стаціонар. Серед 26 обстежених немовлят 15 хворіли на РНС (шестеро дітей хворіли виключно на РНС, один пацієнт в подальшому захворів на ПНС і НЕК), ПНС (у шести пацієнтів діагностований виключно ПНС, в одному випадку ПНС поєднувався з НЕК, а в одному дитина захворіла на ПНС і НЕК після РНС) або НЕК (в однієї дитини діагностовано виключно НЕК, в одному випадку виявлені всі 3 захворювання; 1 випадок НЕК поєднувався з ПНС). У решти 11 немовлят цих захворювань не було.

Немовлята, в яких діагностували захворювання, пов'язані з незрілістю ТК, мали достовірно менші ТГ і масу тіла при народженні. Вони частіше народжувались від багатоплодових вагітностей, у тяжчому стані (оцінка за Апгар на 5 хв менше 7 балів), потребували реанімаційних заходів після народження і подальшої ШВЛ, хоча відмінності за цими показниками не були достовірними (таблиці 5.1 і 5.2). Отже, на сепсис і НЕК частіше хворіли найбільш незрілі діти або немовлята із значними порушеннями ранньої постнатальної адаптації.

Лише у дітей, які перенесли сепсис і (або) НЕК, діагностували тяжкі ВШК (5 випадків – 33,3 %), ПВЛ (1 випадок – 6,7 %) і БЛД (4 випадки – 26,7 %), що достовірно відрізняло їх від немовлят із підгрупи порівняння.

Діти, в яких діагностували захворювання, пов'язані з незрілістю ТК, потребували достовірно більшої кількості замісних трансфузій еритромаси, триваліших антибактеріальної терапії, ШВЛ і СРАР, а відповідно і тривалішої госпіталізації. Троє немовлят із цієї підгрупи померли, а одна дитина була переведена в хірургічне відділення з діагнозом НЕК (таблиця 5.2).

Таблиця 5.1 – Порівняння демографічних та вихідних клінічних показників немовлят, в яких визначали рівні ФК

Показник	Діти із сепсисом і/або НЕК (n=15)	Діти без сепсису і НЕК (n=11)	<i>P</i>
1	2	3	4
Термін гестації, тиж ¹	28,0 (27,0-31,0)	30,0 (29,0-32,0)	<0,01
Термін гестації < 28 тиж ²	7 (46,6)	0	<0,05
Маса тіла при народженні, г ¹	870,0 (760,0-970,0)	1300,0 (1150,0-1460,0)	<0,05
Замалі для терміну гестації ²	1 (6,7)	1 (9,1)	>0,05
Хлопчики ²	7 (46,6)	5 (45,5)	>0,05
Багатоплодова вагітність ²	5 (33,3)	1 (9,1)	>0,05
Вік матерів, роки ¹	28,0 (23,0-31,0)	31,0 (24,0-37,0)	>0,05
Антибактеріальна терапія під час вагітності ²	2 (13,3)	3 (27,3)	>0,05
Передчасний розрив оболонки плода ²	3 (20,0)	4 (36,4)	>0,05
Антенатальні стероїди ²	10 (66,7)	8 (72,7)	>0,05

1	2	3	4
Народження шляхом кесарського розтину ²	8 (53,3)	7 (63,6)	>0,05
Первинна реанімація ²	11 (68,6)	5 (45,5)	>0,05
Оцінка за шкалою Апгар < 7 на 5 хв ²	13 (86,7)	6 (54,5)	>0,05
Уведення сурфактанту ²	11 (73,3)	8 (72,7)	>0,05
Вік на момент госпіталізації у ВІТН, год ¹	4,0 (2,0-9,0)	6,0 (2,0-25,0)	>0,05

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній кuartили

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Таблиця 5.2 – Порівняння терапевтичних утручань і результатів лікування немовлят, в яких визначали рівні ФК

Показник	Діти із сепсисом і/або НЕК (n=15)	Діти без сепсису і НЕК (n=11)	<i>P</i>
1	2	3	4
Потреба у ШВЛ ²	11 (73,3)	4 (36,3)	>0,05
Тривалість ШВЛ, год ^{2,3}	16 (0-88,0)	0 (0-14,0)	<0,05
Потреба у СРАР ²	15 (100,0)	11 (100,0)	>0,05
Тривалість СРАР, год ^{2,3}	182 (97,0-439,0)	54,0 (45,0-107,0)	<0,01
Переливання еритромаси ¹	13 (86,7)	2 (18,2)	<0,01
Лікування стероїдами ¹	2 (13,3)	0 (0)	>0,05
Лікування ЛФ ²	7 (46,6)	4 (36,3)	>0,05
Тривалість АБ терапії, дні ²	38,0 (30,0-46,0)	27,0 (17,0-34,0)	<0,05
Тривалість лікування у ВІТН, дні ²	38,0 (10,0-45,0)	7,0 (6,0-10,0)	<0,01

1	2	3	4
Загальна тривалість госпіталізації, дні ^{2,3}	83,0 (57,0-104,0)	60,0 (45,0-74,0)	>0,05
Померли ¹	3 (20,0)	0	>0,05
Переведені в інший стаціонар ¹	1 (6,7)	0 (0)	>0,05

Примітка 1. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Примітка 2. Зазначено медіану, у дужках – нижній і верхній квартилі

Примітка 3. Для дітей, які вижили

Немовлята, в яких діагностували сепсис або НЕК, достовірно триваліше перебували на МЕХ, гірше толерували ЕХ, пізніше починали отримувати ГМ, а також пізніше досягали повного добового об'єму ЕХ. Усіх дітей годували спеціальними сумішами, а більше половини з них додатково отримували молоко матері. Підгрупи не відрізнялись за частками дітей, яких годували молоком матері на момент забору матеріалу на дослідження (таблиця 5.3).

Таблиця 5.3 – Порівняльні особливості ЕХ у немовлят, в яких визначали рівні ФК

Показник	Діти із сепсисом і/або НЕК (n=15)	Діти без сепсису і НЕК (n=11)	<i>P</i>
Вік на момент початку ЕХ, год ¹	8,0 (5,0-13,0)	6,0 (4,0-12,0)	>0,05
Тривалість МЕХ, дні ¹	4,0 (3,0-9,0)	3,0 (2,0-4,0)	<0,05
Кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ ²	3,0 (1,0-4,0)	1,0 (0,0-2,0)	<0,05
Вік на момент досягнення повного об'єму ЕХ, дні ¹	27,5 (20,0-35,5)	10,0 (7,0-15,0)	<0,01
Отримували ГМ ²	8 (53,3)	6 (54,5)	>0,05

1	2	3	4
Вік на момент початку вигодовування ГМ, дні ¹	23,5 (18,0-27,5)	13,5 (12,0-14,0)	<0,05

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – верхній і нижній квартилі

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

5.2 Прогностичне значення ФК щодо виникнення захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК

У дітей, які перенесли сепсис і (або) НЕК, рівень ФК в перші 7 днів життя був вищим, ніж у новонароджених із підгрупи порівняння, однак ця відмінність не була статистично достовірною (таблиця 5.4). Середній вік немовлят на момент першого обстеження становив 3 дні в обидвох підгрупах (діти із сепсисом і (або) НЕК: 3,0 (3,0-6,0) днів; діти без сепсису і НЕК: 3,0 (2,0-5,0) днів; $p > 0,05$). На момент досягнення ПМВ 36 тиж концентрації ФК у немовлят, які хворіли на сепсис і (або) НЕК, зменшувались, а у дітей із підгрупи порівняння навпаки зростали, однак відмінність показників між групами залишалась недостовірною. Не була статистично вірогідною і динаміка показників (таблиця 5.4).

5.2.1 ФК та РНС. У 7 немовлят було діагностовано РНС. Рівні ФК у цих дітей в перший тиждень життя були значно вищі порівняно з підгрупою порівняння (таблиця 5.4). На момент досягнення ПМВ 36 тиж вміст ФК у немовлят з РНС істотно зменшився ($p < 0,05$). На підставі результатів ROC-аналізу було встановлено, що показник ФК 373,9 мкг/г має чутливість 71 % та специфічність 63 % щодо виявлення РНС у передчасно народжених немовлят (площа під кривою – 0,79; 95 % ДІ: 0,81-0,97; $p = 0,026$; рисунок 5.1). Позитивна прогностична цінність показника $\geq 373,9$ мкг/г становить 41,6 %, а прогностичне значення результату $< 373,9$ мкг/г – 85,7 %. За підсумками коваріантного аналізу, який серед незалежних змінних включав РНС і

гестаційний вік як коваріанту, останній достовірно не впливав на показники ФК в перший тиждень життя ($F=0,14$; $p>0,05$).

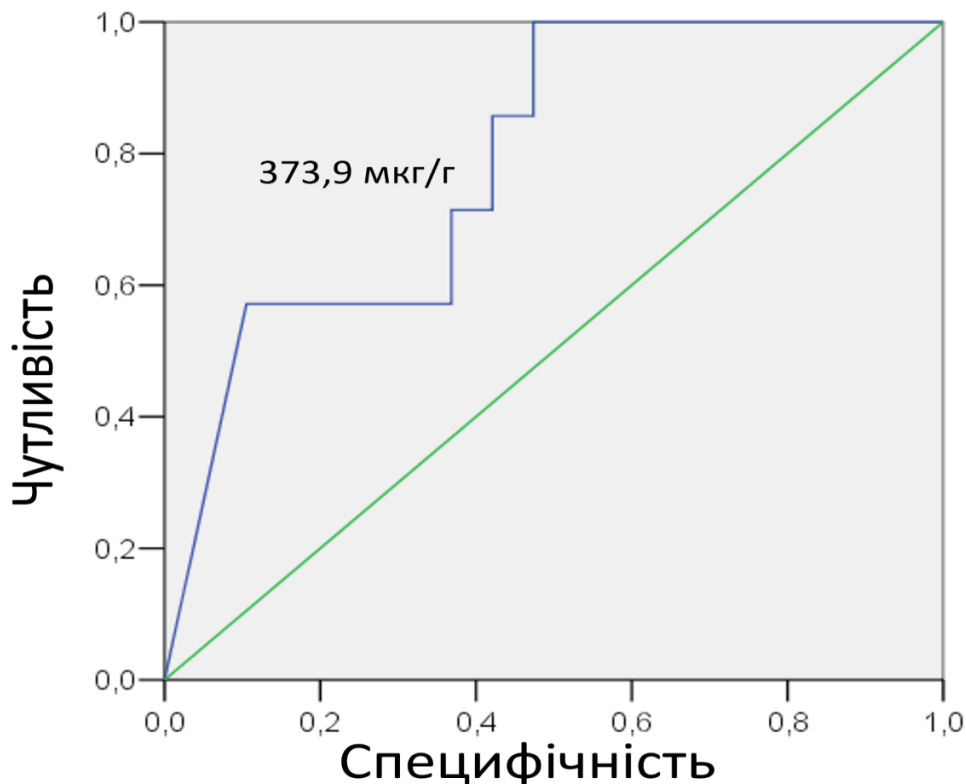


Рисунок 5.1 – ROC-аналіз рівнів ФК на першому тижні життя з метою виявлення РНС

5.2.2 ФК і ПНС. На ПНС загалом захворіли 8 пацієнтів, в яких визначали ФК. В одному випадку ПНС поєднувався з НЕК, а в одному дитина захворіла на ПНС і НЕК після РНС, тому результати визначення ФК у них не враховувались під час відповідних порівнянь з «контрольними» показниками. За підсумками обидвох вимірювань рівні ФК у немовлят з ПНС не відрізнялись від показників у підгрупі порівняння, і їх динаміка не була достовірною. Одна дитина померла до досягнення ПМВ 36 тиж (таблиця 5.4).

5.2.3 ФК і НЕК. Троє немовлят, в яких визначали ФК, захворіли на НЕК. В одній дитині діагностовано виключно НЕК, в одному випадку були виявлені РНС, ПНС і НЕК; 1 випадок НЕК поєднувався з ПНС. Рівні ФК, отримані протягом першого тижня життя, достовірно не відрізнялись у дітей,

в яких в подальшому розвинувся НЕК, і немовлят із групи порівняння (таблиця 5.4). Два випадки завершилися летально, а третю дитину перевели в інший заклад охорони здоров'я для подальшого лікування, що унеможливило визначення й аналіз показників ФК на момент досягнення ПМВ 36 тиж.

Таблиця 5.4 – Показники ФК залежно від наявності захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК

Показник	Діти із сепсисом і/або НЕК (n=15)	Діти без сепсису і НЕК (n=11)	<i>p</i>	Діти із сепсисом і/або НЕК (n=15)	Діти без сепсису і НЕК (n=11)	<i>P</i>
	Перші 7 днів життя			ПМВ 36 тиж		
ФК (мкг/г) у всіх дітей підгрупи ¹	413,5 (241,9-800,0)	274,2 (195,5-639,1)	>0,05	236,7 (10,3-722,9)	462,3 (247,6-726,8)	>0,05
ФК (мкг/г) у дітей з РНС ¹ (n=7) ²	800,0 (294,4-800,0)		<0,05	480,3 (134,2-800,0) ³		>0,05
ФК (мкг/г) у дітей з ПНС ¹ (n=6) ⁴	374,7 (70,4-680,2)		>0,05	160,4 (100,2-313,1) (n=5)		>0,05
ФК (мкг/г) у дітей з НЕК ¹ (n=3) ⁵	334,4 (228,7-800,0)		>0,05	-		-

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній квартилі

Примітка 2. Усі діти з РНС

Примітка 3. Статистично достовірна динаміка показника ($p < 0,05$)

Примітка 4. Діти, в яких діагностовано виключно ПНС

Примітка 5. Двоє із цих дітей хворіли також на сепсис.

5.3 Вплив ентерального застосування коров'ячого ЛФ та рівні ФК у передчасно народжених немовлят

Рівень ФК, визначений в перші 7 днів життя, у немовлят, які отримували ЛФ, був нижчий, ніж у решти дітей, однак ця відмінність не була статистично значущою (274,2 (195,5-639,1) мкг/г у підгрупі ЛФ проти 413,5 (274,2-800,0) мкг/г у дітей на стандартному лікуванні; $p=0,55$).

У ПМВ 36 тиж вміст ФК у випорожненнях немовлят, які отримували ЛФ, зростав, а у дітей із підгрупи порівняння знижувався, однак відмінність між підгрупами не була достовірною (631,1 (232,2-800,0) мкг/г проти 274,7 (144,8-599,6) мкг/г відповідно; $p>0,05$). Динаміка показників ФК у немовлят в обидвох підгрупах також не була статистично вірогідною. Не було встановлено відмінностей за підсумками аналогічних порівнянь показників ФК у немовлят, які отримували ЛФ, і дітей на стандартному лікуванні у підгрупах дітей, сформованих залежно від наявності у них захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК.

Підсумовуючи результати цього етапу дослідження, можна дійти висновку, що показники ФК на першому тижні життя не асоціюються з пізнішим виникненням НЕК або ПНС. Рівні ФК у ПМВ 36 тиж у немовлят, які захворіли на ПНС, істотно не відрізнялись від рівнів ФК немовлят, які не мали цього захворювання. Немовлята, які захворіли на РНС, мали статистично достовірно вищі концентрації ФК на першому тижні життя порівняно з дітьми, які не хворіли на сепсис і НЕК. Показник ФК $< 373,9$ мкг/г дозволяє заперечити наявність РНС із середньою імовірністю 86 %. Ентеральне застосування ЛФ у дозі 100 мг/добу асоціювалось з підвищенням рівнів ФК, однак цей ефект не був статистично значущим.

Результати досліджень, представлені у розділі 5, наведено у публікації [175]:

- 1) Dobryk D.S., Dobryanskyu D.O. (2022). Fecal calprotectin, lactoferrin and

morbidity associated with immature digestive tract in preterm infants. *Modern Pediatrics. Ukraine*, 7(127), 38–45. <https://doi.org/10.15574/SP.2022.127.38>
(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).

РОЗДІЛ 6

КЛІНІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ЕНТЕРАЛЬНОГО ЗАСТОСУВАННЯ ПРОБІОТИКА *LACTOBACILLUS REUTERI DSM 17938*

6.1 Клінічна ефективність ентерального застосування пробіотика *L. reuteri DSM 17938*

6.1.1 Клінічна характеристика пацієнтів. У підсумковому аналізі на цьому етапі роботи використані дані 87 передчасно народжених немовлят, залучених у рандомізоване дослідження, яке порівнювало клінічну ефективність ентерального застосування пробіотика *L. reuteri DSM 17938* у профілактиці захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК (розділ 2; рисунок 2.1). У разі відповідності критеріям включення дитину випадково розподіляли у групу пробіотика або порівняння 2. Тринадцять дітей були вилучені із остаточного аналізу внаслідок об'єктивних причин (рисунок 2.1). У підсумку, дані 46 немовлят, які отримували пробіотик, порівнювали з даними 41 дитини, яких лікували без застосування будь-яких пробіотичних препаратів.

Сформовані групи істотно не відрізнялися за основними клінічними показниками (таблиця 6.1). Немовлята у групі пробіотика були незначно більш зрілими, рідше народжувалися замалими для ТГ і відповідно мали недостовірно більшу масу тіла при народженні. Їхні матері незначно рідше отримували стероїди антенатально. За підсумками оцінювання за шкалою Апгар, їхній стан на 5 хв життя був гіршим, вони частіше потребували лікування сурфактантом, і їм пізніше призначали МЕХ. Водночас, жодна із зазначених відмінностей не була статистично достовірною, що вказує на дотримання вимог рандомізації (таблиця 6.1).

6.1.2 Клінічна ефективність пробіотичної терапії. Частота НЕК і ПНС, а також загальна смертність не залежали від призначення пробіотика. Аналіз у

підгрупах немовлят з різним ТГ (< 28 тиж або \geq 28 тиж) також не виявив відмінностей за цими показниками (таблиця 6.2). Чотири дитини були переведені до іншої лікарні для хірургічного лікування (1 – із групи пробіотика, 3 – із групи порівняння 2).

Таблиця 6.1 – Порівняння демографічних та вихідних клінічних показників сформованих груп

Показник	Група пробіотика (n=46)	Група порівняння 2 (n=41)	<i>p</i>
1	2	3	4
Гестаційний вік, тиж	29,0 (27,0-30,0)	28,0 (27,0-29,0)	>0,05
Термін гестації <28 тиж ²	14 (30,5)	15 (36,5)	>0,05
МТ при народженні, г ¹	1170,0 (950,0-1300,0)	1000,0 (820,0-1250,0)	>0,05
Замалі для ТГ ²	6 (13,0)	9 (22,5)	>0,05
Хлопчики ²	25 (54,4)	22 (53,7)	>0,05
Багатоплодова вагітність ²	13 (28,3)	12 (29,3)	>0,05
Антибактеріальна терапія під час вагітності ²	9 (20,0)	8 (20,0)	>0,05
Передчасний розрив оболонки плода ²	13 (28,2)	13 (31,7)	>0,05
Антенатальні кортикостероїди ²	7 (26,9)	11 (42,3)	>0,05
Кесарів розтин ²	26 (57,8)	22 (53,6)	>0,05
Оцінка за Апгар <7 балів на 5 хв ²	42 (93,3)	33 (82,2)	>0,05
Первинна реанімація ²	30 (66,7)	28 (70,0)	>0,05
Уведення сурфактанту ²	39 (84,8)	30 (73,2)	>0,05

1	2	3	4
Вік на момент початку МЕХ, год ¹	12,0 (6,0-24,0)	9,0 (6,0-13,0)	>0,05
Виключно штучне вигодовування ²	23 (50,0)	19 (46,3)	>0,05

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – нижній і верхній квартилі

Примітка 2. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Немовлята у групі пробіотика, особливо з ТГ ≥ 28 тиж, скоріше досягали повного об'єму ЕХ, а також мали більшу масу тіла у ПМВ 36 тиж, однак відмінності від групи порівняння не були статистично достовірними. Водночас діти, яких лікували пробіотиком, достовірно скоріше виписували додому. У дітей з ТГ < 28 тиж, які отримували пробіотик, утрічі рідше відмічались епізоди зниженої толерантності до ЕХ на відміну від немовлят із групи порівняння, хоча відмінності не були статистично значущими (таблиця 6.3).

Таблиця 6.2 – Основні критерії ефективності пробіотичної терапії

Показник	Група пробіотика (n=46)	Група порівняння 2 (n=41)	КСШ (95% ДІ)	<i>p</i>
1	2	3	4	5
НЕК II+ стадії	4 (8,7)	3 (7,3)	1,19 (0,28-5,00)	>0,05
ТГ < 28 тиж	2 (14,2) (n=14)	1 (6,6) (n=15)	2,14 (0,22-21,11)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	2 (6,3) (n=32)	2 (7,7) (n=26)	0,81 (0,12-5,39)	>0,05
ПНС	15 (32,6)	15 (36,6)	0,89 (0,50-1,59)	>0,05
ТГ < 28 тиж	7 (50,0) (n=14)	7 (46,6) (n=15)	1,07 (0,50-2,27)	>0,05

1	2	3	4	5
ТГ \geq 28 тиж	8 (25,0) (n=32)	8 (30,7) (n=26)	0,77 (0,33-1,77)	>0,05
Смертність	1 (2,2)	2 (4,9)	0,45 (0,04-4,74)	>0,05
ТГ < 28 тиж	1 (7,1) (n=14)	2 (13,3) (n=15)	0,54 (0,05-5,28)	>0,05
ТГ \geq 28 тиж	0 (0) (n=32)	0 (0) (n=26)	-	-

Примітка. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Таблиця 6.3 – Додаткові критерії ефективності пробіотичної терапії

Показник	Група пробіотика (n=46)	Група порівняння 2 (n=41)	<i>p</i>
	1	2	
Період до досягнення повного об'єму ЕХ, доби	23,0 (16,0-37,0)	30,0 (18,0-37,0)	>0,05
ТГ < 28 тиж	37,0 (24,0-48,0) (n=32)	40,0 (29,5-55,0) (n=25)	>0,05
ТГ \geq 28 тиж	20,5 (15,0-28,0) (n=12)	25,0 (18,0-36,0) (n=11)	>0,05
Кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ	1,0 (1,0-2,0)	2,0 (1,0-3,0)	>0,05
ТГ < 28 тиж	1,0 (1,0-3,0) (n=32)	3,0 (3,0-4,0) (n=25)	>0,05
ТГ \geq 28 тиж	1,0 (0-2,0) (n=12)	1,0 (1,0-3,0) (n=11)	>0,05

1	2	3	4
МТ у ПМВ 36 тиж, г	2215,0 (1990,0-2430,0)	2090,0 (1800,0-2280,0)	>0,05
ТГ < 28 тиж	2190,0 (2005,0-2400,0) (n=12)	2160,0 (2035,0-2335,0) (n=11)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	2232,5 (1980,0-2440,0) (n=32)	2025,0 (1730,0-2245,0) (n=25)	>0,05
Тривалість антибіотикотерапії, доби	36,0 (26,0-43,0)	40,0 (27,0-57,0)	>0,05
ТГ < 28 тиж	43,0 (31,0-57,0) (n=12)	60,0 (32,0-70,0) (n=11)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	33,0 (25,0-39,0) (n=32)	37,0 (27,0-45,0) (n=25)	>0,05
Тривалість лікування у ВІТН, доби	16,0 (9,0-42,0)	15,0 (10,0-32,0)	>0,05
ТГ < 28 тиж	46,0 (29,0-64,0) (n=12)	31,0 (20,0-40,0) (n=11)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	12,0 (6,0-20,0) (n=32)	10,0 (7,0-16,0) (n=25)	>0,05
Загальна тривалість госпіталізації, доби ¹	67,0 (50,0-96,0)	79,0 (62,0-100,0)	>0,05
ТГ < 28 тиж	96,0 (73,0-104,0) (n=12)	101,0 (94,0-110,0) (n=11)	>0,05
ТГ ≥ 28 тиж	56,0 (46,0-71,0) (n=32)	65,0 (60,0-87,9) (n=25)	<0,05

Примітка. Зазначено медіану, у дужках – нижній і верхній кватилі

6.2 Вплив лікування пробіотиком на мікробіоту ТК

У зразках випорожнень, отриманих на першому тижні життя, не встановлено статистично достовірних відмінностей між групами за частотою виявлення і кількістю виділених бактерій (таблиці 6.4 і 6.5). Основними грамнегативними бактеріями були представники родини *Enterobacteriaceae*, зокрема *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* і *Klebsiella mobilis*, а також бактерії *Enterobacter spp.* Медіана кількості виявлених окремих видів грамнегативних бактерій в одному зразку випорожнень становила 3,0 (2,0-4,0) в обидвох групах ($p>0,05$). Основними представникам виявлених грампозитивних бактерій були ентерококи та стафілококи. Медіана кількості виявлених окремих видів грампозитивних бактерій в одному зразку випорожнень була меншою, ніж грамнегативних, і становила 1,0 (1,0-2,0) в обидвох групах. У матеріалі, отриманому в перший тиждень життя, не виявлено біфідобактерій, а лактобактерії ідентифіковано лише в одному зразку випорожнень.

У ПМВ 36 тиж відмічалось достовірне збільшення частоти виявлення майже всіх грамнегативних бактерій в обидвох групах (таблиця 6.4). Медіана кількості виявлених окремих видів грамнегативних бактерій в одному зразку становила 4,0 (3,0-5,0) у групі пробіотика та 4,0 (3,0-5,0) у групі порівняння 2 ($p>0,05$). Зросла загальна кількість мікроорганізмів цього типу, зокрема кишкової палички й ентеробактерій. Водночас кількість *Klebsiella pneumoniae* та *Klebsiella mobilis* не змінилася (таблиця 6.5). У ПМВ 36 тиж грампозитивні бактерії частіше виявлялися в немовлят із групи порівняння, тоді як у групі пробіотика цей показник суттєво не змінився. Медіана кількості виявлених окремих видів грампозитивних бактерій в одному зразку не змінилася порівняно з першим тижнем життя і становила 1,0 (1,0-2,0) в обидвох групах. Ентерококи та стафілококи залишались основними представниками грампозитивних мікроорганізмів у ПМВ 36 тиж. Незважаючи на те, що частота виявлення бактерій цього типу в дітей із групи пробіотика була меншою, їхня

Таблиця 6.4 – Порівняльна частота виявлення мікроорганізмів у випорожненнях немовлят у динаміці спостереження

Мікроорганізми	Перший тиждень життя			ПМВ 36 тижнів		
	Група пробіотика (n=34)	Група порівняння 2 (n=29)	<i>p</i>	Група пробіотика (n=33)	Група порівняння 2 (n=25)	<i>p</i>
Грамнегативні бактерії ¹	17 (50,0)	19 (73,1)	>0,05	31 (96,7)*	24 (96,0)*	>0,05
<i>Enterobacter spp.</i> ¹	17 (50,0)	18 (62,1)	>0,05	30 (90,9)*	24 (96,0)*	>0,05
<i>Escherichia coli</i> ¹	11 (32,4)	8 (27,6)	>0,05	22 (66,7)*	22 (88,0)*	>0,05
<i>Enterobacter cloacae</i> ¹	10 (29,4)	12 (41,4)	>0,05	30 (90,9)*	24 (96,0)*	>0,05
<i>Klebsiella pneumoniae</i> ¹	5 (14,7)	6 (20,7)	>0,05	23 (69,7)*	20 (80,0)*	>0,05
<i>Klebsiella mobilis</i> ¹	5 (14,7)	6 (20,7)	>0,05	15 (45,5)*	12 (52,0)*	>0,05
Грампозитивні бактерії ¹	22 (71,0)	15 (57,7)	>0,05	20 (60,6)	22 (88,0)*	<0,05
<i>Enterococcus spp.</i> ¹	18 (52,9)	16 (55,2)	>0,05	20 (60,6)	21 (84,0)*	<0,05
<i>Staphylococcus spp.</i> ¹	14 (41,2)	6 (20,7)	>0,05	7 (21,2)	5 (20,0)	>0,05
<i>Bifidobacterium spp.</i> ¹	0 (0)	0 (0)	-	2 (6,1)*	5 (20,0)*	>0,05
<i>Lactobacillus spp.</i> ¹	0 (0)	1 (3,5)	-	9 (27,3)*	12 (48,0)*	>0,05

Примітка 1. Зазначено кількість випадків, у дужках - відсотки

Примітка 2. Зазначено (*) статистично значущу динаміку порівняно з показником на першому тижні життя ($p < 0,05$)

Таблиця 6.5 – Порівняльна кількісна характеристика мікроорганізмів у випорожненнях немовлят у динаміці

Мікроорганізми	Перший тиждень життя			ПМВ 36 тижнів		
	Група пробіотика (n=34)	Група порівняння 2 (n=29)	<i>p</i>	Група пробіотика (n=33)	Група порівняння 2 (n=25)	<i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7
Грамнегативні бактерії	12 (0,74-24,0)	7,6 (4,4-30,02)	>0,05	16,6 (8,24-25,88)	22,0 (13,9-35,5)	>0,05
<i>Enterobacter spp.</i>	1,6 (0,2-12,0)	5,0 (2,04-15,0)	>0,05	2,62 (0,86-6,64)*	3,2 (1,30-4,50)	>0,05
<i>Escherichia coli</i>	1,3 (0,1-6,1)	2,1 (1,42-6,15)	>0,05	8,4 (3,3-12,0)	11,0 (7,25-13,2)	>0,05
<i>Enterobacter cloacae</i>	2,1 (0,7-5,9)	6,6 (1,15-9,25)	>0,05	3,09 (1,0-4,4)	4,8 (2,75-6,76)	<0,05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,3 (0,02-2,0)	1,6 (0,42-4,10)	>0,05	0,60 (0,11-1,06)	1,33 (0,29-3,30)	>0,05
<i>Klebsiella mobilis</i>	4,6 (4,2-9,0)	3,6 (2,20-4,50)	>0,05	3,35 (1,58-6,20)	2,40 (2,10-4,40)	>0,05
Грампозитивні бактерії	1,24 (0,16-11,0)	10,0 (0,34-77,42)	>0,05	5,65 (0,45-27,5)	1,8 (1,0-8,4)	>0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	6,2 (0,4-33,0)	15,0 (0,45-88,5)	>0,05	5,65 (0,45-23,5)	1,48 (1,00-8,40)	>0,05
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,1 (0,03-0,2)	0,1 (0,01-0,42)	>0,05	0,01 (0,002-0,1)	0,24 (0,02-0,52)	>0,05

Примітка 1. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній кuartилі; $\times 10^8/\text{г}$

Примітка 2. Зазначено (*) статистично значущу динаміку порівняно з показником на першому тижні життя ($p < 0,05$)

кількість перевищувала відповідні показники у групі порівняння за рахунок більшого вмісту ентерококів. Натомість кількість стафілококів була більшою у групі порівняння, хоча відмінність не була значущою (таблиця 6.5).

У перший тиждень життя лактобактерії були виявлені у випорожненнях лише однієї дитини. Проте на момент досягнення ПМВ 36 тиж кількість немовлят, колонізованих лактобактеріями, була достовірно більшою (таблиця 6.4). Ми не спостерігали достовірних відмінностей між групами, незважаючи на те, що відповідний показник у дітей, які отримували пробіотик, був майже удвічі нижчим (27,3% проти 48,0%; $p > 0,05$). Із 21 немовляти, у випорожненнях яких у ПМВ 36 тиж були виявлені лактобактерії, 13 (61,9 %) вигодовувалися виключно сумішами.

Середня тривалість антибіотикотерапії у підгрупі дітей, в яких у ПМВ 36 тиж не виявлялись лактобактерії, не відрізнялася від показника немовлят, колонізованих цими бактеріями ($n=21$) (відповідно 45,0 (25,0-60,0) діб проти 41,0 (31,0-52,0) доби; $p > 0,05$). Відповідно 18 (48,6 %) і 8 (38,1 %) з них отримували антибіотик(и) на момент бактеріологічного обстеження у ПМВ 36 тиж ($p > 0,05$). Немовлята у цих підгрупах не відрізнялися за частотою призначення окремих антибіотиків і тривалістю їх застосування (таблиця 6.5).

У ПМВ 36 тиж біфідобактерії загалом висіяно лише у 7 (12,1 %) дітей: у 2 (6,1 %) немовлят із групи пробіотика й у 5 (20,0 %) дітей у групі порівняння ($p > 0,05$). У дітей, колонізованих біфідобактеріями ($n=7$) у ПМВ 36 тиж, рідше виявлялася знижена толерантність до ЕХ ($rS = -0,26$; $p < 0,05$). Із 7 немовлят, у випорожненнях яких у ПМВ 36 тиж виявлялись біфідобактерії, 2 (28,6 %) дитини вигодовувалися виключно сумішами.

Середня тривалість застосування антибіотиків у підгрупі дітей, у випорожненнях яких у ПМВ 36 тиж виявлено біфідобактерії ($n=7$), була меншою, ніж у немовлят, не колонізованих цими бактеріями ($n=51$) (27,0 (22,0-44,0) діб проти 43,0 (31,0-60,0) діб; $p < 0,05$). Відповідно 1 (14,2 %) дитина проти 25 (49,0 %) дітей продовжували отримувати антибіотик на момент бактеріологічного обстеження у ПМВ 36 тиж ($p < 0,05$). Немовлята,

Таблиця 6.6 – Антибактеріальна терапія у немовлят, в яких досліджували кишкову мікробіоту

Антибіотик	Кількість дітей, які отримували антибіотик			Тривалість призначення антибіотика, дні		
	Група пробіотика (n=40)	Група порівняння 2 (n=31)	<i>p</i>	Група пробіотика (n=40)	Група порівняння 2 (n=31)	<i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7
<i>Пеніциліни</i>						
Ампіциліну-сульбактам	34 (85,0)	30 (96,8)	>0,05	3,0 (2,0-4,0) ²	3,5 (2,0-6,0)	>0,05
Амікацин	19 (47,5)	21 (52,5)	>0,05	7,0 (6,0-10,0)	8,0 (7,0-9,0)	>0,05
Ампіцилін	8 (20,0)	2 (5,0)	>0,05	7,5 (5,5-9,0)	5,0 (3,0-7,0)	>0,05
Піперациліну-тазобактам	38 (95,2)	29 (93,5)	>0,05	13,0 (10,0-14,0)	13,0 (10,0-16,0)	>0,05
<i>Аміноглікозиди</i>						
Тобраміцин	37 (92,5)	31 (100,0)	>0,05	6,0 (5,0-7,0)	7,0 (5,0-7,0)	>0,05
<i>Цефалоспорины II</i>						
Цефоруksим	9 (33,3)	17 (54,8)	<0,05	11,0 (10,0-12,0)	10,0 (7,0-12,0)	>0,05
<i>Цефалоспорины III</i>						
Цефосульбін	8 (20,0)	6 (19,4)	>0,05	15,5 (11,0-19,0)	13,0 (11,0-14,0)	>0,05
Цефтазидим	15 (37,5)	13 (41,9)	>0,05	10,0 (7,0-14,0)	12,0 (9,0-15,0)	>0,05

Кінець таблиці 6.6

1	2	3	4	5	6	7
Цефоперазон	4 (10,0)	4 (12,9)	>0,05	9,0 (8,5-12,0)	16,0 (12,0-21,5)	>0,05
<i>Цефалоспорины IV</i>						
Цефепім	16 (40,0)	11 (35,5)	>0,05	10,5 (9,0-13,0)	14,0 (12,0-19,0)	>0,05
<i>Карбапенеми</i>						
Меропенем	21 (52,5)	17 (54,8)	>0,05	11,0 (10,0-18,0)	14,0 (11,0-22,0)	>0,05
<i>Антипротозойні</i>						
Метронідазол	4 (10,0)	2 (6,5)	>0,05	6,0 (4,5-8,0)	6,0 (5,0-7,0)	>0,05

Примітка 1. Зазначено абсолютну кількість зразків, в яких було виявлено відповідні бактерії; у дужках – відсоток від загальної кількості зразків

Примітка 2. Зазначено медіану; у дужках – нижній та верхній квартилі

колонізовані біфідобактеріями, рідше отримували цефалоспорини II та III генерації ($p < 0,05$), не отримували цефалоспорини IV генерації та рідше отримували карбапенеми ($p > 0,05$).

Таким чином, незважаючи на ентеральне застосування *L.reuteri DSM 17938* від моменту сталого толерування МЕХ, у ПМВ 36 тиж грамнегативні бактерії виявлялись у більше 90 % усіх обстежених дітей без достовірної відмінності між групами. Загальна кількість грамнегативних бактерій була меншою у випорожненнях немовлят із групи пробіотика, проте відмінності, за винятком вмісту кишкової палички, були недостовірними.

Ентеральне застосування *L.reuteri DSM 17938* також не впливало на частоту виявлення лакто- і біфідобактерій за допомогою класичних бактеріологічних методів, що могло бути пов'язаним із тривалістю антибактеріальної терапії.

6.3 Кишкова мікробіота та захворювання, пов'язані з порушеннями адаптації незрілого ТК

Усі немовлята, випорожнення яких досліджували бактеріологічно, були ретроспективно розподілені у 2 підгрупи: підгрупу захворювань, яка складалась з дітей, в яких виник НЕК та (або) ПНС (перший тиждень життя – $n=21$; ПМВ 36 тиж – $n=22$), та підгрупу порівняння, в яку були включені діти без цих захворювань (перший тиждень життя – $n=42$; ПМВ 36 тиж – $n=36$).

На першому тижні життя немовлята із підгрупи захворювань характеризувались достовірно меншою частотою виявлення кишкової палички та меншою частотою виявлення ентеробактерій, зокрема *Enterobacter cloacae* та *Klebsiella pneumoniae*, а також ентерококів, однак останні відмінності не були достовірними. Водночас, менша загальна кількість мікроорганізмів в одному зразку випорожнень асоціювалась з виникненням ПНС ($rS = -0,25$; $p < 0,05$). Натомість, у дітей, в яких розвинувся ПНС або НЕК, недостовірно частіше висівалися *Klebsiella mobilis* та стафілококи (таблиця

6.7). Кількість усіх виявлених бактерій також була меншою у дітей із групи захворювань, зокрема нижча кількість *Klebsiella pneumoniae* була статистично значущою (таблиця 6.8).

У ПМВ 36 тиж кишкова паличка знову таки рідше виявлялись у випорожненнях дітей із підгрупи захворювань, однак ця відмінність не була достовірною. Частота виявлення інших бактерій у цьому віці суттєво не відрізнялась між підгрупами (таблиця 6.7). Натомість, кількість кишкової палички була достовірно меншою у дітей із підгрупи захворювань, тоді як кількість інших грамнегативних бактерій не відрізнялась між підгрупами. Кількість грампозитивних бактерій, зокрема стафілококів та ентерококів, була більшою у випорожненнях дітей із підгрупи захворювань, однак ця відмінність не була достовірною (таблиця 6.8).

Підсумовуючи, можна дійти висновку, що менше різноманіття та менша кількість бактерій у кишковій мікробіоті може асоціюватись з виникненням захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації ТК у передчасно народжених дітей. Низька частота виявлення *E. coli* (1 (4,8%) проти 18 (42,9%); $p < 0,01$), а також менша кількість *Klebsiella pneumoniae* ($0,02 (0,01-0,02) \times 10^8/\text{г}$ проти $2,0 (0,4-3,9) \times 10^8/\text{г}$; $p = 0,03$), виявлених в перший тиждень життя асоціювались з наступним розвитком НЕК та ПНС.

Таким чином, ентéraleльне призначення пробіотика *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу передчасно народженим немовлятам із ТГ ≤ 32 тиж від моменту сталого мінімального ЕХ до досягнення ПМВ 36 тиж або виписки зі стаціонару поліпшувало толерантність до ЕХ, скорочувало період до досягнення повного об'єму ЕХ і загальну тривалість госпіталізації. Застосування *L. reuteri DSM 17938* у рекомендованому виробником дозуванні є безпечним для передчасно народжених немовлят. Вплив цього пробіотика на частоту виникнення ПНС та НЕК, а також постнатальне формування кишкової мікробіоти потребують подальшого вивчення.

Таблиця 6.7 – Порівняльна частота виявлення мікроорганізмів у випорожненнях немовлят залежно від наявності захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК

Мікроорганізми	Перший тиждень життя			ПМВ 36 тижнів		
	Підгрупа захворювань (n=21)	Підгрупа порівняння (n=42)	<i>p</i>	Підгрупа захворювань (n=22)	Підгрупа порівняння (n=36)	<i>p</i>
Грамнегативні бактерії	11 (52,4)	25 (59,5)	>0,05	21 (95,5)	34 (94,4)	>0,05
<i>Enterobacter spp.</i>	11 (52,3)	24 (57,1)	>0,05	20 (90,1)	33 (91,7)	>0,05
<i>Escherichia coli</i>	1 (4,8)	18 (42,9)	<0,01	13 (59,1)	29 (80,6)	>0,05
<i>Enterobacter cloacae</i>	6 (28,6)	16 (38,1)	>0,05	14 (63,6)	27 (75,0)	>0,05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2 (9,5)	9 (21,4)	>0,05	9 (40,9)	18 (50,0)	>0,05
<i>Klebsiella mobilis</i> ¹	4 (19,0)	7 (16,7)	>0,05	10 (45,5)	14 (38,9)	>0,05
Грампозитивні бактерії	14 (66,7)	28 (66,7)	>0,05	18 (81,8)	24 (66,7)	>0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	8 (38,1)	26 (61,9)	>0,05	17 (77,2)	23 (63,9)	>0,05
<i>Staphylococcus spp.</i>	9 (42,9)	12 (28,6)	>0,05	6 (27,3)	8 (22,2)	>0,05

Примітка. Зазначено кількість випадків, у дужках – відсотки

Таблиця 6.8 – Порівняльна кількісна характеристика мікроорганізмів у випорожненнях немовлят залежно від наявності захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК

Мікроорганізми	Перший тиждень життя			ПМВ 36 тижнів		
	Підгрупа захворювань (n=21)	Підгрупа порівняння (n=42)	<i>p</i>	Підгрупа захворювань (n=22)	Підгрупа порівняння (n=36)	<i>p</i>
1	2	3	4	5	6	7
Грамнегативні бактерії	5,4 (0,4-13,0)	12,5 (4,1-28,0)	>0,05	15,6 (8,2-26,0)	21,3 (12,7-25,4)	>0,05
<i>Enterobacter spp.</i>	2,2 (0,2-11,0)	6,2 (0,9-14,5)	>0,05	7,2 (1,5-13,0)	10,0 (7,2-12,7)	>0,05
<i>Escherichia coli</i>	2,2	1,9 (0,4-6,1)	-5,6	1,8 (0,7-3,2)	4,1 (1,5-6,5)	<0,05
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,8 (0,2-13,0)	(1,6-7,7)	>0,05	4,6 (2,8-7,4)	3,7 (1,6-4,9)	>0,05
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,02 (0,01-0,02)	2,0 (0,4-3,9)	<0,05	0,9 (0,2-1,7)	1,0 (0,2-3,3)	>0,05
<i>Klebsiella mobilis</i>	3,0 (2,2-6,4)	4,5 (3,4-9,9)	>0,05	3,3 (1,2-7,0)	3,4 (2,1-5,0)	>0,05
Грампозитивні бактерії	0,3 (0,1-2,2)	10,0 (0,5-33,0)	>0,05	4,9 (1,0-23,0)	21,3 (12,7-25,4)	>0,05
<i>Enterococcus spp.</i>	1,3 (0,2-69,0)	10,0 (0,8-33,0)	>0,05	8,4 (1,0-23,0)	1,2 (0,3-24,0)	>0,05
<i>Staphylococcus spp.</i>	0,2 (0,04-0,24)	0,08 (0,02-0,33)	>0,05	0,2 (0,02-1,0)	0,004 (0,002-0,27)	>0,05

Примітка. Зазначено медіану, у дужках – нижній та верхній квартилі; $\times 10^8/\text{г}$

Результати досліджень, представлені у розділі 6, наведено у публікації [176]:

1) Добрик Д.С., Добрянський Д.О. (2023). Пробіотики, кишкова мікробіота та захворювання, пов'язані з незрілістю травного каналу, у значно недоношених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна, 3(131), 22-30. <https://doi.org/10.15574/SP.2023.131.22> *(Особистий внесок: здійснював пошук і вивчав літературні джерела, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

АНАЛІЗ І УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ

7.1 Основні результати дослідження та їх обговорення

Передчасне народження асоціюється з іншими тяжкими захворюваннями, які подовжують тривалість госпіталізації, збільшують видатки, підвищують імовірність довгострокових негативних наслідків і смертність. Зокрема, до таких захворювань відносяться НЕК, ранній та пізній неонатальний сепсис, а також затримка постнатального фізичного розвитку, пов'язана з недостатнім харчуванням в неонатальний період. Частота НЕК в різних країнах світу коливається, у середньому, від 2 до 10 % [1], з них 90 % випадків НЕК трапляються саме у немовлят з терміном гестації менше 32 тиж [2], а летальність може досягати 25-40 % [3]. Пізній неонатальний сепсис (ПНС) уражає від 20 % до 36 % таких немовлят [4,5] з летальністю близько 20 % [6]. Окрім високої летальності, виникнення НЕК та ПНС у передчасно народжених дітей асоціюється з підвищеним ризиком розвитку БЛД, РН, ВШК та інших тяжких уражень ЦНС, а також порушеннями нейрокогнітивного розвитку [7]. Ключовим механізмом запобігання виникненню цих захворювань є успішна постнатальна адаптація незрілого ТК передчасно народжених дітей. Остання, у свою чергу, залежить від двох ключових процесів: формування мікробіоти ТК та формування локального імунітету [8,9].

Однак, постнатальна адаптація ТК передчасно народжених дітей відбувається у суттєво відмінних умовах порівняно із здоровими доношеними новонародженими. Раннє відлучення від матері та госпіталізація у відділення інтенсивної терапії, емпіричне і тривале призначення антибіотиків [11], відстрочений початок ЕХ з використанням сумішей або донорського ГМ, які не містять або містять недостатню кількість імунологічних компонентів [12,13], у поєднанні з анатомічно-функціональною незрілістю ТК, істотно підвищують імовірність порушень процесів постнатальної адаптації ТК у передчасно

народжених дітей [14]. Такі порушення можуть призводити до виникнення запалення, ішемії та втрати цілості кишок з наступним виникненням НЕК та сепсису. Відповідно патогенетично обґрунтованим дієвим профілактичним утручанням у групі найбільш незрілих передчасно народжених немовлят може бути додаткове імунне харчування, зокрема ентеральне призначення ЛФ та пробіотиків [15,16].

Ранні клінічні дослідження ентерального застосування коров'ячого ЛФ засвідчили зниження частоти виникнення НЕК та ПНС у немовлят, які його отримували [178]. Більш потужні мультицентрові рандомізовані клінічні дослідження частково спростували результати попередніх досліджень, не виявивши зниження показників НЕК та загальної смертності, однак виявили зниження частоти ПНС [151,152]. У підсумках Кокрейнівського огляду (2020 р.) зазначено, що, згідно з наявними даними низької якості ентеральне застосування ЛФ може зменшувати ймовірність виникнення інфекцій та уражень ТК, однак додаткового вивчення потребують дозування, тривалість застосування та тип ЛФ (людський або коров'ячий) для розробки конкретних рекомендацій щодо застосування ЛФ у передчасно народжених дітей [17].

Враховуючи, що одну з ключових ролей в патогенезі НЕК та сепсису відіграє стан мікробіоти ТК передчасно народжених немовлят, пробіотики завжди розглядались як потенційний засіб профілактики цих захворювань [18]. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 є одним із широко вживаних пробіотичних штамів, однак його ефективність і безпека є недостатньо вивченими у передчасно народжених немовлят [19]. Результати клінічних досліджень вказують на потенційне зниження частоти сепсису та тривалості госпіталізації, а також покращення толерантності до ЕХ у недоношених дітей, яким призначали цей пробіотик [20]. Однак, додаткового вивчення потребують його клінічна ефективність у профілактиці НЕК та неонатального сепсису, а також безпека рутинного використання у найменших передчасно народжених немовлят [21].

Окрім профілактики та лікування захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, актуальними є прогнозування їх виникнення та пошук

додаткових методів ранньої діагностики [22]. Оскільки запальна відповідь є ключовою патогенетичною ланкою розвитку НЕК та сепсису, рівень фекального кальпротектину (ФК) може бути потенційним маркером цих захворювань [23]. Наявних даних недостатньо для встановлення чітких референтних значень ФК у популяції передчасно народжених немовлят; потребує також додаткового вивчення діагностична цінність ФК як раннього маркера НЕК і сепсису у таких дітей.

Таким чином, надзвичайно актуальним залишається пошук методів і профілактики, і прогнозування захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК у передчасно народжених немовлят.

Усе, вище зазначене, визначило мету нашої роботи – удосконалити медичну допомогу передчасно народженим дітям з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК шляхом виявлення немовлят з відповідним ризиком і впровадження профілактичних заходів, опрацьованих на підставі отриманих клінічних і лабораторних даних.

Для досягнення цієї мети потрібно було виконати наступні завдання:

1. Вивчити чинники ризику, частоту і структуру захворювань, пов'язаних із порушенням адаптації незрілого ТК у передчасно народжених дітей.

2. Визначити прогностичну значущість ФК як маркера запального статусу незрілого ТК у прогнозуванні захворювань, пов'язаних з порушенням його адаптації, а також оцінити вплив застосування ЛФ на рівні ФК.

3. Оцінити клінічну ефективність ентерального застосування ЛФ з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК.

4. Оцінити клінічну ефективність застосування пробіотика *L. reuteri DSM 17938* у профілактиці захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, його вплив на формування кишкової мікробіоти та вивчити зв'язок останньої з виникненням захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК.

5. Розробити стратегію виявлення немовлят з ризиком виникнення

захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК, та відповідні профілактичні заходи.

Дисертаційна робота виконувалась на базі відділення інтенсивної терапії недоношених новонароджених дітей з виїзною неонатальною транспортною бригадою і відділення патології недоношених новонароджених дітей КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня», які на сьогодні функціонують як одне відділення інтенсивного та постінтенсивного лікування новонароджених. У дослідження загалом були залучені 164 передчасно народжених немовлят з МТ ≤ 1500 г і ТГ ≤ 32 тиж. Усі ці діти перебували під спостереженням до досягнення ПМВ 36 тиж, виписки додому або смерті.

Для досягнення мети і виконання завдань дослідження робота виконувалась на 3 етапах й у 4 напрямках.

Перший напрямок першого етапу дослідження передбачав вивчення клінічної ефективності застосування коров'ячого ЛФ з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК у передчасно народжених немовлят, та іншої тяжкої неонатальної захворюваності. Другий напрямок першого етапу дослідження передбачав вивчення прогностичної значущості ФК як раннього лабораторного маркера неонатального сепсису та некротизуючого ентероколіту (НЕК) II+ стадії, а також вплив ентерального застосування ЛФ на рівні ФК у ПМВ 36 тижнів.

Завдання першого етапу роботи виконувались у проспективному, частково рандомізованому дослідженні. У нього були залучені 64 передчасно народжені дитини, які народились в акушерських стаціонарах міста Львова й області, були переведені і лікувались у КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» в період від червня 2019 р. до лютого 2020 р.

Критеріями включення у дослідження були: МТ при народженні ≤ 1500 г, ТГ ≤ 32 тиж, вік на момент госпіталізації у відділення ≤ 72 год. Додатковим критерієм включення було розпочате МЕХ. Наявність значних природжених вад розвитку, потреба повного парентерального харчування, наявність ускладнень і станів на момент залучення у дослідження, які істотно зменшували шанси виживання (наприклад, ВШК 3-4 ступеня), а також відсутність інформованої

згоди батьків були критеріями незалучення пацієнта у дослідження.

У разі відповідності критеріям включення після отримання письмової інформованої згоди батьків дитину включали відповідно до листка рандомізації у групу ЛФ або у групу порівняння 1. Рандомізацію здійснювали за допомогою генерованого комп'ютером ряду випадкових чисел.

Двадцять дев'ятеро немовлят після включення у дослідження отримували ЛФ. Його призначали в перші 72 год життя одразу після залучення у дослідження у дозі 100 мг 1 раз на добу ентерально (із ГМ або сумішшю) до моменту досягнення ПМВ 36 тиж або виписки зі стаціонару (щонайменше протягом 4 тиж). Використовували суспензію коров'ячого ЛФ «Лактоферил» виробництва ТзОВ «ЕкоКідс» (Польща), 1 крапля якої містила 10 мг ЛФ. Дві дитини із групи ЛФ померли протягом перших 7 днів життя та були виключені з остаточного аналізу, в якому у групі лактоферину були використані дані 27 дітей (рисунок 2.1).

Тридцять п'ять немовлят були включені у групу порівняння 1 та отримували стандартне лікування. Серед них 2 дітей померли протягом першого тижня життя та були виключені з остаточного аналізу (рисунок 2.1). Процес залучення пацієнтів у рандомізовану фазу дослідження був завершений передчасно у зв'язку з пандемією SARS-CoV-2 та спричиненим нею дефіцитом сировини для виготовлення препарату ЛФ, який став недоступним. У зв'язку з цим, щоби забезпечити більшу потужність дослідження, було вирішено додатково залучити у групу порівняння 57 дітей, які брали участь у другому етапі роботи та за своїми характеристиками відповідали критеріям включення. Загалом у групі порівняння 1 в остаточному аналізі були використані дані 90 дітей.

Ефективність ентерального застосування ЛФ оцінювали до моменту виписки зі стаціонару або смерті. Основним критерієм ефективності ентерального застосування ЛФ у недоношених немовлят була частота ПНС, яку порівнювали у двох групах. Вторинними критеріями ефективності були порівняльні частота НЕК II+ стадії, РН, тяжкого ураження мозку (тяжкі ВШК 3-4 ступеня або ПВЛ), БЛД, загальна смертність, а також вік на момент досягнення

повного об'єму ЕХ (160 мл/кг/добу), тривалість антибактеріальної терапії, тривалість лікування у ВІТН і загальна тривалість госпіталізації.

Відповідно до завдань дослідження для оцінки прогностичної значущості ФК як раннього лабораторного маркера виникнення РНС, ПНС та НЕК II+ стадії та впливу ентерального застосування ЛФ на рівні ФК у ПМВ 36 тижнів у 26 дітей, залучених у цей етап дослідження (11 дітей із групи ЛФ та 15 дітей із групи порівняння 1), порівнювали концентрації ФК у випорожненнях на першому тижні життя. Повторне визначення ФК у ПМВ 36 тиж виконано у 22 дітей (у 8 немовлят у групі ЛФ та 14 дітей у групі порівняння 1).

Перший напрямок другого етапу дослідження передбачав вивчення клінічної ефективності застосування пробіотичного штаму *L. reuteri DSM 17938* з метою профілактики захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК у передчасно народжених немовлят. Завданнями другого напрямку цього етапу дослідження були 1) вивчення впливу застосування пробіотика *L. reuteri DSM 17938* на формування кишкової мікробіоти, а саме на частоту виявлення біфідо- та лактобактерій у випорожненнях у ПМВ 36 тиж, а також на частоту виявлення та загальну кількість грамнегативних та грампозитивних бактерій; 2) вивчення зв'язку між складом кишкової мікробіоти та виникненням захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК, зокрема ПНС та НЕК II+ стадії.

Завдання цього етапу роботи виконувались у відкритому рандомізованому дослідженні. У дослідження були залучені 100 передчасно народжених дітей, які народились в акушерських стаціонарах міста Львова й області, були переведені і лікувались у КНП ЛОР «Львівська обласна клінічна лікарня» в період від лютого 2020 р. до жовтня 2021 р. (рисунок 2.1).

Застосовували ті самі критерії включення та виключення пацієнтів, що і на першому етапі роботи. У разі відповідності критеріям включення після отримання письмової інформованої згоди батьків дитини дитину рандомізовано включали у групу пробіотика або у групу порівняння 2. Рандомізацію здійснювали за допомогою генерованого комп'ютером ряду випадкових чисел.

П'ятдесят немовлят після включення у дослідження отримували пробіотик *L. reuteri* DSM 17938 (n=50). Пробіотик призначали в перший тиждень життя з моменту сталого толерування МЕХ у дозі 10^8 КУО (5 крапель) 1 раз на добу ентерально (із ГМ або сумішшю) до моменту виписки зі стаціонару. Використовували пробіотик у формі крапель, який містив життєздатні бактерії *L. reuteri* в кількості щонайменше 10^8 КУО у 5 краплях «БіоГая ПроТектіс» вироблення БіоГая Продакшн АБ, Швеція, Вінделваген 3, SE-241 38 Еслев. Чотири дитини у групі пробіотика померли протягом перших 7 днів життя та були виключені з остаточного аналізу. В остаточному аналізі у групі пробіотика були використані дані 46 дітей.

П'ятдесят немовлят, які перебували на стандартному лікуванні та не отримували жодних пробіотиків, були також включені у групу порівняння 2. Серед них 4 дітей померли протягом першого тижня життя та були виключені з остаточного аналізу. Додатково 5 новонароджених були виключені із дослідження через недотримання його протоколу. Загалом у групі порівняння 2 в остаточному аналізі були використані дані 41 дитини.

Як згадувалось вище, 62 немовлят, які брали участь у другому етапі дослідження (34 дитини із групи пробіотика та 28 дітей із групи порівняння), були включені у групу порівняння 1 з метою забезпечення більшої потужності дослідження.

Ефективність ентерального застосування пробіотика *L. reuteri* DSM 17938 оцінювали до моменту виписки зі стаціонару або смерті. Частота виникнення НЕК II+ стадії, ПНС та показник загальної смертності були первинними критеріями ефективності ентерального застосування пробіотика *L. reuteri* DSM 17938 у недоношених немовлят. В якості вторинних критеріїв ефективності порівнювались вік дітей на момент досягнення повного об'єму ЕХ (160 мл/кг/добу), кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ, тривалість антибактеріальної терапії, маса тіла на момент досягнення ПМВ 36 тиж, а також тривалість лікування у ВІТН та загальної госпіталізації. Основні та вторинні критерії ефективності додатково порівнювались у підгрупах немовлят з ТГ < 28

тиж $i \geq 28$ тиж.

Відповідно до завдань дослідження у 63 немовлят на першому тижні життя було проведено бактеріологічне дослідження випорожнень (у 34 дітей у групі пробіотика і 29 немовлят із групи порівняння 2). У ПМВ 36 тиж повторно досліджували випорожнення у 58 дітей (33 у групі пробіотика та 25 у групі порівняння 2).

На третьому етапі роботи для вивчення чинників ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК, зокрема ПНС та НЕК II+ стадії, ретроспективно були сформовані група захворювань, в яку були залучені усі діти, включені до остаточного порівняльного аналізу результатів та в яких виник НЕК II+ стадії та/або ПНС, та група порівняння 3, яку утворили немовлята, включені до остаточного порівняльного аналізу результатів та в яких не було цих захворювань (рисунок 2.2). У групу захворювань було залучено 49 немовлят, а групу порівняння 3 склали 98 дітей.

Для визначення рівнів ФК випорожнення забирали з підгузка у стерильну пробірку після самовільного акту дефекації. Отриманий матеріал після забору якомога скоріше доставляли в лабораторію. Матеріал досліджували у лабораторії ТОВ «МЛ «ДІЛА», ліцензія МОЗ України № 071280 від 22.11.2012 р. Рівень ФК у випорожненнях вимірювали за допомогою імуноферментного аналізу на імуноферментному фотоелектричному аналізаторі Sunrise (Tecan, Швейцарія) згідно з рекомендаціями виробника. Границі вимірювань становили 3,8-6000,0 мкг/г, похибка – $\pm 5,4\%$.

Матеріал для бактеріологічного дослідження випорожнень збирали з підгузка у стерильну пробірку після самовільного акту дефекації та якомога скоріше доставляли в лабораторію. Дослідження виконувалось на базі науково-дослідного інституту епідеміології та гігієни Львівського національного медичного університету імені Данила Галицького, лабораторії вакцинокеріваних та інших бактерійних інфекцій. Матеріал досліджували із застосуванням класичного методу посіву (розведення в ізотонічному розчині

натрію хлориду до 10^2 - 10^9) на диференційно-діагностичні поживні середовища.

Для аналізу даних використовували стандартні методи описової статистики, категоріального, порівняльного, кореляційного, коваріантного і логістичного регресійного аналізів. Для оцінки прогностичної цінності вимірних показників ФК будували ROC-криву з наступним визначенням площі під нею та розрахунком чутливості та специфічності відповідних граничних показників. Для оцінки відмінностей між безперервними показниками використовували тест Мана-Уїтні, дискретні величини порівнювали за допомогою критерію χ^2 , динаміку показників визначали за допомогою Sign тесту, порівняльні криві виживання пацієнтів оцінювали за допомогою аналізу Каплана-Мейера. Непараметричні дані представлені як медіана (нижній і верхній квантилі). Наявність кореляційного зв'язку між непараметричними показниками оцінювали за допомогою коефіцієнта рангової кореляції Спірмана. Усі показники вважали достовірними, якщо $p < 0,05$.

Частота виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями постнатальної адаптації незрілого ТК, а саме НЕК II+ стадії та ПНС, становила 33,3 %. Виключно НЕК II+ стадії діагностовано у 2,6 % немовлят; поєднання НЕК II+ стадії та ПНС відмічалось у 6,1 % дітей, а виключно ПНС – у 24,5 % дітей.

Проаналізувавши демографічні та вихідні клінічні показники, ми виявили, що діти, у яких виникли ці захворювання, характеризувались меншими ТГ (28,0 (26,0-29,0) проти 29,0 (28,0-30,0) тиж; $p < 0,05$) та МТ при народженні (950,0 (800,0-1200,0) проти 1200 (1000,0-1300,0) г; $p < 0,05$), а також частіше народжувались від багатоплодової вагітності (18 випадків (36,7 %) проти 20 випадків (20,4 %); $p < 0,05$). Вони частіше мали нижчі оцінки за шкалою Апгар на 5 хв (5 (4-6) балів проти 6 (5-6) балів; $p < 0,05$), потребували введення екзогенного сурфактанту (42 випадки (85,7%) проти 65 випадків (66,3%); $p < 0,05$), а також лікування із застосуванням ШВЛ (38 випадків (77,5%) проти 42 випадків (42,9%); $p < 0,05$). Відповідно, тривалість застосування ШВЛ (120,0 (24,0-200,0) год проти 25,0 (3,0-85,0) год; $p < 0,05$), неінвазійної ДП (256,5 (138,0-500,0) год проти 100,0 (55,0-216,0) год; $p < 0,05$) та загальної кисневої залежності (594,0

(265,5-1339,0) год проти 120,0 (24,0-618,0) год; $p < 0,05$) була більшою у цих дітей. Під час перебування у ВІТН, більша частка дітей із групи захворювань отримували медикаментозне лікування ВАП (28 випадків (57,1%) проти 34 випадків (34,7%); $p < 0,05$) та замісні трансфузії еритроцитарної маси з метою корекції гострої анемії на тлі ДП (41 випадок (85,4%) проти 43 випадків (43,9%); $p < 0,05$). Кількість замісних трансфузій також була більшою у групі захворювань (2,0 (1,0-3,0) проти 1,0 (1,0-2,0); $p < 0,05$). Також, немовлят із групи захворювань частіше лікували кортикостероїдами (10 дітей (20,4%) проти 4 дітей (3,9%); $p < 0,05$), що було пов'язано з тривалішими ШВЛ та неінвазійною ДП і відповідно вищим ризиком БЛД.

МЕХ призначали в першу добу життя абсолютній більшості залучених дітей, проте немовлят у групі захворювань починали годувати ентерально достовірно пізніше, ніж новонароджених у групі порівняння (відповідно 11 (6,0-11,0) год проти 8,5 (6,0-12) год; $p < 0,05$). Усім дітям, залученим у дослідження, ЕХ розпочинали із сумішей, а частка дітей, яких в подальшому годували ГМ, суттєво не відрізнялась між групами (19 дітей (41,3%) у групі захворювань проти 52 немовлят (51,5%) у групі порівняння; $p > 0,05$). Новонароджених, в яких розвивались ПНС і (або) НЕК пізніше розпочинали годувати ГМ (відповідно 23,0 (16,0-38,0) днів проти 17,0 (13,5-27,0) днів; $p > 0,05$), проте ця відмінність не була статистично достовірною. У дітей із групи захворювань частіше відмічались епізоди зниженої толерантності до ЕХ, які вимагали його корекції (3,0 (1,0-4,0) проти 1,0 (0,0-2,0); $p < 0,05$).

Таким чином, в результаті ретроспективного аналізу даних всіх пацієнтів, залучених у дослідження, нами були встановлені чинники ризику, які впливали на ризик виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, зокрема ПНС та НЕК. Вони переважно залежали від ступеня незрілості при народженні. Зокрема, це менші ГВ і МТ при народженні, нижчі оцінки за Апгар на 5 хв життя, потреба у введенні екзогенного сурфактанту, медикаментозному лікуванні ВАП, призначенні стероїдів і замісних гемотрансфузіях, а також пізніший початок ЕХ і триваліші ШВЛ, неінвазійна ДП

та киснева залежність.

Недоношеність і мала МТ при народженні є очевидними та відомими чинниками ризику виникнення НЕК та ПНС, оскільки через незрілість ТК та повільну кишкову перистальтику у таких немовлят залишки їжі можуть затримуватись у ТК, створюючи сприятливе середовище для росту бактерій, а прямий контакт епітелію ТК з патогенними мікроорганізмами спричинить запалення, яке призведе до пошкодження слизової оболонки та виникнення НЕК і ПНС [29,179].

Важкість стану немовлят після народження, потреба реанімаційних заходів, а також подальше лікування в перші дні життя, безсумнівно, відіграють роль у ризику виникнення НЕК. Нещодавні дослідження виявили підвищений ризик НЕК у немовлят, які потребували реанімації після народження, ШВЛ в перші дні життя, або були народжені із ЗВУР [180,181].

Одним з потенційних чинників ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК, є сповільнений фізичний розвиток. Нами не було виявлено відмінностей за цим частотою ЗВУР між групами. Однак, дані літератури свідчать, що діти зі ЗВУР можуть мати вищий ризик виникнення НЕК, а також асфіксії, ураження головного мозку та респіраторного дистрес-синдрому [182]. Одне дослідження показало, що ймовірність розвитку НЕК у новонароджених зі сповільненим внутрішньоутробним ростом, був удвічі вищим, ніж у немовлят з розвитком, який відповідав ТГ [183].

Результати декількох досліджень вказують, що гемодинамічно значуща ВАП створює додатковий ризик виникнення НЕК [180,181,184]. За наявності потреби у фармакологічному закритті ВАП, застосування ібупрофен є кращим вибором з метою зниження ризику НЕК [185].

Потреба у ШВЛ після народження є важливим провісником виникнення НЕК [180]. Однак, не тільки потреба у ШВЛ, але і її тривалість також впливає на ймовірність розвитку цього захворювання [186].

Ризик виникнення так званого НЕК, асоційованого з гемотрансфузіями,

залишається суперечливим. Уважається, що виникнення НЕК після гемотрансфузій відбувається внаслідок дії медіаторів запалення, як-от фактор некрозу пухлин (TNF- α), IL-6 та ін., які утворюються під час обробки та зберігання цільної крові або еритроцитів, а також залишкових лейкоцитів, вільного гемоглобіну, фрагментів клітинних мембран тощо, які можуть міститись у препаратах крові. Окрім цього, під час зберігання еритроцити можуть зазнавати патологічних змін, втрачати здатність до деформації, підвищувати спорідненість до кисню та зменшувати – до оксиду азоту, що призводить до втрати вазодилататорної активності та нездатності покращити мікроциркуляцію у ТК після переливання препаратів крові [187].

Декілька клінічних досліджень свідчать про зв'язок між переливанням еритроцитів і НЕК, хоча ці висновки не були послідовно доведені в мета-аналізах [188,189]. Водночас, вплив анемії та переливання еритроцитарної маси на розвиток ураження ТК не є певним. У тваринних моделях переливання еритроцитів може впливати на спланхнічну регуляцію кровообігу та спричинювати транзиторну ішемію кишки [190,191]. Інша модель виникнення захворювання, яку досліджували на мишах, свідчить про те, що ані вплив анемії, ані переливання еритроцитів не є достатніми для виникнення НЕК, однак цей ризик може зростати за умови послідовної дії цих двох факторів [192,193]. Пояснити суперечливі висновки клінічних досліджень та мета-аналізів на сьогодні намагаються за допомогою теоретичних моделей подвійного причинно-наслідкового зв'язку або «численних впливів» [194].

Таким чином, причиною виникнення НЕК можуть бути як замісні трансфузії, так і тривалий вплив анемії на ТК. На сьогоднішній день невизначеними залишаються порогові значення гемоглобіну та гематокриту, які би об'єктивно обґрунтовували потребу гемотрансфузій на протипагу ризику виникнення НЕК [195,196].

Логічним практичним підходом до профілактики виникнення та прогресування гострої анемії є насамперед удосконалення клінічної практики для мінімізації ятрогенних крововтрат. Потенційним профілактичним

утручанням також може бути застосування дарбепоетину, однак необхідні додаткові дані для формування чітких і обґрунтованих рекомендацій [197]. Також, щоби запобігти зайвим замісним трансфузіям потрібно більше досліджень, присвячених вивченню безпечних порогових значень гематокриту та гемоглобіну у передчасно народжених дітей [198].

Оптимізація ЕХ є ключовою темою у пошуку методів профілактики НЕК та ПНС. Певний час уважалось, що швидке збільшення об'ємів добового ЕХ підвищує ризик виникнення НЕК, однак результати нещодавніх масштабних клінічних досліджень засвідчили безпеку і переваги раннього початку ЕХ та вищих темпів збільшення його об'єму. Зокрема збільшення добового об'єму ЕХ із кроком 30 мл/кг/добу не асоціювалось зі зростанням частоти НЕК та загальної смертності, але достовірно скорочувало тривалість парентерального харчування, тим самим зменшуючи ризик виникнення ускладнень [167].

Окрім темпів збільшення добового об'єму ЕХ, дискусійним питанням є оптимальний вік на момент початку ЕХ. Результати досліджень вказують, що відтермінування початку ЕХ може призвести до тривалішого застосування центральних катетерів, тим самим збільшуючи не лише ризики набутих інфекцій, а і затримки адаптації та розвитку ТК [199,200]. Ці дані співпадають з отриманими нами результатами, оскільки пізніший початок МЕХ виявився одним з важливих чинників ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК.

Відомо, що вигодовування ГМ матері є оптимальним для передчасно народжених дітей та асоціюється з нижчими ризиками виникнення НЕК та пізніх інфекцій [201]. Однак, за відсутності ГМ матері, постає питання вибору між використанням сумішей або донорського ГМ. Результати досліджень вказують, що вигодовування сумішами асоціюється з кращими показниками росту, однак і з вищим ризиком виникнення НЕК [202,203]. Поширеною практикою також є призначення змішаного вигодовування за умов недостатньої кількості молока матері або для забезпечення кращих темпів постнатального росту. Проте, змішане вигодовування асоціюється з вищим ризиком виникнення НЕК

порівняно із вигодовуванням виключно ГМ [201].

За підсумками багатофакторного логістичного регресійного аналізу лише три чинники ризику незалежно та достовірно впливали на ризик виникнення ПНС і НЕК: вік початку МЕХ (КСШ (95% ДІ: 1,042 (0,998-1,089); $p < 0,05$); кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ (КСШ (95% ДІ): 1,766 (1,323-2,356); $p < 0,001$) та потреба у замісних трансфузіях еритроцитарної маси (КСШ (95% ДІ): 3,280 (1,199-8,974); $p < 0,05$). Водночас, ані ТГ, ані МТ при народженні безпосередньо не впливали на імовірність виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК у нашій популяції значно недоношених немовлят за підсумками багатофакторного аналізу, що можна пояснити з одного боку відносно високою загальною захворюваністю на сепсис, включаючи більш зрілих дітей, а з іншого – низькою захворюваністю на НЕК (2,6 %).

У результаті проспективного вивчення клінічної ефективності ЛФ нами було встановлено, що ентеральне застосування ЛФ у дозі 100 мг/добу не зменшувало частоту НЕК, ПНС, РН, тяжких уражень ЦНС і БЛД у передчасно народжених немовлят з дуже малою масою тіла при народженні, залучених у наше дослідження. Однак, діти, які отримували ЛФ, скоріше досягали повного об'єму ЕХ, а найбільш незрілі з них (< 28 тиж) скоріше виписувались з лікарні. Ентеральне призначення ЛФ також асоціювалось з меншою тривалістю застосування антибактеріальної терапії і тривалістю перебування у ВІТН.

Отримані нами дані узгоджуються з результатами нещодавно завершених масштабних досліджень LIFT та ELFIN [151,204] і відрізняються від досліджень Manzoni та співавт. [177,178], першого дослідження Ochoa та співавт. [205], та дослідження Sherman та співавт. [206], за підсумками яких виявлялось достовірне зниження частоти виникнення ПНС та НЕК у немовлят, які отримували ЛФ. Слід зазначити, що Ochoa та співавт. виконали повторне клінічне дослідження ефективності профілактичного призначення ЛФ, результати якого були опубліковані у 2020 р., і в якому не було виявлено зменшення частоти ПНС серед немовлят, які отримували ЛФ [207].

Встановлений позитивний вплив ентерального призначення ЛФ на скоріше досягнення повного об'єму ентерального харчування, асоціювався зі скороченням загальної тривалості госпіталізації лише у підгрупі немовлят з гестаційним віком < 28 тиж. Схожа тенденція відмічалась у дослідженні Sherman [206], в якому автори виявили коротший період до досягнення повних об'ємів ЕХ у немовлят на штучному вигодовуванні, які отримували ЛФ. Немовлята, які отримували ЛФ у дослідженні Очоа та співавт. [207], потребували менш тривалого повного парентерального харчування.

Вищі показники смертності, частоти НЕК, та ПВЛ у групі лактоферину у нашому дослідженні пов'язані з кластером випадків НЕК у дітей, які послідовно залучались у цю групу упродовж кількох днів відповідно до плану рандомізації. Блискавичний перебіг захворювання призвів до виникнення тяжкого ураження ЦНС та смерті, що вплинуло на відмінності між групами, особливо з урахуванням малої кількості дітей у групі лактоферину. З урахуванням також того факту, що в попередніх рандомізованих дослідженнях, включаючи 2 останніх, які залучили 3745 пацієнтів [151,204], таких асоціацій встановлено не було, цей ефект у нашому дослідженні можна вважати випадковим.

Наше дослідження має певні недоліки, основним з яких була вимушена зміна його дизайну і втрата потужності через недоступність досліджуваного препарату, яка раптово виникла в період початку пандемії SARS-CoV-2. Відповідно кількість дітей у групі лактоферину була невеликою і значно меншою, ніж у групі порівняння.

Особливістю та сильною стороною цього дослідження було його виконання у країні з нижчим середнім рівнем доходу. Саме у країнах з низьким та нижчим середнім рівнем доходу профілактика пізніх інфекційних ускладнень є особливо актуальною, а профілактичне призначення ЛФ розглядалось як доступний та ефективний засіб реалізації відповідної стратегії. Зокрема, зниження частоти ПНС у немовлят, які отримували ЛФ, відмічалось у дослідженнях, виконаних в Індії та Перу [205,208].

Не виключена залежність клінічної ефективності ентерального застосування ЛФ від особливостей харчування новонароджених, зокрема годування ГМ. У дослідженні LIFT, результати якого вказували на відсутність ефекту ЛФ у зниженні частоти НЕК та ПНС, а також загальної смертності, 94 % немовлят починали вигодовувати молоком матері. У публікації дослідження ELFIN відповідні дані, на жаль, не представлені. На противагу цьому, у дослідженні Manzoni та співавт., менше 30 % немовлят вигодовувались виключно ГМ, проте саме в ньому було виявлено зниження частоти НЕК та загальної смертності серед немовлят, які отримували ЛФ [178]. В подальшому Manzoni та співавт. виявили, що застосування ЛФ є ефективнішим у немовлят, яких годують сумішами, порівняно з немовлятами, які отримують ГМ [153], що також було підтверджено у дослідженнях Sherman та Ochoa [206,207]. Враховуючи раннє переведення з акушерського стаціонару, ми розпочинали годувати наших пацієнтів сумішами з поступовим переходом на часткове або повне годування ГМ, тільки-но це ставало можливим. Водночас, переважну кількість дітей в обох групах годували сумішами, що не дозволяє пояснити відсутність ефективності ЛФ впливом годування ГМ.

Одним з напрямків подальшого дослідження клінічної ефективності ЛФ є вивчення доцільності його призначення немовлятам, які не отримують донорського або материнського грудного молока, а також у країнах з низьким рівнем доходу, в яких є вищою інфекційна захворюваність. Також актуальним залишається вивчення впливу призначення ЛФ на процес формування мікробіоти ТК у передчасно народжених дітей. Зокрема, застосування Тал-лактоферину може негативно впливати на кількість *Enterobacter* та *Klebsiella*, проте збільшувати кількість *Citrobacter* [206].

Ми визначили, що показники ФК на першому тижні життя не асоціюються з пізнішим виникненням НЕК або ПНС. Зокрема, рівні ФК, які були визначені на першому тижні життя у немовлят, які в подальшому захворіли на ПНС, не давали можливості прогнозувати виникнення цього захворювання (374,7 (70,4-680,2) мкг/г проти контрольного показника 274,2 (195,5-639,1) мкг/г; $p > 0,05$).

Аналогічні результати були отримані і щодо НЕК (334,4 (228,7-800,0) мкг/г проти контрольного показника 274,2 (195,5-639,1) мкг/г; $p > 0,05$).

Рівні ФК у ПМВ 36 тиж у немовлят, які захворіли на РНС, також істотно не відрізнялись від рівнів ФК немовлят, які не мали цього захворювання. Натомість, немовлята, які захворіли на РНС, мали статистично достовірно вищі концентрації ФК на першому тижні життя порівняно з дітьми, які не хворіли на сепсис і НЕК. Було встановлено, що показник ФК $< 373,9$ мкг/г дозволяє заперечити наявність РНС із середньою імовірністю 86 %. Ентеральне застосування ЛФ у дозі 100 мг/добу асоціювалось з підвищеннями рівнів ФК, однак цей ефект не був статистично значущим. Отже, ми не отримали доказів впливу лікування ЛФ на рівні ФК.

Відсутність відмінностей за показниками ФК між сформованими групами можна пояснити тим, що на момент першого визначення (перші 7 днів життя) частина дітей у групі лактоферину ще не мали РНС або НЕК. Під час повторного дослідження у ПМВ 36 тиж переважна більшість з них також не мали активного запального процесу, а відмінності за типом харчування і частка дітей, яких годували нативним молоком матері, були незначними. Водночас, достовірне підвищення рівнів ФК в перший тиждень життя у немовлят, хворих на РНС, може вказувати на те, що незрілий ТК є вхідними воротами інфекції і бере участь у формуванні системної запальної відповіді. Також відомо, що у немовлят з РНС, може зростати не лише концентрація ФК, а і кальпротектину сироватки крові [209,210]. Проблема виникнення РНС є відносно контрольованою у країнах з високим рівнем доходу завдяки інтранатальному застосуванню антибіотиків, проте частота РНС у країнах з низьким або нижчим середнім рівнем доходу може досягати 16 %, а частота лабораторно підтвердженого РНС – 4,6 % [211]. В умовах обмежених ресурсів ефективна діагностика сепсису може бути складною проблемою [212]. Визначені нами чутливість і негативна прогностична цінність показника ФК $< 373,9$ мкг/г на рівні відповідно 71 % і 85,7 % вказують на те, що ФК може бути додатковим діагностичним маркером РНС в перші дні життя

немовлят. Водночас, потрібні додаткові дослідження, які би підтвердили цей висновок.

Не виключено, що на рівні ФК могли впливати додаткові чинники. Зокрема, концентрації ФК можуть залежати не лише від наявної патології, а і від ТГ і постнатального віку немовлят. Josefsson та співавт. описали зниження рівнів ФК протягом першого тижня життя та поступове зростання у період з другого до восьмого тижня життя [213]. Rouge та співавт. виявили слабку негативну лінійну залежність між ФК і ТГ [214]. Yoon зі співавт. засвідчили позитивну лінійну залежність між ТГ та ФК у немовлят з ТГ < 26 тиж та негативну залежність між ТГ та ФК у немовлят, народжених у ТГ від 26 до 30 тиж [215]. Хоча нами було встановлено, що рівні ФК у немовлят в ТГ < 28 тиж були майже удвічі вищими, ніж у дітей з ТГ 28-32 тиж, ця відмінність не була статистично достовірною. Ми не виявили вірогідних кореляцій між ТГ і показниками ФК, а коваріантний аналіз не підтвердив незалежного вірогідного впливу ТГ на концентрації ФК у наших пацієнтів. Отже, враховуючи суперечливість наявних даних, залежність між ТГ та ФК потребує подальшого вивчення.

Можливість раннього виявлення НЕК або наявного субклінічного запального процесу, який може стати причиною наступного виникнення НЕК, є одним з найважливіших завдань у контексті вивчення ФК у передчасно народжених немовлят.

Результати дослідження Zoopen та співавт. вказують, що серійні вимірювання ФК не допомагають передбачити виникнення НЕК, оскільки від народження до першої клінічної підозри на НЕК відмінностей між концентраціями ФК у немовлят, в яких розвинувся НЕК, і у контрольних дітей не було [216]. Водночас, чимало досліджень вказують на підвищення рівнів ФК у немовлят з НЕК. Так, для встановлення діагнозу НЕК з чутливістю 76 % та специфічністю 92 % Audemir та співавт. запропонували порогове значення ФК 792 мкг/г [217]. Проте, Zhang зі співавт. продемонстрували специфічність 88,2 % та чутливість 82,6 % для значно нижчої концентрації – 281 мкг/г [218]. Результати дослідження MacQueen та співавт. за участі 250 немовлят з ТГ < 35

тиж засвідчили, що показник 299 мкг/г мав найкращі діагностичні характеристики з чутливістю 71 % та специфічністю 88 % [219]. Мета-аналіз досліджень, які вивчали діагностичну цінність концентрацій ФК для виявлення НЕК, виявив, що сукупні чутливість та специфічність методу досягають відповідно 86 % і 79 %, проте досі не встановлені чіткі референтні значення цього показника [220].

Найважливішими з практичної точки зору є можливість прогнозування НЕК або його рання діагностика до виникнення явних клінічних симптомів захворювання. Zoonen та співавт. не виявили значущих відмінностей між рівнями ФК на 3-5 та 6-8 дні життя, а також за 48 год до моменту появи клінічних симптомів у передчасно народжених немовлят, в яких виник НЕК, порівняно з контрольними показниками [216]. На противагу цьому, Thibault та співавт. завдяки щоденному забору матеріалу, вдалось виявити зростання ФК, а також поєднане зростання ФК і ліпокаліну-2 за 7-10 днів до появи клінічних симптомів захворювання [221]. У нашому дослідженні початкові рівні ФК у немовлят, в яких пізніше виник НЕК, достовірно не відрізнялись від показників немовлят у групі порівняння. Водночас, ми не мали можливості багаторазово визначати концентрації ФК до моменту виникнення НЕК. Серед трьох немовлят у нашому дослідженні, в яких виник НЕК, лише в одному випадку рівень ФК перевищував показник 792 мкг/г, однак у 5 інших дітей з рівнем ФК на першому тижні життя вище цієї межі, НЕК не виник.

Відомо, що для ПНС також характерне підвищення рівнів ФК і кальпротектину сироватки крові [210], хоча за даними Pirr та співавт. знижені показники кальпротектину сироватки крові в перші дні життя також можуть прогнозувати вищий ризик виникнення сепсису у недоношених новонароджених [222]. Нам не вдалось виявити залежності між показниками ФК на першому тижні життя або на момент досягнення ПМВ 36 тиж та виникненням ПНС. Не виключено, що такий результат міг бути пов'язаним з недостатньою кількістю повторних вимірювань, оскільки концентрація ФК може зростати незадовго до виникнення клінічних ознак захворювання.

Ми виявили зростання рівнів ФК у передчасно народжених немовлят, які отримували ЛФ ентерально, однак ця динаміка не була статистично достовірною. Декілька авторів продемонстрували, що здорові немовлята, які знаходяться на грудному вигодовуванні, мали вищі показники ФК, ніж немовлята на штучному вигодовуванні [223,224]. Groer M. та співавт. звернули увагу на тенденцію до поступового підвищення рівнів ФК у немовлят, яких годували молоком матері, порівняно з дітьми, які отримували донорське пастеризоване ГМ або знаходились на змішаному вигодовуванні [225]. Натомість, результати дослідження Costa та співавт. засвідчили вищі показники ФК у передчасно народжених немовлят, яких годували молоком матері і сумішами, порівняно з годуванням молоком матері і донорським грудним молоком [226]. Calore та співавт. виявили позитивну кореляцію між показниками ФК та об'ємами ЕХ. Це може свідчити про те, що харчові антигени разом з бактеріями-коменсалами спричинюють «фізіологічний» субклінічний запальний процес у незрілому ТК [214]. Одним з результатів виконаного нами проспективного когортного дослідження з вивчення клінічної ефективності ЛФ було скоріше досягнення об'ємів повного ЕХ у дітей, які отримували ЛФ. Можливою причиною зростання рівнів ФК є дія імунологічно-активних компонентів, які містяться у ГМ. Зокрема, так може діяти ЛФ, оскільки зростання рівнів ФК не відмічалось у немовлят, яких годували молочними сумішами або донорським ГМ, тому що процес пастеризації суттєво впливає на його імунологічні властивості [227]. Також, наявні дані про зв'язок ЕХ і ФК можуть вказувати на те, що підвищення рівнів ФК не завжди асоціюється з виникненням патологічного запального процесу, а може відображати фізіологічний процес постнатальної адаптації та дозрівання ТК у немовлят.

Цей фрагмент нашого дослідження має декілька обмежень. Недостатнє ресурсне забезпечення не дозволило залучити у дослідження більшу кількість немовлят для визначення рівнів ФК. Також, ми не мали можливості проводити багаторазове інтервальне визначення ФК у немовлят, залучених у дослідження (напр. щотижнево), що могло би дати чіткішу картину динаміки рівнів ФК

залежно від виникнення ПНС та/або НЕК, а також ентерального застосування ЛФ. Ми не мали технічної можливості визначати концентрації ФК понад 800 мкг/г, що могло спричинити недооцінку їх значущості. Це також могло вплинути на визначення вірогідності динаміки показників ФК.

Отримані нами результати свідчать про необхідність додаткового вивчення впливу імунного харчування, зокрема ентерального застосування ЛФ, на запальний статус ТК та на показники відповідних біомаркерів, зокрема ФК. Наші дані у поєднанні з результатами, отриманими іншими авторами, свідчать про те, що значні коливання індивідуальних рівнів ФК у передчасно народжених немовлят та динамічні зміни ФК, пов'язані з особливостями харчування і постнатальною адаптацією ТК, значно знижують прогностичну цінність ФК як раннього маркера НЕК та сепсису, радше відображаючи стан фізіологічної реакції каналу на наявність харчових антигенів і бактерій-коменсалів.

За результатами дослідження клінічної ефективності ентерального застосування пробіотика *L. reuteri DSM 17938* у дозі 10^8 КУО/добу передчасно народженим немовлятам із ТГ ≤ 32 тиж від моменту сталого мінімального ЕХ до досягнення ПМВ 36 тиж або виписки зі стаціонару, було встановлено, що це втручання поліпшує толерантність до ЕХ, скорочує період до досягнення повного об'єму ЕХ і загальну тривалість госпіталізації. Застосування *L. reuteri DSM 17938* у зазначеному режимі в передчасно народжених немовлят є безпечним, однак не зменшує частоту виникнення ПНС та НЕК, а вплив *L. reuteri DSM 17938* на постнатальне формування кишкової мікробіоти потребує подальшого вивчення.

Результати мікробіологічного обстеження випорожнень вказували, що низька частота виявлення *E. coli* (1 (4,8%) проти 18 (42,9%); $p < 0,05$), а також менша кількість виявлених *Klebsiella pneumonia* ($0,02 (0,01-0,02) \times 10^8/\text{г}$ проти $2,0 (0,4-3,9) \times 10^8/\text{г}$; $p < 0,05$) в перший тиждень життя асоціювалось з наступним виникненням НЕК та ПНС. Також, менша загальна кількість мікроорганізмів, які виявлялись у зразку випорожнень на першому тижні життя, асоціювалась із виникненням ПНС ($3,0 (2,0-4,0)$ проти $(2,0 (1,0-3,0))$; $p < 0,05$).

Отримані клінічні результати узгоджуються з висновками кількох рандомізованих досліджень, у яких також не виявили зниження частоти НЕК та сепсису в передчасно народжених немовлят на тлі додаткового застосування *L. reuteri DSM 17938*, проте продемонстрували поліпшення інших клінічних показників. Не підтвердивши позитивного впливу пробіотичної терапії на рівень захворюваності та смертності передчасно народжених немовлят, Кабан та співавт. виявили достовірне зменшення кількості випадків зниженої толерантності до ЕХ у немовлят, які отримували пробіотик [228]. Rojas та співавт. також показали кращу толерантність до ЕХ та скорочення тривалості госпіталізації немовлят, яких лікували *L. reuteri DSM 17938* [229]. Результати, отримані Суї та співавт., засвідчили скорочення періоду до досягнення повного об'єму ЕХ і тривалості госпіталізації, а також кращі показники фізичного розвитку в дітей, які отримували пробіотик [230]. Ми виявили достовірне скорочення тривалості госпіталізації, а також тенденцію до скорішого досягнення повного об'єму ЕХ і більшу масу тіла в ПМВ 36 тиж у немовлят, які отримували пробіотик. Ці особливості насамперед характеризували дітей з ТГ ≥ 28 тиж, яких переважно залучали до вищезгаданих досліджень. Отримані нами результати вказують на потенційно нижчу ефективність пробіотика у надзвичайно недоношених немовлят (ТГ < 28 тиж). Водночас саме у цій підгрупі дітей кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ була нижчою на тлі лікування пробіотиком.

Систематичний огляд і мета-аналіз виконаних досліджень ESPGHAN [19] оцінив ефективність окремих штамів пробіотиків, які використовували з метою профілактики ПНС, НЕК, зниження рівня смертності та скорочення тривалості періоду до досягнення повного об'єму ЕХ у передчасно народжених немовлят. Автори огляду дійшли висновку, що ефективність *L. reuteri DSM 17938* щодо профілактики НЕК і ПНС залишається сумнівною, незважаючи на здатність цього штаму достовірно скорочувати тривалість періоду до досягнення повного об'єму ЕХ [20].

Важливим залишається питання безпеки застосування пробіотиків у

передчасно народжених немовлят. Зокрема, *L. reuteri DSM 17938* є D-лактат-продукуючим штамом, вплив якого на показники кислотно-лужної рівноваги в передчасно народжених немовлят є недостатньо вивченим [231]. Також незрілість травного каналу підвищує ризики виникнення сепсису, асоційованого із пробіотиками [232]. Відсутність зростання частоти сепсису і смертності в немовлят, які отримували цей пробіотик, у нашому та вищезгаданих дослідженнях свідчить на користь безпеки застосування *L. reuteri DSM 17938* у передчасно народжених немовлят.

Відсутність росту *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* та переважання *Enterobacter spp.*, *Enterococcus spp.* та *Staphylococcus spp.* у випорожненнях у перший тиждень життя узгоджується з результатами інших досліджень і сучасними уявленнями про формування раннього постнатального кишкового мікробіому [169,233]. Водночас нам не вдалося виявити впливу застосування *L. reuteri DSM 17938* на колонізацію незрілого травного каналу бактеріями *Lactobacillus spp.* У ПМВ 36 тиж частота виявлення *Lactobacillus spp.* та *Bifidobacterium spp.* зростала, однак суттєво відрізнялася від результатів інших досліджень, які продемонстрували вищі показники колонізації ТК *Lactobacillus spp.* у дітей внаслідок призначення *L. reuteri DSM 17938* [157,234]. Водночас, зростання кількості *Lactobacillus spp.* на тлі застосування *L. reuteri DSM 17938* мало тимчасовий характер, оскільки у ПМВ 36 тиж відмічалось зменшення кількості *Lactobacillus spp.* у випорожненнях, навіть незважаючи на те, що немовлята все ще отримували пробіотик [235].

Відмінність між нашими результатами та результатами вищезгаданих досліджень ми пов'язуємо з тривалішою антибіотикотерапією у наших пацієнтів. Дані Arboleya та співавт. вказують, що застосування антибіотикотерапії асоціюється зі зменшенням кількості *Lactobacillus spp.*, *Bifidobacterium spp.* та *Enterobacter spp.*, у випорожненнях, що співпадає з нашими даними [236]. Також ми використовували класичні бактеріологічні методи дослідження з нижчою точністю порівняно із 16-S РНК секвенуванням, яке застосовували у всіх вищезгаданих дослідженнях.

Сучасна концепція патогенезу НЕК передбачає інфекційний компонент за участі кишкових бактерій [237,238]. Однак, мова не йде про конкретний мікроорганізм, який є збудником НЕК, а розглядається загальний стан мікробіоти ТК, за наявності якого зростає ризик виникнення цього захворювання.

Warner та співавт. вивчили > 2400 зразків випорожнень від 122 немовлят, народжених з МТ <1500 г, та визначили, що виникнення НЕК було пов'язано з великою кількістю бактерій класу *Gammaproteobacteria*, до яких відносяться бактерії *Enterobacter spp* [118]. Також, результати декількох інших досліджень вказують на те, що виникнення НЕК пов'язано зі збільшенням кількості грам-негативних бактерій і зменшенням кількості грам-позитивних бактерій типу *Firmicutes* і та грам-позитивних *Bacteroides* у ТК перед виникненням захворювання [239–241]. Мікробіота ТК передчасно народжених дітей характеризується меншим різноманіттям порівняно з мікробіотою доношених немовлят, однак у низці досліджень було виявлено, що у дітей, в яких виникав НЕК, відбувалось подальше зниження різноманіття бактерій у ТК, порівняно з недоношеними немовлятами без НЕК [242–244]. Потенційна роль *Gammaproteobacteria* у виникненні НЕК пов'язана з їх можливістю спричиняти запалення у ТК через стимуляцію дзвоноподібних рецепторів [237]. Натомість, *Firmicutes* та *Bacteroides* потенційно можуть сприяти дозріванню ТК, сприяючи диференціації кишкових епітеліальних клітин, запобігати руйнуванню слизу та зміцненню щільних зав'язків [245].

Отримані нами результати збігаються з результатами досліджень, які вказують на зниження бактеріального різноманіття у ТК немовлят з НЕК, та відрізняються від результатів Warner та інших, які вказують на збільшення кількості грам-негативних бактерій у ТК перед виникненням НЕК. Відмінність цих результатів ми пов'язуємо насамперед з використанням різних методів дослідження стану мікробіоти у випорожненнях, оскільки у згаданих вище дослідженнях застосовували 16-S РНК секвенування, що вважається більш точним порівняно з бактеріологічним дослідженням випорожнень.

Серед переваг нашого дослідження можна зазначити його дизайн, а також залучення надзвичайно недоношених немовлят, оскільки чимало клінічних досліджень, пов'язаних із пробіотиками, не включають цю популяцію пацієнтів найвищого перинатального ризику. Також у цьому дослідженні отримано нові клінічні та мікробіологічні дані, які характеризують застосування *L. reuteri DSM 17938* у країні з широким використанням пробіотиків й антибіотиків, зокрема в неонатології.

Цей фрагмент нашої роботи також має певні обмеження. Насамперед, незважаючи на залучення 100 немовлят, воно не має достатньої потужності для підтвердження впливу терапії пробіотиком на частоту НЕК та ПНС. Трактувати отримані результати також потрібно з урахуванням обмежень, які характеризують використані методи бактеріологічних досліджень.

7.2 Стратегія профілактики та прогнозування порушень постнатальної адаптації у передчасно народжених немовлят

7.2.1 Профілактика порушень постнатальної адаптації у передчасно народжених немовлят.

Встановлені нами чинники ризику захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК, вказують на важливість профілактики порушень постнатальної адаптації у передчасно народжених немовлят. Таку профілактику потрібно здійснювати на антенатальному, інтранатальному і постнатальному етапах.

Завданням антенатального етапу є профілактика передчасних пологів. Однак, з огляду на відсутність дієвих методів такої профілактики, надзвичайно важливо забезпечити відповідне сучасним вимогам спостереження за вагітною, яке би гарантувало своєчасне виявлення будь-яких медичних проблем і надання адекватної медичної допомоги. В контексті покращення наслідків можливого передчасного народження принциповим є дотримання принципів регіоналізації перинатальної допомоги з госпіталізацією або транспортуванням всіх вагітних з

ризиком передчасних пологів в терміні менше 34 тиж в акушерські стаціонари 3 рівня.

Основними завданнями інтранатального етапу у разі передчасних пологів при ТГ \leq 34 тижні та менше є стероїдопрофілактика, інтранатальна профілактика асфіксії плода, а також профілактика і лікування інфекційних ускладнень у матері і новонародженого, які безпосередньо можуть впливати на тяжкість стану дитини при народженні та підвищувати ризик захворювань, пов'язаних з незрілістю ТК.

На постнатальному етапі надзвичайно важливо забезпечити кваліфіковану початкову допомогу передчасно народженій дитині в перші хвилини життя. Насамперед, народження в ТГ 32 тижні та менше повинно відбуватись в акушерському стаціонарі 3 рівня, а допомогу після народженні повинні надавати фахівці відповідної кваліфікації, які мають досвід роботи у ВІТН, у належних умовах. Окрім умов, за яких можливо забезпечити відповідний тепловий захист та моніторинг стану життєво важливих функцій передчасно народженій дитині, ключовими аспектами є своєчасна, ефективна і безпечна стабілізація стану з неінвазійною ДП і застосуванням кофеїну цитрату, а за потреби – надання реанімаційної допомоги і введення екзогенного сурфактанту малоінвазійним методом, з метою мінімізації потреби в інтубації трахеї та проведенні ШВЛ. Окремим аспектом слід виділити реальну можливість залучення додаткового медичного персоналу до надання реанімаційної допомоги після народження у випадках багатоплідних вагітностей. Для дітей з ТГ \geq 28 тиж, за умови надання адекватної допомоги на антенатальному етапі та стані після народження, який не вимагає виконання термінових реанімаційних заходів, відстрочене перетискання пуповини після народження є дієвим методом профілактики гострої анемії, яка є вірогідним чинником ризику виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК.

У ВІТН, після стабілізації стану дитини, призначення парентерального харчування та антибактеріальної терапії, профілактика порушень постнатальної адаптації незрілого ТК має здійснюватися у таких напрямках:

- 1) ранній початок ЕХ – призначення МЕХ в перші 12 годин життя, пріоритетним продуктом харчування слід вважати молозиво матері, в якості його альтернативи можна використовувати донорське грудне молоко або суміш;
- 2) виявлення ВАП та діагностика її гемодинамічної значущості – призначення медикаментозного лікування ВАП слід проводити за наявності відповідних даних, отриманих за допомогою доплер ехокардіографії;
- 3) профілактика гострої анемії – повторні забори крові для лабораторних досліджень є одним з ключових чинників виникнення та прогресування анемії у передчасно народжених дітей, у зв'язку з чим потрібно оптимізувати призначення лабораторних аналізів крові у дітей в умовах ВІГН;
- 4) надання переваги неінвазійній ДП та ранній екстубації;
- 5) оптимізація використання антибактеріальної терапії;
- 6) використання імунного харчування – призначення лактоферину у дозуванні 100 мг/добу та пробіотика *L.reuteri DSM 17938* у дозуванні 10^8 КУО/добу з моменту сталого толерування МЕХ

7.2.2 Прогнозування порушень постнатальної адаптації ТК у передчасно народжених немовлят. Раннє виявлення порушень постнатальної адаптації ТК у передчасно народжених немовлят і пов'язаних із ними захворювань, зокрема НЕК та ПНС, залишається актуальним завданням сучасної неонатології. Для прогнозування виникнення порушень постнатальної адаптації ТК доцільно використовувати клінічні та лабораторні дані.

Первинні клінічні ознаки, які можуть свідчити про виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК, це неможливість припинити МЕХ протягом першого тижня життя, виникнення повторних епізодів зниженої толерантності до ЕХ, а також швидке прогресування гострої анемії на тлі ДП з потребою призначення замісної трансфузії еритроцитарної маси, а також неможливість відлучити пацієнта від ШВЛ протягом тривалого часу. Такі немовлята становлять особливу групу ризику та потребують додаткових профілактичних та діагностичних заходів.

Окрім стандартних лабораторних досліджень, як-от загальний аналіз крові, визначення рівня С-реактивного протеїну та кислотно-лужного стану крові, з метою прогнозування та додаткової діагностики захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК, доцільно використовувати результати визначення ФК та результати бактеріологічного дослідження випорожнень.

Визначення рівнів ФК на 2-3 день життя дають можливість заперечити наявність РНС з вірогідністю 85 %, якщо отриманий результат становить $< 373,9$ мкг/г. З метою ранньої діагностики НЕК II+ стадії та ПНС у передчасно народжених немовлят з ТГ ≤ 32 тиж, особливо у немовлят із групи високого ризику, рекомендовано визначати ФК щотижня, що, на підставі результатів досліджень інших авторів, дозволяє прогнозувати виникнення захворювання протягом наступних 2-7 діб після виявлення стрімкого зростання рівнів ФК [216,220].

Бактеріологічне дослідження випорожнень з метою визначення стану мікробіоти ТК є доступним та неінвазійним методом додаткової діагностики та прогнозування виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК. Хоча інфекційний чинник є одним з ключових патогенетичних ланок виникнення цих захворювань, дисбіоз зі зменшенням кількості та різноманітності бактерій також є важливим чинником ризику. Зокрема, результати бактеріологічного дослідження випорожнень на першому тижні життя, які характеризуються малою загальною кількістю видів виявлених бактерій, відсутністю або дуже малою кількістю *Escherichia coli*, а також низькою кількістю *Klebsiella pneumoniae* свідчать про ризики виникнення НЕК та ПНС в подальшому.

ВИСНОВКИ

1. Захворювання, пов'язані з порушенням постнатальної адаптації незрілого травного каналу, зокрема некротизуючий ентероколіт (НЕК) та пізній неонатальний сепсис (ПНС), залишаються поширеними та діагностуються у близько 5 % та 20 % немовлят з дуже малою масою тіла при народженні відповідно. Імовірність виникнення цих захворювань зростає зі зменшенням гестаційного віку, а незрілість травного каналу (ТК) відіграє важливу роль у їх патогенезі. Обидва захворювання є важливими причинами смертності та довгострокової захворюваності передчасно народжених немовлят. Існуючі методи профілактики є недостатньо ефективними.

2. За підсумками багатофакторного логістичного регресійного аналізу лише три чинники ризику незалежно та достовірно впливали на ризик виникнення НЕК і ПНС: вік початку мінімального ентерального харчування (ЕХ) (КСШ (95% ДІ): 1,042 (0,998-1,089); $p < 0,05$), кількість епізодів зниженої толерантності до ЕХ (КСШ (95% ДІ): 1,766 (1,323-2,356); $p < 0,001$) та потреба у замісних трансфузіях еритроцитарної маси (КСШ (95% ДІ): 3,280 (1,199-8,974); $p < 0,05$).

3. Визначення рівнів фетального кальпротектину (ФК) на першому тижні життя не дозволяло прогнозувати виникнення НЕК або ПНС, а рівні ФК у постменструальному віці (ПМВ) 36 тиж у немовлят, які захворіли на ПНС, істотно не відрізнялись від рівнів ФК у дітей, які не мали цього захворювання. Показник ФК 373,9 мкг/г в перші 3 доби життя має чутливість 71 % та специфічність 63 % щодо виявлення РНС у передчасно народжених немовлят (площа під кривою – 0,79; 95 % ДІ 0,81-0,97; $p < 0,05$). Позитивна прогностична цінність показника $\geq 373,9$ мкг/г становить 41,6 %, а прогностичне значення результату $< 373,9$ мкг/г – 85,7 %.

4. Ентеральне застосування лактоферину (ЛФ) у дозі 100 мг/добу не знижувало частоту ПНС, НЕК, ПНС, ретинопатії недоношених і тяжких

уражень ЦНС у передчасно народжених немовлят з дуже малою масою тіла при народженні. Однак, діти, які отримували ЛФ, скоріше досягали повного об'єму ЕХ (14 (10-17) днів проти 19 (13-32) днів; $p < 0,05$), а найбільш незрілі з них (< 28 тиж) скоріше виписувались з лікарні (74 (68-89) проти 98 (83-109) днів; $p < 0,05$). Ентеральне призначення ЛФ не впливало на рівні ФК у постменструальному віці (ПМВ) 36 тиж.

5. Ентеральне призначення пробіотика *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 у дозі 10^8 КУО/добу передчасно народженим немовлятам з терміном гестації (ТГ) ≤ 32 тиж від моменту сталого мінімального ЕХ до досягнення ПМВ 36 тиж або виписки не знижувало частоту виникнення НЕК II+ стадії, ПНС або загальної смертності, однак поліпшувало толерантність до ЕХ, скорочувало загальну тривалість госпіталізації немовлят з ТГ > 27 тиж (56,0 (46,0-71,0) днів проти 65,0 (60,0-87,9) днів; $p < 0,05$), а також було безпечним. Застосування *L. reuteri* DSM 17938 не впливало на частоту бактеріологічного виявлення лакто-і біфідобактерій у випорожненнях немовлят у ПМВ 36 тиж.

6. Кишковий дисбіоз зі зменшенням кількості та різноманітності бактерій асоціювався з наступним виникненням захворювань, пов'язаних з порушенням постнатальної адаптації незрілого ТК. Так, менша загальна кількість мікроорганізмів в одному зразку випорожнень на першому тижні життя асоціювалась з виникненням ПНС ($rS = -0,25$; $p < 0,05$). *E. coli* достовірно рідше виявлялась на першому тижні життя у дітей, які в подальшому хворіли на ПНС та НЕК. Кількість бактерій *Klebsiella pneumoniae* на першому тижні була значно меншою у немовлят, в яких в подальшому виникав НЕК ($p < 0,05$).

7. Отримані дані обґрунтовують можливість оптимізації допомоги передчасно народженим дітям з ТГ ≤ 32 тиж шляхом додаткового ентерального призначення коров'ячого ЛФ та *L. reuteri* DSM 17938 від моменту толерування сталого мінімального об'єму ЕХ до моменту виписки. Це сприятиме покращенню толерантності до ЕХ, скорішому досягненню його повного об'єму, а також скороченню госпіталізації. Визначення ФК на 2-3 день життя може покращити діагностику РНС. Значно недоношені діти, яким

розпочинають ЕХ після 12 год життя, в яких виявляють щонайменше 2 епізоди зниженої толерантності до ЕХ, а також потребу у замісних трансфузіях еритромаси, потребують додаткових профілактичних заходів щодо НЕК і ПНС.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Передчасно народжені діти з терміном гестації (ТГ) ≤ 32 тиж і масою тіла при народженні ≤ 1500 г становлять групу ризику щодо виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого травного каналу (ТК). Одним з напрямків надання допомоги таким пацієнтам є уникнення додаткових ризиків виникнення цих захворювань, зокрема пізнього початку ентерального харчування (ЕХ), гострої анемії та замісних трансфузій еритроцитарної маси, а також появи епізодів зниженої толерантності до ЕХ.

2. Усім дітям з ТГ ≤ 32 тиж і масою тіла при народженні ≤ 1500 г рекомендовано розпочинати ЕХ в перші 12 год життя, за можливості, молоком матері. Можливість розпочати раннє ЕХ залежить від загального стану дитини після народження і використання стандартизованих підходів до призначення ЕХ за допомогою локального протоколу. Отже, допомога на анте- та перинатальному етапах має бути спрямована на профілактику станів, які можуть суттєво вплинути на стан дитини після народження.

3. Важливо запобігати виникненню та прогресуванню гострої анемії, яка найбільшою мірою пов'язана з ятрогенними втратами крові. Профілактика геморагічної хвороби новонароджених, внутрішньошлуночкових крововиливів та зменшення ятрогенних втрат крові завдяки стандартизації лабораторних обстежень є найбільш дієвими та практичними заходами.

4. Щоб уникнути надлишкових гемотрансфузій з метою корекції анемії, особливо в немовлят, які потребують дихальної підтримки, слід суворо дотримуватись відповідних сучасних показань.

5. З метою покращення толерантності до ЕХ використання грудного молока та додаткового імунного харчування є дієвим утручанням. Усім дітям з терміном гестації ≤ 32 тиж і масою тіла при народженні ≤ 1500 г доцільно призначати лактоферин у дозі від 100 мг/добу до 100 мг/кг/добу та пробіотик *L. reuteri DSM 17938* у дозі від 10^8 КУО/добу від моменту сталого толерування

мінімального ентерального харчування до моменту виписки.

6. Для прогнозування та додаткової діагностики захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, окрім стандартних методів діагностики, доцільними є визначення рівнів фекального кальпротектину (ФК) та бактеріологічне дослідження випорожнень. Розрахувати індивідуальний ризик виникнення захворювань, пов'язаних з порушеннями адаптації незрілого ТК, можна з використанням коефіцієнтів регресії для чинників ризику, встановлених у цьому дослідженні.

7. З метою діагностики раннього неонатального сепсису рекомендується визначення рівнів ФК в перші 3 доби життя. Показник ФК 373,9 мкг/г має чутливість 71 % та специфічність 63 % щодо виявлення РНС у передчасно народжених немовлят (площа під кривою – 0,79; 95 % довірчий інтервал 0,81-0,97; $p < 0,05$). Позитивна прогностична цінність цього показника становить 41,6 %, а прогностичне значення результату $< 373,9$ мкг/г – 85,7 %.

8. З метою прогнозування захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК, може використовуватись повторне щотижневе визначення рівнів ФК. Стрімке підвищення рівнів ФК за відсутності клінічних ознак захворювання, свідчить про ризик його виникнення через 2-7 діб.

9. З метою додаткового прогнозування виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК, доцільне повторне бактеріологічне дослідження випорожнень. Варто звертати увагу на два стани мікробіоти, які пов'язані з ризиком виникнення захворювань, пов'язаних з порушенням адаптації незрілого ТК: 1) низька бактеріальна різноманітність, яка не змінюється в динаміці; 2) зростання кількості грам-негативних бактерій (*Enterobacter cloacae*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumonia*, *Klebsiella mobilis* тощо) та (або) зменшення кількості грам-позитивних бактерій *Firmicutes*, до яких відносяться ентерококи та стафілококи.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Neu J, Walker WA. Necrotizing Enterocolitis. *N Engl J Med* [Internet]. 2011 Jan 20;364(3):255–64. doi:10.1056/NEJMra1005408
2. Samuels N, van de Graaf RA, de Jonge RCJ, Reiss IKM, Vermeulen MJ. Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: A systematic review of prognostic studies. *BMC Pediatr*. 2017;17(1):1–9. doi: 10.1186/s12887-017-0847-3
3. Patel RM, Kandefer S, Walsh MC, Bell EF, Carlo WA, Laptook AR, et al. Causes and Timing of Death in Extremely Premature Infants from 2000 through 2011. *N Engl J Med* [Internet]. 2015 Jan 22;372(4):331–40. doi: 10.1056/NEJMoa1403489
4. Stoll BJ, Hansen N, Fanaroff AA, Wright LL, Carlo WA, Ehrenkranz RA, et al. Late-Onset Sepsis in Very Low Birth Weight Neonates: The Experience of the NICHD Neonatal Research Network. *Pediatrics* [Internet]. 2002 Aug 1;110(2):285–91. doi: 10.1542/peds.110.2.285
5. Tsai M-H, Hsu J-F, Chu S-M, Lien R, Huang H-R, Chiang M-C, et al. Incidence, Clinical Characteristics and Risk Factors for Adverse Outcome in Neonates With Late-onset Sepsis. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2014 Jan;33(1):e7–13. doi: 10.1097/INF.0b013e3182a72ee0
6. Greenberg RG, Kandefer S, Do BT, Smith PB, Stoll BJ, Bell EF, et al. Late-onset Sepsis in Extremely Premature Infants: 2000-2011. *Pediatr Infect Dis J*. 2017;36(8):774–9. doi: 10.1097/INF.0000000000001570
7. Hickey M, Georgieff M, Ramel S. Neurodevelopmental outcomes following necrotizing enterocolitis. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2018 Dec;23(6):426–32. doi: 10.1016/j.siny.2018.08.005
8. Mara MA, Good M, Weitkamp J-H. Innate and adaptive immunity in necrotizing enterocolitis. *Semin Fetal Neonatal Med* [Internet]. 2018 Dec;23(6):394–9. doi: 10.1016/j.siny.2018.08.002.
9. Hackam DJ, Sodhi CP, Good M. New insights into necrotizing

enterocolitis: From laboratory observation to personalized prevention and treatment. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2019 Mar;54(3):398–404. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.06.012

10. Ma J, Prince AL, Bader D, Hu M, Ganu R, Baquero K, et al. High-fat maternal diet during pregnancy persistently alters the offspring microbiome in a primate model. *Nat Commun* [Internet]. 2014 May 20;5(1):3889. doi: 10.1038/ncomms4889

11. Persaud R, Azad MB, Konya T, Guttman DS, Chari RS, Sears MR, et al. Impact of perinatal antibiotic exposure on the infant gut microbiota at one year of age. *Immunology*. 2014;10(Suppl 1):2–3. doi: 10.1186/1710-1492-10-S1-A31

12. Ford SL, Lohmann P, Preidis GA, Gordon PS, Donnell AO, Hagan J. Improved feeding tolerance and growth are linked to increased gut microbial community diversity in very-low-birth-weight infants fed mother ' s own milk compared with donor breast milk. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2019;1088–97. doi: 10.1093/ajcn/nqz006

13. Gregory KE, Samuel BS, Houghteling P, Shan G, Ausubel FM, Sadreyev RI, et al. Influence of maternal breast milk ingestion on acquisition of the intestinal microbiome in preterm infants. *Microbiome* [Internet]. 2016 Dec 30;4(1):68. doi: 10.1186/s40168-016-0214-x

14. Korpela K, Blakstad EW, Moltu SJ, Strømmen K, Nakstad B, Rønnestad AE, et al. Intestinal microbiota development and gestational age in preterm neonates. *Sci Rep*. 2018;8(1):1–9. doi: 10.1038/s41598-018-20827-x

15. Embleton ND, Zalewski S, Berrington JE. Probiotics for prevention of necrotizing enterocolitis and sepsis in preterm infants. *Curr Opin Infect Dis* [Internet]. 2016 Jun;29(3):256–61. doi: 10.1097/QCO.0000000000000269

16. Legrand D. Overview of Lactoferrin as a Natural Immune Modulator. *J Pediatr* [Internet]. 2016 Jun;173:S10–5. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.071

17. Pammi M, Suresh G. Enteral lactoferrin supplementation for prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2020;2020(3). doi: 10.1002/14651858.CD007137.pub6

18. Siggers RH, Siggers J, Boye M, Thymann T, Mølbak L, Leser T, et al. Early Administration of Probiotics Alters Bacterial Colonization and Limits Diet-Induced Gut Dysfunction and Severity of Necrotizing Enterocolitis in Preterm Pigs. *J Nutr* [Internet]. 2008 Aug;138(8):1437–44. doi: 10.1093/jn/138.8.1437
19. van den Akker CHP, van Goudoever JB, Shamir R, Domellöf M, Embleton ND, Hojsak I, et al. Probiotics and Preterm Infants: A Position Paper by the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Committee on Nutrition and the European Society for Paediatric Gastroenterology Hepatology and Nutrition Working Group for Pr. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2020;70(5):664–80. doi: 10.1097/MPG.0000000000002655
20. Athalye-Jape G, Rao S, Patole S. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 as a Probiotic for Preterm Neonates. *J Parenter Enter Nutr* [Internet]. 2016 Aug 11;40(6):783–94. doi: 10.1177/0148607115588113
21. Shadkam MN, Jalalizadeh F, Nasiriani K. Effects of Probiotic *Lactobacillus Reuteri* (DSM 17938) on the Incidence of Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Premature Infants. 2015;(Dsm 17938):2–7. doi: 10.22038/IJN.2015.6143
22. Goldstein GP, Sylvester KG. Biomarker Discovery and Utility in Necrotizing Enterocolitis. *Clin Perinatol* [Internet]. 2019 Mar;46(1):1–17. doi: 10.1016/j.clp.2018.10.001
23. Aadland E, Fagerhol MK. Faecal calprotectin: a marker of inflammation throughout the intestinal tract. *Eur J Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2002 Aug;14(8):823–5. doi: 10.1097/00042737-200208000-00002
24. Chin AM, Hill DR, Aurora M, Spence JR. Morphogenesis and maturation of the embryonic and postnatal intestine. *Semin Cell Dev Biol* [Internet]. 2017 Jun;66:81–93. doi: 10.1016/j.semcdb.2017.01.011
25. Hackam DJ, Sodhi CP. Bench to bedside — new insights into the pathogenesis of necrotizing enterocolitis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2022 Jul 28;19(7):468–79. doi: 10.1038/s41575-022-00594-x
26. Cuna A, Morowitz MJ, Ahmed I, Umar S, Sampath V. Dynamics of the

preterm gut microbiome in health and disease. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2021 Apr 1;320(4):G411–9. doi: 10.1152/ajpgi.00399.2020

27. Commare CE, Tappenden KA. Development of the Infant Intestine: Implications for Nutrition Support. *Nutr Clin Pract* [Internet]. 2007 Apr;22(2):159–73. doi: 10.1177/0115426507022002159

28. Kelly EJ, Newell SJ, Brownlee KG, Primrose JN, Dear PRF. Gastric acid secretion in preterm infants. *Early Hum Dev* [Internet]. 1993 Dec;35(3):215–20. doi: 10.1016/0378-3782(93)90108-7

29. Neu J. Gastrointestinal development and meeting the nutritional needs of premature infants. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2007 Feb;85(2):629S-634S. doi: 10.1093/ajcn/85.2.629S

30. van Elburg RM. Intestinal permeability in relation to birth weight and gestational and postnatal age. *Arch Dis Child - Fetal Neonatal Ed* [Internet]. 2003 Jan 1;88(1):52F – 55. doi: 10.1136/fn.88.1.F52

31. Taylor SN, Basile LA, Ebeling M, Wagner CL. Intestinal Permeability in Preterm Infants by Feeding Type: Mother’s Milk Versus Formula. *Breastfeed Med* [Internet]. 2009 Mar;4(1):11–5. doi: 10.1089/bfm.2008.0114

32. Condino AA, Barleycorn AA, Lu W, Maheshwari A, Christensen RD, Calhoun DA. Abnormal Intestinal Histology in Neonates with Congenital Anomalies of the Gastrointestinal Tract. *Neonatology* [Internet]. 2004;85(3):145–50. doi: 10.1159/000075064

33. McCarthy N, Manieri E, Storm EE, Saadatpour A, Luoma AM, Kapoor VN, et al. Distinct Mesenchymal Cell Populations Generate the Essential Intestinal BMP Signaling Gradient. *Cell Stem Cell* [Internet]. 2020 Mar;26(3):391-402.e5. doi: 10.1016/j.stem.2020.01.008

34. Kwon O, Han T-S, Son M-Y. Intestinal Morphogenesis in Development, Regeneration, and Disease: The Potential Utility of Intestinal Organoids for Studying Compartmentalization of the Crypt-Villus Structure. *Front Cell Dev Biol* [Internet]. 2020 Oct 23;8. doi: 10.3389/fcell.2020.593969

35. Dasgupta S. Amniotic fluid: Source of trophic factors for the developing

intestine. *World J Gastrointest Pathophysiol* [Internet]. 2016;7(1):38. doi: 10.4291/wjgp.v7.i1.38

36. Snoeck V, Goddeeris B, Cox E. The role of enterocytes in the intestinal barrier function and antigen uptake. *Microbes Infect* [Internet]. 2005 Jun;7(7–8):997–1004. doi: 10.1016/j.micinf.2005.04.003

37. Furuse M. Molecular Basis of the Core Structure of Tight Junctions. *Cold Spring Harb Perspect Biol* [Internet]. 2010 Jan 1;2(1):a002907–a002907. doi: 10.1101/cshperspect.a002907

38. Suzuki T. Regulation of the intestinal barrier by nutrients: The role of tight junctions. *Anim Sci J* [Internet]. 2020 Jan 17;91(1). doi: 10.1111/asj.13357

39. Liu D, Xu Y, Feng J, Yu J, Huang J, Li Z. Mucins and Tight Junctions are Severely Altered in Necrotizing Enterocolitis Neonates. *Am J Perinatol* [Internet]. 2021 Sep 23;38(11):1174–80. doi: 10.1055/s-0040-1710558

40. Ravisankar S, Tatum R, Garg PM, Herco M, Shekhawat PS, Chen Y-H. Necrotizing enterocolitis leads to disruption of tight junctions and increase in gut permeability in a mouse model. *BMC Pediatr* [Internet]. 2018 Dec 27;18(1):372. doi: 10.1186/s12887-018-1346-x

41. Shifrin DA, McConnell RE, Nambiar R, Higginbotham JN, Coffey RJ, Tyska MJ. Enterocyte Microvillus-Derived Vesicles Detoxify Bacterial Products and Regulate Epithelial-Microbial Interactions. *Curr Biol* [Internet]. 2012 Apr;22(7):627–31. doi: 10.1016/j.cub.2012.02.022

42. Koyama I, Matsunaga T, Harada T, Hokari S, Komoda T. Alkaline phosphatases reduce toxicity of lipopolysaccharides in vivo and in vitro through dephosphorylation. *Clin Biochem* [Internet]. 2002 Sep;35(6):455–61. doi: 10.1016/S0009-9120(02)00330-2

43. Goldberg RF, Austen WG, Zhang X, Munene G, Mostafa G, Biswas S, et al. Intestinal alkaline phosphatase is a gut mucosal defense factor maintained by enteral nutrition. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2008 Mar 4;105(9):3551–6. doi: 10.1073/pnas.0712140105

44. Geddes K, Philpott DJ. A New Role for Intestinal Alkaline Phosphatase

in Gut Barrier Maintenance. *Gastroenterology* [Internet]. 2008 Jul;135(1):8–12. doi: 10.1053/j.gastro.2008.06.006.

45. Whitehouse JS, Riggle KM, Purpi DP, Mayer AN, Pritchard KA, Oldham KT, et al. The Protective Role of Intestinal Alkaline Phosphatase in Necrotizing Enterocolitis. *J Surg Res* [Internet]. 2010 Sep;163(1):79–85. doi: 10.1016/j.jss.2010.04.048

46. Heinzerling NP, Liedel JL, Welak SR, Fredrich K, Biesterveld BE, Pritchard KA, et al. Intestinal alkaline phosphatase is protective to the preterm rat pup intestine. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2014 Jun;49(6):954–60. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2014.01.031

47. Heida FH, Beyduz G, Bulthuis MLC, Kooi EMW, Bos AF, Timmer A, et al. Paneth cells in the developing gut: when do they arise and when are they immune competent? *Pediatr Res* [Internet]. 2016 Aug 6;80(2):306–10. doi: 10.1038/pr.2016.67

48. Sato T, van Es JH, Snippert HJ, Stange DE, Vries RG, van den Born M, et al. Paneth cells constitute the niche for Lgr5 stem cells in intestinal crypts. *Nature* [Internet]. 2011 Jan 28;469(7330):415–8. doi: 10.1038/nature09637

49. Mei X, Gu M, Li M. Plasticity of Paneth cells and their ability to regulate intestinal stem cells. *Stem Cell Res Ther* [Internet]. 2020 Dec 12;11(1):349. doi: 10.1186/s13287-020-01857-7

50. McElroy SJ, Weitkamp JH. Innate immunity in the small intestine of the preterm infant. *Neoreviews*. 2011;12(9). doi: 10.1542/neo.12-9-e517

51. Vaishnava S, Behrendt CL, Ismail AS, Eckmann L, Hooper L V. Paneth cells directly sense gut commensals and maintain homeostasis at the intestinal host-microbial interface. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2008 Dec 30;105(52):20858–63. doi: 10.1073/pnas.0808723105

52. Dommett R, Zilbauer M, George JT, Bajaj-Elliott M. Innate immune defence in the human gastrointestinal tract. *Mol Immunol* [Internet]. 2005 May;42(8):903–12. doi: 10.1016/j.molimm.2004.12.004

53. Lueschow SR, McElroy SJ. The Paneth Cell: The Curator and Defender

of the Immature Small Intestine. *Front Immunol* [Internet]. 2020 Apr 3;11. doi: 10.3389/fimmu.2020.00587

54. Sehgal A, Donaldson DS, Pridans C, Sauter KA, Hume DA, Mabbott NA. The role of CSF1R-dependent macrophages in control of the intestinal stem-cell niche. *Nat Commun* [Internet]. 2018 Mar 28;9(1):1272. doi: 10.1038/s41467-018-03638-6

55. Yang S, Yu M. Role of Goblet Cells in Intestinal Barrier and Mucosal Immunity. *J Inflamm Res* [Internet]. 2021 Jul;Volume 14:3171–83. doi: 10.2147/JIR.S318327

56. Chaaban H, Patel MM, Burge K, Eckert J V., Lupu C, Keshari RS, et al. Early Antibiotic Exposure Alters Intestinal Development and Increases Susceptibility to Necrotizing Enterocolitis: A Mechanistic Study. *Microorganisms* [Internet]. 2022 Feb 27;10(3):519. doi: 10.3390/microorganisms10030519

57. Knoop KA, Coughlin PE, Floyd AN, Ndao IM, Hall-Moore C, Shaikh N, et al. Maternal activation of the EGFR prevents translocation of gut-residing pathogenic *Escherichia coli* in a model of late-onset neonatal sepsis. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2020 Apr 7;117(14):7941–9. doi: 10.1073/pnas.1912022117

58. Woźniak D, Cichy W, Przysławski J, Drzymała-Czyż S. The role of microbiota and enteroendocrine cells in maintaining homeostasis in the human digestive tract. *Adv Med Sci* [Internet]. 2021 Sep;66(2):284–92. doi: 10.1016/j.advms.2021.05.003

59. Bogunovic M, Davé SH, Tilstra JS, Chang DTW, Harpaz N, Xiong H, et al. Enteroendocrine cells express functional Toll-like receptors. *Am J Physiol Liver Physiol* [Internet]. 2007 Jun;292(6):G1770–83. doi: 10.1152/ajpgi.00249.2006

60. Gribble FM. The gut endocrine system as a coordinator of postprandial nutrient homeostasis. *Proc Nutr Soc* [Internet]. 2012 Nov 21;71(4):456–62. doi: 10.1017/S0029665112000705

61. Palazzo M, Balsari A, Rossini A, Selleri S, Calcaterra C, Gariboldi S, et al. Activation of Enteroendocrine Cells via TLRs Induces Hormone, Chemokine, and Defensin Secretion. *J Immunol* [Internet]. 2007 Apr 1;178(7):4296–303. doi:

10.4049/jimmunol.178.7.4296

62. Li B, Lee C, Cadete M, Zhu H, Koike Y, Hock A, et al. Impaired Wnt/ β -catenin pathway leads to dysfunction of intestinal regeneration during necrotizing enterocolitis. *Cell Death Dis* [Internet]. 2019 Oct 3;10(10):743. doi: 10.1038/s41419-019-1987-1

63. Neal MD, Sodhi CP, Jia H, Dyer M, Egan CE, Yazji I, et al. Toll-like Receptor 4 Is Expressed on Intestinal Stem Cells and Regulates Their Proliferation and Apoptosis via the p53 Up-regulated Modulator of Apoptosis. *J Biol Chem* [Internet]. 2012 Oct;287(44):37296–308. doi: 10.1074/jbc.M112.375881

64. Thaïss CA, Zmora N, Levy M, Elinav E. The microbiome and innate immunity. *Nature* [Internet]. 2016 Jul 7;535(7610):65–74. doi: 10.1038/nature18847

65. Lim ES, Wang D, Holtz LR. The Bacterial Microbiome and Virome Milestones of Infant Development. *Trends Microbiol* [Internet]. 2016 Oct;24(10):801–10. doi: 10.1016/j.tim.2016.06.001

66. Willyard C. Could baby's first bacteria take root before birth? *Nature* [Internet]. 2018 Jan 17;553(7688):264–6. doi: 10.1038/d41586-018-00664-8

67. Johansson ME V., Sjövall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2013 Jun 12;10(6):352–61. doi: 10.1038/nrgastro.2013.35

68. Stange EF, Schroeder BO. Microbiota and mucosal defense in IBD: an update. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2019 Oct 3;13(10):963–76. doi: 10.1080/17474124.2019.1671822

69. Paone P, Cani PD. Mucus barrier, mucins and gut microbiota: the expected slimy partners? *Gut* [Internet]. 2020 Dec;69(12):2232–43. doi: 10.1136/gutjnl-2020-322260

70. Vancamelbeke M, Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2017 Sep 2;11(9):821–34. doi: 10.1080/17474124.2017.1343143

71. Jain N, Walker WA. Diet and host–microbial crosstalk in postnatal

intestinal immune homeostasis. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2015 Jan 9;12(1):14–25. doi: 10.1038/nrgastro.2014.153

72. Groschwitz KR, Hogan SP. Intestinal barrier function: Molecular regulation and disease pathogenesis. *J Allergy Clin Immunol* [Internet]. 2009 Jul;124(1):3–20. doi: 10.1016/j.jaci.2009.05.038

73. Geremia A, Biancheri P, Allan P, Corazza GR, Di Sabatino A. Innate and adaptive immunity in inflammatory bowel disease. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2014 Jan;13(1):3–10. doi: 10.1016/j.autrev.2013.06.004

74. Iliodromiti Z, Anastasiadis A, Varras M, Pappa KI, Siristatidis C, Bakoulas V, et al. Monocyte Function in the Fetus and the Preterm Neonate: Immaturity Combined with Functional Impairment. *Mediators Inflamm* [Internet]. 2013;2013:1–5. doi: 10.1155/2013/753752

75. Berrington JE, Barge D, Fenton AC, Cant AJ, Spickett GP. Lymphocyte subsets in term and significantly preterm UK infants in the first year of life analysed by single platform flow cytometry. *Clin Exp Immunol* [Internet]. 2005 Mar 30;140(2):289–92. doi: 10.1111/j.1365-2249.2005.02767.x

76. Zhou P, Chen R, Zou C-Y, Zhang M, Chen Z-H, Ma L-Y. Effect of perinatal factors on postnatal development of lymphocyte subsets in early preterm infants. *Zhongguo Dang Dai Er Ke Za Zhi* [Internet]. 2016 Oct;18(10):953–9. doi: 10.7499/j.issn.1008-8830.2016.10.007

77. Currie AJ, Curtis S, Strunk T, Riley K, Liyanage K, Prescott S, et al. Preterm Infants Have Deficient Monocyte and Lymphocyte Cytokine Responses to Group B Streptococcus. Weiser JN, editor. *Infect Immun* [Internet]. 2011 Apr;79(4):1588–96. doi: 10.1128/IAI.00535-10

78. Kawai T, Akira S. The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: update on Toll-like receptors. *Nat Immunol* [Internet]. 2010 May 20;11(5):373–84. doi: 10.1038/ni.1863

79. Fusunyan RD, Nanthakumar NN, Baldeon ME, Walker WA. Evidence for an Innate Immune Response in the Immature Human Intestine: Toll-Like Receptors on Fetal Enterocytes. *Pediatr Res* [Internet]. 2001 Apr;49(4):589–93. doi:

10.1203/00006450-200104000-00023

80. Nanthakumar N, Meng D, Goldstein AM, Zhu W, Lu L, Uauy R, et al. The Mechanism of Excessive Intestinal Inflammation in Necrotizing Enterocolitis: An Immature Innate Immune Response. Neu J, editor. PLoS One [Internet]. 2011 Mar 21;6(3):e17776. doi: 10.1371/journal.pone.0017776

81. Neal MD, Sodhi CP, Dyer M, Craig BT, Good M, Jia H, et al. A Critical Role for TLR4 Induction of Autophagy in the Regulation of Enterocyte Migration and the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. J Immunol [Internet]. 2013 Apr 1;190(7):3541–51. doi: 10.4049/jimmunol.1202264

82. Afrazi A, Branca MF, Sodhi CP, Good M, Yamaguchi Y, Egan CE, et al. Toll-like Receptor 4-mediated Endoplasmic Reticulum Stress in Intestinal Crypts Induces Necrotizing Enterocolitis. J Biol Chem [Internet]. 2014 Apr;289(14):9584–99. doi: 10.1074/jbc.M113.526517

83. Egan CE, Sodhi CP, Good M, Lin J, Jia H, Yamaguchi Y, et al. Toll-like receptor 4-mediated lymphocyte influx induces neonatal necrotizing enterocolitis. J Clin Invest [Internet]. 2015 Dec 21;126(2):495–508. doi: 10.1172/JCI83356

84. Good M, Sodhi CP, Yamaguchi Y, Jia H, Lu P, Fulton WB, et al. The human milk oligosaccharide 2'-fucosyllactose attenuates the severity of experimental necrotising enterocolitis by enhancing mesenteric perfusion in the neonatal intestine. Br J Nutr [Internet]. 2016 Oct 14;116(7):1175–87. doi: 10.1017/S0007114516002944

85. Gribar SC, Sodhi CP, Richardson WM, Anand RJ, Gittes GK, Branca MF, et al. Reciprocal Expression and Signaling of TLR4 and TLR9 in the Pathogenesis and Treatment of Necrotizing Enterocolitis. J Immunol [Internet]. 2009 Jan 1;182(1):636–46. doi: 10.4049/jimmunol.182.1.636

86. Yu S, Gao N. Compartmentalizing intestinal epithelial cell toll-like receptors for immune surveillance. Cell Mol Life Sci [Internet]. 2015 Sep 23;72(17):3343–53. doi: 10.1007/s00018-015-1931-1

87. Leaphart CL, Cavallo J, Gribar SC, Cetin S, Li J, Branca MF, et al. A Critical Role for TLR4 in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis by

Modulating Intestinal Injury and Repair. *J Immunol* [Internet]. 2007 Oct 1;179(7):4808–20. doi: 10.4049/jimmunol.179.7.4808

88. Yazji I, Sodhi CP, Lee EK, Good M, Egan CE, Afrazi A, et al. Endothelial TLR4 activation impairs intestinal microcirculatory perfusion in necrotizing enterocolitis via eNOS–NO–nitrite signaling. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2013 Jun 4;110(23):9451–6. doi: 10.1073/pnas.1219997110

89. Sampath V, Menden H, Helbling D, Li K, Gastonguay A, Ramchandran R, et al. SIGIRR Genetic Variants in Premature Infants With Necrotizing Enterocolitis. *Pediatrics* [Internet]. 2015 Jun 1;135(6):e1530–4. doi: 10.1542/peds.2014-3386

90. Cuna A, Sampath V. Genetic alterations in necrotizing enterocolitis. *Semin Perinatol* [Internet]. 2017 Feb;41(1):61–9. doi: 10.1053/j.semperi.2016.09.019

91. Sampath V, Le M, Lane L, Patel AL, Cohen JD, Simpson PM, et al. The NFKB1 (g.-24519delATTG) Variant is Associated with Necrotizing Enterocolitis (NEC) in Premature Infants. *J Surg Res* [Internet]. 2011 Jul;169(1):e51–7. doi: 10.1016/j.jss.2011.03.017

92. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder J-M. A peptide antibiotic from human skin. *Nature* [Internet]. 1997 Jun;387(6636):861–861. doi: 10.1038/43088

93. Harder J, Bartels J, Christophers E, Schröder J-M. Isolation and Characterization of Human μ -Defensin-3, a Novel Human Inducible Peptide Antibiotic. *J Biol Chem* [Internet]. 2001 Feb;276(8):5707–13. doi: 10.1074/jbc.M008557200

94. Valore E V, Park CH, Quayle AJ, Wiles KR, McCray PB, Ganz T. Human beta-defensin-1: an antimicrobial peptide of urogenital tissues. *J Clin Invest* [Internet]. 1998 Apr 15;101(8):1633–42. doi: 10.1172/JCI1861

95. Ganz T. Defensins: antimicrobial peptides of innate immunity. *Nat Rev Immunol* [Internet]. 2003 Sep;3(9):710–20. doi: 10.1038/nri1180

96. Van Belkum M, Mendoza Alvarez L, Neu J. Preterm neonatal

immunology at the intestinal interface. *Cell Mol Life Sci* [Internet]. 2020 Apr 1;77(7):1209–27. doi: 10.1007/s00018-019-03316-w

97. Gribar SC, Richardson WM, Sodhi CP, Hackam DJ. No Longer an Innocent Bystander: Epithelial Toll-Like Receptor Signaling in the Development of Mucosal Inflammation. *Mol Med* [Internet]. 2008 Sep 17;14(9–10):645–59. doi: 10.2119/2008-00035.Gribar

98. Sodhi CP, Neal MD, Siggers R, Sho S, Ma C, Branca MF, et al. Intestinal Epithelial Toll-Like Receptor 4 Regulates Goblet Cell Development and Is Required for Necrotizing Enterocolitis in Mice. *Gastroenterology* [Internet]. 2012 Sep;143(3):708-718.e5. doi: 10.1053/j.gastro.2012.05.053

99. Hackam DJ, Sodhi CP. Toll-Like Receptor–Mediated Intestinal Inflammatory Imbalance in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Cell Mol Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2018;6(2):229-238.e1. doi: 10.1016/j.jcmgh.2018.04.001

100. Niño DF, Sodhi CP, Hackam DJ. Necrotizing enterocolitis: new insights into pathogenesis and mechanisms. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol* [Internet]. 2016 Oct 18;13(10):590–600. doi: 10.1038/nrgastro.2016.119

101. Lotz M, Gütle D, Walther S, Ménard S, Bogdan C, Hornef MW. Postnatal acquisition of endotoxin tolerance in intestinal epithelial cells. *J Exp Med* [Internet]. 2006 Apr 17;203(4):973–84. doi: 10.1084/jem.20050625

102. Tamburini S, Shen N, Wu HC, Clemente JC. The microbiome in early life: implications for health outcomes. *Nat Med* [Internet]. 2016 Jul 7;22(7):713–22. doi: 10.1038/nm.4142

103. Sampah MES, Hackam DJ. Dysregulated Mucosal Immunity and Associated Pathogeneses in Preterm Neonates. *Front Immunol* [Internet]. 2020 May 15;11. doi: 10.3389/fimmu.2020.00899

104. Goldenberg RL, Culhane JF, Iams JD, Romero R. Epidemiology and causes of preterm birth. *Lancet* [Internet]. 2008 Jan;371(9606):75–84. doi: 10.1016/S0140-6736(08)60074-4

105. Rutayisire E, Huang K, Liu Y, Tao F. The mode of delivery affects the

diversity and colonization pattern of the gut microbiota during the first year of infants' life: a systematic review. *BMC Gastroenterol* [Internet]. 2016 Dec 30;16(1):86. doi: 10.1186/s12876-016-0498-0

106. Collado MC, Cernada M, Neu J, Pérez-Martínez G, Gormaz M, Vento M. Factors influencing gastrointestinal tract and microbiota immune interaction in preterm infants. *Pediatr Res* [Internet]. 2015 Jun 11;77(6):726–31. doi: 10.1038/pr.2015.54

107. Chu DM, Antony KM, Ma J, Prince AL, Showalter L, Moller M, et al. The early infant gut microbiome varies in association with a maternal high-fat diet. *Genome Med* [Internet]. 2016 Dec 9;8(1):77. doi: 10.1186/s13073-016-0330-z

108. Lundgren SN, Madan JC, Emond JA, Morrison HG, Christensen BC, Karagas MR, et al. Maternal diet during pregnancy is related with the infant stool microbiome in a delivery mode-dependent manner. *Microbiome* [Internet]. 2018 Dec 5;6(1):109. doi: 10.1186/s40168-018-0490-8

109. Puri K, Taft DH, Ambalavanan N, Schibler KR, Morrow AL, Kallapur SG. Association of Chorioamnionitis with Aberrant Neonatal Gut Colonization and Adverse Clinical Outcomes. Iturriza-Gómara M, editor. *PLoS One* [Internet]. 2016 Sep 22;11(9):e0162734. doi: 10.1371/journal.pone.0162734

110. Nogacka A, Salazar N, Suárez M, Milani C, Arboleya S, Solís G, et al. Impact of intrapartum antimicrobial prophylaxis upon the intestinal microbiota and the prevalence of antibiotic resistance genes in vaginally delivered full-term neonates. *Microbiome* [Internet]. 2017 Dec 8;5(1):93. doi: 10.1186/s40168-017-0313-3

111. Corvaglia L, Tonti G, Martini S, Aceti A, Mazzola G, Aloisio I, et al. Influence of Intrapartum Antibiotic Prophylaxis for Group B Streptococcus on Gut Microbiota in the First Month of Life. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2016 Feb;62(2):304–8. doi: 10.1097/MPG.0000000000000928

112. Coker M, Hoen A, Dade E, Lundgren S, Li Z, Wong A, et al. Specific class of intrapartum antibiotics relates to maturation of the infant gut microbiota: a prospective cohort study. *BJOG An Int J Obstet Gynaecol* [Internet]. 2020 Jan

5;127(2):217–27. doi: 10.1111/1471-0528.15799

113. Dominguez-Bello MG, Costello EK, Contreras M, Magris M, Hidalgo G, Fierer N, et al. Delivery mode shapes the acquisition and structure of the initial microbiota across multiple body habitats in newborns. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2010 Jun 29;107(26):11971–5. doi: 10.1073/pnas.1002601107

114. Chu DM, Ma J, Prince AL, Antony KM, Seferovic MD, Aagaard KM. Maturation of the infant microbiome community structure and function across multiple body sites and in relation to mode of delivery. *Nat Med* [Internet]. 2017 Mar 23;23(3):314–26. doi: 10.1038/nm.4272

115. Esaiassen E, Fjalstad JW, Juvet LK, van den Anker JN, Klingenberg C. Antibiotic exposure in neonates and early adverse outcomes: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* [Internet]. 2017 Jul;72(7):1858–70. doi: 10.1093/jac/dkx088

116. Stewart CJ, Embleton ND, Marrs ECL, Smith DP, Fofanova T, Nelson A, et al. Longitudinal development of the gut microbiome and metabolome in preterm neonates with late onset sepsis and healthy controls. *Microbiome* [Internet]. 2017 Dec 12;5(1):75. doi: 10.1186/s40168-017-0295-1

117. Fouhy F, Guinane CM, Hussey S, Wall R, Ryan CA, Dempsey EM, et al. High-Throughput Sequencing Reveals the Incomplete, Short-Term Recovery of Infant Gut Microbiota following Parenteral Antibiotic Treatment with Ampicillin and Gentamicin. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2012 Nov;56(11):5811–20. doi: 10.1128/AAC.00789-12

118. Gibson MK, Wang B, Ahmadi S, Burnham C-AD, Tarr PI, Warner BB, et al. Developmental dynamics of the preterm infant gut microbiota and antibiotic resistome. *Nat Microbiol* [Internet]. 2016 Mar 7;1(4):16024. doi: 10.1038/nmicrobiol.2016.24

119. Zwittink RD, van Zoeren-Grobbe D, Renes IB, van Lingen RA, Norbruis OF, Martin R, et al. Dynamics of the bacterial gut microbiota in preterm and term infants after intravenous amoxicillin/ceftazidime treatment. *BMC Pediatr* [Internet]. 2020 Dec 7;20(1):195. doi: 10.1186/s12887-020-02067-z

120. Xu W, Judge MP, Maas K, Hussain N, McGrath JM, Henderson WA, et al. Systematic Review of the Effect of Enteral Feeding on Gut Microbiota in Preterm Infants. *J Obstet Gynecol Neonatal Nurs* [Internet]. 2018 May;47(3):451–63. doi: 10.1016/j.jogn.2017.08.009

121. Bäckhed F, Roswall J, Peng Y, Feng Q, Jia H, Kovatcheva-Datchary P, et al. Dynamics and Stabilization of the Human Gut Microbiome during the First Year of Life. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2015 May;17(5):690–703. doi: 10.1016/j.chom.2015.04.004

122. Hill CJ, Lynch DB, Murphy K, Ulaszewska M, Jeffery IB, O’Shea CA, et al. Evolution of gut microbiota composition from birth to 24 weeks in the INFANTMET Cohort. *Microbiome* [Internet]. 2017 Dec 17;5(1):4. doi: 10.1186/s40168-016-0213-y

123. Shao Y, Forster SC, Tsaliki E, Vervier K, Strang A, Simpson N, et al. Stunted microbiota and opportunistic pathogen colonization in caesarean-section birth. *Nature* [Internet]. 2019 Oct 3;574(7776):117–21. doi: 10.1038/s41586-019-1560-1

124. Fehr K, Moossavi S, Sbihi H, Boutin RCT, Bode L, Robertson B, et al. Breastmilk Feeding Practices Are Associated with the Co-Occurrence of Bacteria in Mothers’ Milk and the Infant Gut: the CHILD Cohort Study. *Cell Host Microbe* [Internet]. 2020 Aug;28(2):285-297.e4. doi: 10.1016/j.chom.2020.06.009

125. Healy DB, Ryan CA, Ross RP, Stanton C, Dempsey EM. Clinical implications of preterm infant gut microbiome development. *Nat Microbiol* [Internet]. 2021 Dec 23;7(1):22–33. doi: 10.1038/s41564-021-01025-4

126. Rao C, Coyte KZ, Bainter W, Geha RS, Martin CR, Rakoff-Nahoum S. Multi-kingdom ecological drivers of microbiota assembly in preterm infants. *Nature* [Internet]. 2021 Mar 25;591(7851):633–8. doi: 10.1038/s41586-021-03241-8

127. Drell T, Lutsar I, Štšepetova J, Parm Ü, Metsvaht T, Ilmoja M-L, et al. The development of gut microbiota in critically ill extremely low birth weight infants assessed with 16S rRNA gene based sequencing. *Gut Microbes* [Internet]. 2014 May 10;5(3):304–503. doi: 10.4161/gmic.28849

128. Gregory KE, Walker WA. Immunologic Factors in Human Milk and Disease Prevention in the Preterm Infant. *Curr Pediatr Rep* [Internet]. 2013 Dec 26;1(4):222–8. doi: 10.1007/s40124-013-0028-2
129. Moro GE, Arslanoglu S, Bertino E, Corvaglia L, Montirosso R, Picaud J-C, et al. XII. Human Milk in Feeding Premature Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2015 Sep;61:S16–9. doi: 10.1097/01.mpg.0000471460.08792.4d
130. Haiden N, Ziegler EE. Human Milk Banking. *Ann Nutr Metab* [Internet]. 2016;69(Suppl. 2):7–15. doi: 10.1159/000452821
131. Jain L, Vidyasagar D, Xanthou M, Ghai V, Shimada S, Blend M. In vivo distribution of human milk leucocytes after ingestion by newborn baboons. *Arch Dis Child* [Internet]. 1989 Jul 1;64(7 Spec No):930–3. doi: 10.1136/adc.64.7_Spec_No.930
132. Ewaschuk JB, Unger S, O'Connor DL, Stone D, Harvey S, Clandinin MT, et al. Effect of pasteurization on selected immune components of donated human breast milk. *J Perinatol* [Internet]. 2011 Sep 17;31(9):593–8. doi: 10.1038/jp.2010.209
133. Contador R, Delgado-Adámez J, Delgado FJ, Cava R, Ramírez R. Effect of thermal pasteurisation or high pressure processing on immunoglobulin and leukocyte contents of human milk. *Int Dairy J* [Internet]. 2013 Sep;32(1):1–5. doi: 10.1016/j.idairyj.2013.03.006
134. Goelz R, Hihn E, Hamprecht K, Dietz K, Jahn G, Poets C, et al. Effects of Different CMV-Heat-Inactivation-Methods on Growth Factors in Human Breast Milk. *Pediatr Res* [Internet]. 2009 Apr;65(4):458–61. doi: 10.1203/PDR.0b013e3181991f18
135. Untalan PB, Keeney SE, Palkowetz KH, Rivera A, Goldman AS. Heat Susceptibility of Interleukin-10 and Other Cytokines in Donor Human Milk. *Breastfeed Med* [Internet]. 2009 Sep;4(3):137–44. doi: 10.1089/bfm.2008.0145
136. Bertino E, Coppa GV, Giuliani F, Coscia A, Gabrielli O, Sabatino G, et al. Effects of Holder Pasteurization on Human Milk Oligosaccharides. *Int J Immunopathol Pharmacol* [Internet]. 2008 Apr;21(2):381–5. doi:

10.1177/039463200802100216

137. Delgado FJ, Cava R, Delgado J, Ramírez R. Tocopherols, fatty acids and cytokines content of holder pasteurised and high-pressure processed human milk. *Dairy Sci Technol* [Internet]. 2014 Mar 4;94(2):145–56. doi: 10.1007/s13594-013-0149-y

138. Lönnerdal B. Nutritional and physiologic significance of human milk proteins. *Am J Clin Nutr* [Internet]. 2003 Jun 1;77(6):1537S-1543S. doi: 10.1093/ajcn/77.6.1537S

139. Peila C, Moro G, Bertino E, Cavallarín L, Giribaldi M, Giuliani F, et al. The Effect of Holder Pasteurization on Nutrients and Biologically-Active Components in Donor Human Milk: A Review. *Nutrients* [Internet]. 2016 Aug 2;8(8):477. doi: 10.3390/nu8080477

140. Henderson G, Anthony M, McGuire W. Formula milk versus term human milk for feeding preterm or low birth weight infants. In: Henderson G, editor. *The Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2001. doi: 10.1002/14651858.CD002971

141. Miller J, Tonkin E, Damarell R, McPhee A, Sukanuma M, Sukanuma H, et al. A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Milk Feeding and Morbidity in Very Low Birth Weight Infants. *Nutrients* [Internet]. 2018 May 31;10(6):707. doi: 10.3390/nu10060707

142. Cañizo Vázquez D, Salas García S, Izquierdo Renau M, Iglesias-Platas I. Availability of Donor Milk for Very Preterm Infants Decreased the Risk of Necrotizing Enterocolitis without Adversely Impacting Growth or Rates of Breastfeeding. *Nutrients* [Internet]. 2019 Aug 14;11(8):1895. doi: 10.3390/nu11081895

143. Moles L, Manzano S, Fernández L, Montilla A, Corzo N, Ares S, et al. Bacteriological, Biochemical, and Immunological Properties of Colostrum and Mature Milk From Mothers of Extremely Preterm Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2015 Jan;60(1):120–6. doi: 10.1097/MPG.0000000000000560

144. Araújo ED, Gonçalves AK, Cornetta M da C, Cunha H, Cardoso ML,

Morais SS, et al. Evaluation of the secretory immunoglobulin A levels in the colostrum and milk of mothers of term and pre-term newborns. *Braz J Infect Dis* [Internet]. 2005 Oct;9(5):357–62. doi: S1413-86702005000500002

145. Rodriguez NA, Meier PP, Groer MW, Zeller JM. Oropharyngeal administration of colostrum to extremely low birth weight infants: theoretical perspectives. *J Perinatol* [Internet]. 2009 Jan 4;29(1):1–7. doi: 10.1038/jp.2008.130

146. Nasuf AWA, Ojha S, Dorling J. Oropharyngeal colostrum in preventing mortality and morbidity in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev*. 2018;2018(9). doi: 10.1002/14651858.CD011921.pub2

147. Martín-Álvarez E, Diaz-Castro J, Peña-Caballero M, Serrano-López L, Moreno-Fernández J, Sánchez-Martínez B, et al. Oropharyngeal Colostrum Positively Modulates the Inflammatory Response in Preterm Neonates. *Nutrients* [Internet]. 2020 Feb 5;12(2):413. doi: 10.3390/nu12020413

148. Foster JP, Seth R, Cole MJ. Oral immunoglobulin for preventing necrotizing enterocolitis in preterm and low birth weight neonates. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2016 Apr 4; doi:10.1002/14651858.CD001816.pub3

149. Ohlsson A, Lacy JB. Intravenous immunoglobulin for preventing infection in preterm and/or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2020 Jan 29; doi:10.1002/14651858.CD000361.pub4

150. Pammi M, Suresh G. Enteral lactoferrin supplementation for prevention of sepsis and necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2017 Jun 28; doi:10.1002/14651858.CD007137.pub5

151. Griffiths J, Jenkins P, Vargova M, Bowler U, Juszczak E, King A, et al. Enteral lactoferrin supplementation for very preterm infants: a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*. 2019;393(10170):423–33. doi: 10.1016/S0140-6736(18)32221-9

152. Tarnow-Mordi WO, Abdel-Latif ME, Martin A, Pammi M, Robledo K, Manzoni P, et al. The effect of lactoferrin supplementation on death or major morbidity in very low birthweight infants (LIFT): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Child Adolesc Heal*. 2020;4(6):444–54. doi:

10.1016/S2352-4642(20)30093-6

153. Manzoni P, Militello MA, Rizzollo S, Tavella E, Messina A, Pieretto M, et al. Is Lactoferrin More Effective in Reducing Late-Onset Sepsis in Preterm Neonates Fed Formula Than in Those Receiving Mother's Own Milk? Secondary Analyses of Two Multicenter Randomized Controlled Trials. *Am J Perinatol* [Internet]. 2019 Jul 25;36(S 02):S120–5. doi:10.1055/s-0039-1691807

154. Dermyshe E, Wang Y, Yan C, Hong W, Qiu G, Gong X, et al. The “Golden Age” of Probiotics: A Systematic Review and Meta-Analysis of Randomized and Observational Studies in Preterm Infants. *Neonatology* [Internet]. 2017;112(1):9–23. doi: 10.1159/000454668

155. Costa RL, Moreira J, Lorenzo A, Lamas CC. Infectious complications following probiotic ingestion: a potentially underestimated problem? A systematic review of reports and case series. *BMC Complement Altern Med* [Internet]. 2018 Dec 12;18(1):329. doi: 10.1186/s12906-018-2394-3

156. Sharma P, Tomar SK, Goswami P, Sangwan V, Singh R. Antibiotic resistance among commercially available probiotics. *Food Res Int* [Internet]. 2014 Mar;57:176–95. doi: 10.1016/j.foodres.2014.01.025

157. Sharif S, Meader N, Oddie SJ, Rojas-Reyes MX, McGuire W. Probiotics to prevent necrotising enterocolitis in very preterm or very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2020 Oct 15. doi: 10.1002/14651858.CD005496.pub5

158. Watson D, O'Connell Motherway M, Schoterman MHC, van Neerven RJJ, Nauta A, van Sinderen D. Selective carbohydrate utilization by lactobacilli and bifidobacteria. *J Appl Microbiol* [Internet]. 2013 Apr;114(4):1132–46. doi: 10.1111/jam.12105

159. Shoaf K, Mulvey GL, Armstrong GD, Hutkins RW. Prebiotic Galactooligosaccharides Reduce Adherence of Enteropathogenic *Escherichia coli* to Tissue Culture Cells. *Infect Immun* [Internet]. 2006 Dec;74(12):6920–8. doi: 10.1128/IAI.01030-06

160. Vogt LM, Meyer D, Pullens G, Faas MM, Venema K, Ramasamy U, et al.

Toll-Like Receptor 2 Activation by β 2 \rightarrow 1-Fructans Protects Barrier Function of T84 Human Intestinal Epithelial Cells in a Chain Length-Dependent Manner. *J Nutr* [Internet]. 2014 Jul 1;144(7):1002–8. doi: 10.3945/jn.114.191643

161. Chi C, Buys N, Li C, Sun J, Yin C. Effects of prebiotics on sepsis, necrotizing enterocolitis, mortality, feeding intolerance, time to full enteral feeding, length of hospital stay, and stool frequency in preterm infants: a meta-analysis. *Eur J Clin Nutr* [Internet]. 2019 May 19;73(5):657–70. doi: 10.1038/s41430-018-0377-6

162. Dahl C, Stigum H, Valeur J, Iszatt N, Lenters V, Peddada S, et al. Preterm infants have distinct microbiomes not explained by mode of delivery, breastfeeding duration or antibiotic exposure. *Int J Epidemiol* [Internet]. 2018 Oct 1;47(5):1658–69. doi: 10.1093/ije/dyy064

163. Jantscher-Krenn E, Zharebtsov M, Nissan C, Goth K, Guner YS, Naidu N, et al. The human milk oligosaccharide disialyllacto-N-tetraose prevents necrotising enterocolitis in neonatal rats. *Gut* [Internet]. 2012 Oct;61(10):1417–25. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301404

164. Bode L. Human milk oligosaccharides in the prevention of necrotizing enterocolitis: A journey from in vitro and in vivo models to mother-infant cohort studies. *Front Pediatr*. 2018;6(December):1–9. doi: 10.3389/fped.2018.00385

165. Van Niekerk E, Autran CA, Nel DG, Kirsten GF, Blaauw R, Bode L. Human Milk Oligosaccharides Differ between HIV-Infected and HIV-Uninfected Mothers and Are Related to Necrotizing Enterocolitis Incidence in Their Preterm Very-Low-Birth-Weight Infants. *J Nutr* [Internet]. 2014 Aug 1;144(8):1227–33. doi: 10.3945/jn.113.187799

166. Salas AA, Kabani N, Travers CP, Phillips V, Ambalavanan N, Carlo WA. Short versus Extended Duration of Trophic Feeding to Reduce Time to Achieve Full Enteral Feeding in Extremely Preterm Infants: An Observational Study. *Neonatology* [Internet]. 2017;112(3):211–6. doi: 10.1159/000472247

167. Abbott J, Berrington J, Bowler U, Boyle E, Dorling J, Embleton N, et al. The Speed of Increasing milk Feeds: a randomised controlled trial. *BMC Pediatr*

[Internet]. 2017 Dec 28;17(1):39. doi: 10.1186/s12887-017-0794-z

168. Добрянський Д.О, Добрик Д.С. Можливості та перспективи імунного харчування передчасно народжених немовлят. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2021; 11(1(39)): 39–47. doi: 10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.6

169. Modi, N., Doré, C. J., Saraswatula, A., Richards, M., Bamford, K. B., Coello, R., & Holmes, A. A case definition for national and international neonatal bloodstream infection surveillance. *Archives of disease in childhood*. 2009; 94(1); 8–12. doi: 10.1136/adc.2007.126458

170. Kliegman RM, Walsh MC. Neonatal necrotizing enterocolitis: Pathogenesis, classification, and spectrum of illness. *Curr Probl Pediatr* [Internet]. 1987 Apr;17(4):219–88. doi: 10.1016/0045-9380(87)90031-4

171. Moore TA, Wilson ME. Feeding Intolerance. *Adv Neonatal Care* [Internet]. 2011 Jun;11(3):149–54. doi: 10.1097/ANC.0b013e31821ba28e

172. Papile L-A, Burstein J, Burstein R, Koffler H. Incidence and evolution of subependymal and intraventricular hemorrhage: A study of infants with birth weights less than 1,500 gm. *J Pediatr* [Internet]. 1978 Apr;92(4):529–34. doi: 10.1016/S0022-3476(78)80282-0

173. Jensen EA, Dysart K, Gantz MG, McDonald S, Bamat NA, Keszler M, et al. The Diagnosis of Bronchopulmonary Dysplasia in Very Preterm Infants. An Evidence-based Approach. *Am J Respir Crit Care Med* [Internet]. 2019 Sep 15;200(6):751–9. doi: 10.1164/rccm.201812-2348OC

174. Chiang MF, Quinn GE, Fielder AR, Ostmo SR, Paul Chan RV, Berrocal A, et al. International Classification of Retinopathy of Prematurity, Third Edition. *Ophthalmology* [Internet]. 2021 Oct;128(10):e51–68. doi: 10.1016/j.ophtha.2021.05.031

175. Dobryk D.S., Dobryanskyu D.O. Fecal calprotectin, lactoferrin and morbidity associated with immature digestive tract in preterm infants. *Modern Pediatrics. Ukraine*. 2022; 7(127): 38–45. doi: 10.15574/SP.2022.127.38

176. Добрик Д.С., Добрянський Д.О. Пробиотики, кишкова мікробіота та

захворювання, пов'язані з незрілістю травного каналу, у значно недоношених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 2023; 3(131): 22-30. doi: 10.15574/SP.2023.131.22

177. Dobryk D.S., Dobryk O.O., & Dobryansky D.O. The effect of enteral lactoferrin supplementation in prevention of morbidity associated with immature digestive tract in premature infants: prospective cohort study. Georgian medical news. 2022; (323): 94–101. PMID: 35271478.28

178. Manzoni P, Meyer M, Stolfi I, Rinaldi M, Cattani S, Pagni L, et al. Bovine lactoferrin supplementation for prevention of necrotizing enterocolitis in very-low-birth-weight neonates: a randomized clinical trial. Early Hum Dev [Internet]. 2014 Mar;90(SUPPL.1):S60–5. doi: 10.1016/S0378-3782(14)70020-9

179. Bin-Nun A, Bromiker R, Wilschanski M, Kaplan M, Rudensky B, Caplan M, et al. Oral Probiotics Prevent Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Neonates. J Pediatr [Internet]. 2005 Aug;147(2):192–6. doi: 10.1016/j.jpeds.2005.03.054

180. Gregory KE. Clinical Predictors of Necrotizing Enterocolitis in Premature Infants. Nurs Res [Internet]. 2008 Jul;57(4):260–70. doi: 10.1097/01.NNR.0000313488.72035.a9

181. Kamoji V, Dorling J, Manktelow B, Draper E, Field D. Antenatal umbilical Doppler abnormalities: an independent risk factor for early onset neonatal necrotizing enterocolitis in premature infants. Acta Paediatr [Internet]. 2008 Mar 19;97(3):327–31. doi: 10.1111/j.1651-2227.2008.00671.x

182. Su Y, Xu R-H, Guo L-Y, Chen X-Q, Han W-X, Ma J-J, et al. Risk factors for necrotizing enterocolitis in neonates: A meta-analysis. Front Pediatr [Internet]. 2022;10:1079894. doi: 10.3389/fped.2022.1079894

183. Ree IMC, Smits-Wintjens VEJ, Rijntjes-Jacobs EGJ, Pelsma ICM, Steggerda SJ, Walther FJ, et al. Necrotizing Enterocolitis in Small-for-Gestational-Age Neonates: A Matched Case-Control Study. Neonatology [Internet]. 2014;105(1):74–8. doi: 10.1159/000356033

184. Gagliardi L, Bellù R, Cardilli V, De Curtis M. Necrotising Enterocolitis

in Very Low Birth Weight Infants in Italy: Incidence and Non-nutritional Risk Factors. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2008 Aug;47(2):206–10. doi: 10.1097/MPG.0b013e318174e855

185. Ohlsson A, Walia R, Shah SS. Ibuprofen for the treatment of patent ductus arteriosus in preterm and/or low birth weight infants. In: Ohlsson A, editor. *Cochrane Database of Systematic Reviews* [Internet]. Chichester, UK: John Wiley & Sons, Ltd; 2010. doi: 10.1002/14651858.CD003481.pub4

186. Carter BM, Holditch-Davis D. Risk Factors for Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Adv Neonatal Care* [Internet]. 2008 Oct;8(5):285–90. doi: 10.1097/01.ANC.0000338019.56405.29

187. Tao H-K, Tang Q, Hei M-Y, Yu B. Meta-analysis of post-transfusion necrotizing enterocolitis in neonates. *Chinese J Pediatr* [Internet]. 2013 May;51(5):336–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23941838>

188. Mohamed A, Shah PS. Transfusion Associated Necrotizing Enterocolitis: A Meta-analysis of Observational Data. *Pediatrics* [Internet]. 2012 Mar 1;129(3):529–40. doi: 10.1542/peds.2011-2872

189. Bak S-Y, Lee S, Park J-H, Park K-H, Jeon J-H. Analysis of the association between necrotizing enterocolitis and transfusion of red blood cell in very low birth weight preterm infants. *Korean J Pediatr* [Internet]. 2013;56(3):112. doi: 10.3345/kjp.2013.56.3.112

190. Marin T, Moore J, Kosmetatos N, Roback JD, Weiss P, Higgins M, et al. Red blood cell transfusion–related necrotizing enterocolitis in very-low-birthweight infants: a near-infrared spectroscopy investigation. *Transfusion* [Internet]. 2013 Nov 11;53(11):2650–8. doi: 10.1111/trf.12158

191. Krimmel G, Baker R, Yanowitz T. Blood Transfusion Alters the Superior Mesenteric Artery Blood Flow Velocity Response to Feeding in Premature Infants. *Am J Perinatol* [Internet]. 2009 Feb 19;26(02):99–105. doi: 10.1055/s-0028-1090595

192. Hod EA, Zhang N, Sokol SA, Wojczyk BS, Francis RO, Ansaldi D, et al. Transfusion of red blood cells after prolonged storage produces harmful effects that

are mediated by iron and inflammation. *Blood* [Internet]. 2010 May 27;115(21):4284–92. doi: 10.1182/blood-2009-10-245001

193. MohanKumar K, Namachivayam K, Cheng F, Jiang RHY, Flores-Torres J, Torres BA, et al. Trinitrobenzene sulfonic acid-induced intestinal injury in neonatal mice activates transcriptional networks similar to those seen in human necrotizing enterocolitis. *Pediatr Res* [Internet]. 2017 Jan 22;81(1):99–112. doi: 10.1038/pr.2016.189

194. Garg P, Pinotti R, Lal CV, Salas AA. Transfusion-associated necrotizing enterocolitis in preterm infants: an updated meta-analysis of observational data. *J Perinat Med* [Internet]. 2018 Aug 28;46(6):677–85. doi: 10.1515/jpm-2017-0162

195. Kirpalani H, Bell EF, Hintz SR, Tan S, Schmidt B, Chaudhary AS, et al. Higher or Lower Hemoglobin Transfusion Thresholds for Preterm Infants. *N Engl J Med* [Internet]. 2020 Dec 31;383(27):2639–51. doi: 10.1056/NEJMoa2020248

196. Whyte R, Kirpalani H. Low versus high haemoglobin concentration threshold for blood transfusion for preventing morbidity and mortality in very low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2011 Nov 9; doi: 10.1002/14651858.CD000512.pub2

197. Patel S, Ohls RK. Darbepoetin Administration in Term and Preterm Neonates. *Clin Perinatol* [Internet]. 2015 Sep;42(3):557–66. doi: 10.1016/j.clp.2015.04.016

198. Franz AR, Engel C, Bassler D, Rü diger M, Thome UH, Maier RF, et al. Effects of Liberal vs Restrictive Transfusion Thresholds on Survival and Neurocognitive Outcomes in Extremely Low-Birth-Weight Infants. *JAMA* [Internet]. 2020 Aug 11;324(6):560. doi: 10.1001/jama.2020.10690

199. Schurr P, Perkins E. The Relationship Between Feeding and Necrotizing Enterocolitis in Very Low Birth Weight Infants. *Neonatal Netw* [Internet]. 2008 Nov;27(6):397–407. doi: 10.1891/0730-0832.27.6.397

200. Patole S. Prevention and treatment of necrotising enterocolitis in preterm neonates. *Early Hum Dev* [Internet]. 2007 Oct;83(10):635–42. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2007.07.007

201. Altobelli E, Angeletti PM, Verrotti A, Petrocelli R. The Impact of Human Milk on Necrotizing Enterocolitis: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients* [Internet]. 2020 May 6;12(5):1322. doi: 10.3390/nu12051322
202. Ireson D. Formula vs. Donor Breast Milk for Preterm or Low-Birth-Weight Infants. *AJN, Am J Nurs* [Internet]. 2020 Sep;120(9):67–67. doi: 10.1097/01.NAJ.0000697672.35893.bf
203. Quigley M, Embleton ND, McGuire W. Formula versus donor breast milk for feeding preterm or low birth weight infants. *Cochrane Database Syst Rev* [Internet]. 2019 Jul 19; doi: 10.1002/14651858.CD002971.pub5
204. Tarnow-Mordi WO, Abdel-Latif ME, Martin A, Pammi M, Robledo K, Manzoni P, et al. The effect of lactoferrin supplementation on death or major morbidity in very low birthweight infants (LIFT): a multicentre, double-blind, randomised controlled trial. *Lancet Child Adolesc Heal* [Internet]. 2020 Jun;4(6):444–54. doi: 10.1016/S2352-4642(20)30093-6
205. Ochoa TJ, Zegarra J, Cam L, Llanos R, Pezo A, Cruz K, et al. Randomized Controlled Trial of Lactoferrin for Prevention of Sepsis in Peruvian Neonates Less than 2500 g. *Pediatr Infect Dis J* [Internet]. 2015 Jun;34(6):571–6. doi: 10.1097/INF.0000000000000593
206. Sherman MP, Sherman J, Arcinue R, Niklas V. Randomized Control Trial of Human Recombinant Lactoferrin: A Substudy Reveals Effects on the Fecal Microbiome of Very Low Birth Weight Infants. *J Pediatr* [Internet]. 2016 Jun;173:S37–42. doi: 10.1016/j.jpeds.2016.02.074
207. Ochoa TJ, Zegarra J, Bellomo S, Carcamo CP, Cam L, Castañeda A, et al. Randomized Controlled Trial of Bovine Lactoferrin for Prevention of Sepsis and Neurodevelopment Impairment in Infants Weighing Less Than 2000 Grams. *J Pediatr* [Internet]. 2020 Apr;219:118-125.e5. doi: 10.1016/j.jpeds.2019.12.038
208. Kaur G, Gathwala G. Efficacy of Bovine Lactoferrin Supplementation in Preventing Late-onset Sepsis in low Birth Weight Neonates: A Randomized Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Trop Pediatr* [Internet]. 2015 Oct;61(5):370–6. doi: 10.1093/tropej/fmv044

209. Decembrino L, De Amici M, Pozzi M, De Silvestri A, Stronati M. Serum Calprotectin: A Potential Biomarker for Neonatal Sepsis. *J Immunol Res* [Internet]. 2015;2015:1–4. doi: 10.1155/2015/147973
210. Terrin G, Passariello A, Manguso F, Salvia G, Rapacciuolo L, Messina F, et al. Serum Calprotectin: An Antimicrobial Peptide as a New Marker For the Diagnosis of Sepsis in Very Low Birth Weight Newborns. *Clin Dev Immunol* [Internet]. 2011;2011:1–6. doi: 10.1155/2011/291085
211. Milton R, Gillespie D, Dyer C, Taiyari K, Carvalho MJ, Thomson K, et al. Neonatal sepsis and mortality in low-income and middle-income countries from a facility-based birth cohort: an international multisite prospective observational study. *Lancet Glob Heal* [Internet]. 2022 May;10(5):e661–72. doi: 10.1016/S2214-109X(22)00043-2
212. Ullah O, Khan A, Ambreen A, Ahmad I, Akhtar T, Gandapor AJ, et al. Antibiotic Sensitivity pattern of Bacterial Isolates of Neonatal Septicemia in Peshawar, Pakistan. *Arch Iran Med* [Internet]. 2016 Dec;19(12):866–9. doi: 10.161912/AIM.009
213. Josefsson S, Bunn SK, Domellöf M. Fecal Calprotectin in Very Low Birth Weight Infants. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* [Internet]. 2007 Apr;44(4):407–13. doi: 10.1097/MPG.0b013e3180320643
214. Rougé C, Butel M-J, Piloquet H, Ferraris L, Legrand A, Vodovar M, et al. Fecal Calprotectin Excretion in Preterm Infants during the Neonatal Period. Ratner AJ, editor. *PLoS One* [Internet]. 2010 Jun 11;5(6):e11083. doi: 10.1371/journal.pone.0011083
215. Yoon JM, Park JY, Ko KO, Lim JW, Cheon EJ, Kim HJ. Fecal calprotectin concentration in neonatal necrotizing enterocolitis. *Korean J Pediatr*. 2014;57(8):351–6. doi: 10.3345/kjp.2014.57.8.351
216. van Zoonen AGJF, Hulzebos C V., Muller Kobold AC, Kooi EMW, Bos AF, Hulscher JBF. Serial fecal calprotectin in the prediction of necrotizing enterocolitis in preterm neonates. *J Pediatr Surg* [Internet]. 2019;54(3):455–9. doi: 10.1016/j.jpedsurg.2018.04.034

217. Aydemir O, Aydemir C, Sarikabadayi YU, Emre Canpolat F, Erdeve O, Biyikli Z, et al. Fecal calprotectin levels are increased in infants with necrotizing enterocolitis. *J Matern Neonatal Med* [Internet]. 2012 Nov 10;25(11):2237–41. doi: 10.3109/14767058.2012.684172
218. Zhang M, Zhang X, Zhang J. Diagnostic Value of Fecal Calprotectin in Preterm Infants with Necrotizing Enterocolitis. *Clin Lab* [Internet]. 2016;62(05/2016). doi: 10.7754/Clin.Lab.2015.150906
219. MacQueen BC, Christensen RD, Yost CC, Gordon P V., Baer VL, Schlager R, et al. Reference intervals for stool calprotectin in preterm neonates and their utility for the diagnosis of necrotizing enterocolitis. *J Perinatol* [Internet]. 2018;38(10):1379–85. doi: 10.1038/s41372-018-0108-9
220. Qu Y, Xu W, Han J, Zhou W, Wu H. Diagnostic value of fecal calprotectin in necrotizing enterocolitis: A meta-analysis. *Early Hum Dev* [Internet]. 2020 Dec;151:105170. doi: 10.1016/j.earlhumdev.2020.105170
221. Thibault M-P, Tremblay É, Horth C, Fournier-Morin A, Grynspan D, Babakissa C, et al. Lipocalin-2 and calprotectin as stool biomarkers for predicting necrotizing enterocolitis in premature neonates. *Pediatr Res* [Internet]. 2022 Jan 31;91(1):129–36. doi: 10.1038/s41390-021-01680-7
222. Pirr S, Dauter L, Vogl T, Ulas T, Bohnhorst B, Roth J, et al. S100A8/A9 is the first predictive marker for neonatal sepsis. *Clin Transl Med* [Internet]. 2021 Apr 5;11(4). doi: 10.1002/ctm2.338
223. Savino F, Castagno E, Calabrese R, Viola S, Oggero R, Miniero R. High Faecal Calprotectin Levels in Healthy, Exclusively Breast-Fed Infants. *Neonatology*. 2010; 97(4):299–304. doi: 10.1159/000255161
224. Asgarshirazi M, Shariat M, Nayeri F, Dalili H, Abdollahi A. Comparison of Fecal Calprotectin in Exclusively Breastfed and Formula or Mixed Fed Infants in the First Six Months of Life. *Acta Med Iran*. 2017;55(1):53-58. PMID: 28188944
225. Groer M, Ashmeade T, Louis-Jacques A, Beckstead J, Ji M. Relationships of Feeding and Mother’s Own Milk with Fecal Calprotectin Levels in Preterm Infants. *Breastfeed Med* [Internet]. 2016 May;11(4):207–12. doi:

10.1089/bfm.2015.0115

226. Costa S, Patti ML, Perri A, Cocca C, Pinna G, Tirone C, et al. Effect of Different Milk Diet on the Level of Fecal Calprotectin in Very Preterm Infants. *Front Pediatr* [Internet]. 2020 Sep 16;8. doi: 10.3389/fped.2020.00552

227. Ewaschuk JB, Unger S, Harvey S, O'Connor DL, Field CJ. Effect of pasteurization on immune components of milk: implications for feeding preterm infants. *Appl Physiol Nutr Metab* [Internet]. 2011 Apr;36(2):175–82. Available from: doi: 10.1139/h11-008

228. Kaban RK, Hegar B, Rohsiswatmo R, Handryastuti S, Amelia N, Muktiarti D, et al. *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 Improves Feeding Intolerance in Preterm Infants. *Pediatr Gastroenterol Hepatol Nutr*. 2019;22(6):545–53. doi: 10.5223/pghn.2019.22.6.545

229. Rojas MA, Lozano JM, Rojas MX, Rodriguez VA, Rondon MA, Bastidas JA, et al. Prophylactic Probiotics to Prevent Death and Nosocomial Infection in Preterm Infants. *Pediatrics* [Internet]. 2012 Nov 1;130(5):e1113–20. doi: 10.1542/peds.2011-3584

230. Cui X, Shi Y, Gao S, Xue X, Fu J. Effects of *Lactobacillus reuteri* DSM 17938 in preterm infants: a double-blinded randomized controlled study. *Ital J Pediatr*. 2019 Nov 9;45(1):140. doi: 10.1186/s13052-019-0716-9

231. Mack DR. D(-)-Lactic Acid Producing Probiotics, D(-)-Lactic Acidosis and Infants. *Can J Gastroenterol* [Internet]. 2004;18(11):671–5. doi: 10.1155/2004/342583

232. Didari T, Solki S, Mozaffari S, Nikfar S, Abdollahi M. A systematic review of the safety of probiotics. *Expert Opin Drug Saf* [Internet]. 2014 Feb 3;13(2):227–39. doi: 10.1517/14740338.2014.872627

233. Wandro S, Osborne S, Enriquez C, Bixby C, Arrieta A, Whiteson K. The Microbiome and Metabolome of Preterm Infant Stool Are Personalized and Not Driven by Health Outcomes, Including Necrotizing Enterocolitis and Late-Onset Sepsis. *Krajmalnik-Brown R, editor. mSphere* [Internet]. 2018 Jun 27;3(3). doi: 10.1128/mSphere.00104-18

234. Spreckels JE, Wejryd E, Marchini G, Jonsson B, de Vries DH, Jenmalm MC, et al. Lactobacillus reuteri Colonisation of Extremely Preterm Infants in a Randomised Placebo-Controlled Trial. *Microorganisms* [Internet]. 2021 Apr 24;9(5):915. doi: 10.3390/microorganisms9050915
235. Martí M, Spreckels JE, Ranasinghe PD, Wejryd E, Marchini G, Sverremark-Ekström E, et al. Effects of Lactobacillus reuteri supplementation on the gut microbiota in extremely preterm infants in a randomized placebo-controlled trial. *Cell Reports Med* [Internet]. 2021 Mar; 2(3):100206. doi: 10.1016/j.xcrm.2021.100206
236. Arboleya S, Sánchez B, Milani C, Duranti S, Solís G, Fernández N, et al. Intestinal Microbiota Development in Preterm Neonates and Effect of Perinatal Antibiotics. *J Pediatr* [Internet]. 2015 Mar;166(3):538–44. doi: 10.1016/j.jpeds.2014.09.041
237. Jilling T, Simon D, Lu J, Meng FJ, Li D, Schy R, et al. The Roles of Bacteria and TLR4 in Rat and Murine Models of Necrotizing Enterocolitis. *J Immunol* [Internet]. 2006 Sep 1;177(5):3273–82. doi: 10.4049/jimmunol.177.5.3273
238. Remon JJ, Amin SC, Mehendale SR, Rao R, Luciano AA, Garzon SA, et al. Depth of bacterial invasion in resected intestinal tissue predicts mortality in surgical necrotizing enterocolitis. *J Perinatol* [Internet]. 2015 Sep 7;35(9):755–62. doi: 10.1038/jp.2015.51
239. Morrow AL, Lagomarcino AJ, Schibler KR, Taft DH, Yu Z, Wang B, et al. Early microbial and metabolomic signatures predict later onset of necrotizing enterocolitis in preterm infants. *Microbiome* [Internet]. 2013 Dec 16;1(1):13. doi: 10.1186/2049-2618-1-13
240. Olm MR, Bhattacharya N, Crits-Christoph A, Firek BA, Baker R, Song YS, et al. Necrotizing enterocolitis is preceded by increased gut bacterial replication, Klebsiella, and fimbriae-encoding bacteria. *Sci Adv* [Internet]. 2019 Dec 6;5(12). doi: 10.1126/sciadv.aax5727
241. Wang Y, Hoenig JD, Malin KJ, Qamar S, Petrof EO, Sun J, et al. 16S

rRNA gene-based analysis of fecal microbiota from preterm infants with and without necrotizing enterocolitis. *ISME J* [Internet]. 2009 Aug 16;3(8):944–54. doi: 10.1038/ismej.2009.37

242. Morowitz MJ, Poroyko V, Caplan M, Alverdy J, Liu DC. Redefining the Role of Intestinal Microbes in the Pathogenesis of Necrotizing Enterocolitis. *Pediatrics* [Internet]. 2010 Apr 1;125(4):777–85. doi: 10.1542/peds.2009-3149

243. Dobbler PT, Procianoy RS, Mai V, Silveira RC, Corso AL, Rojas BS, et al. Low Microbial Diversity and Abnormal Microbial Succession Is Associated with Necrotizing Enterocolitis in Preterm Infants. *Front Microbiol* [Internet]. 2017 Nov 15;8. doi: 10.3389/fmicb.2017.02243/full

244. Pammi M, Cope J, Tarr PI, Warner BB, Morrow AL, Mai V, et al. Intestinal dysbiosis in preterm infants preceding necrotizing enterocolitis: a systematic review and meta-analysis. *Microbiome* [Internet]. 2017 Dec 9;5(1):31. doi: 10.1186/s40168-017-0248-8

245. Yu Y, Lu J, Oliphant K, Gupta N, Claud K, Lu L. Maternal administration of probiotics promotes gut development in mouse offsprings. Aguila MB, editor. *PLoS One* [Internet]. 2020 Aug 7;15(8):e0237182. doi: 10.1371/journal.pone.0237182

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ І ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1) Добрянський Д.О, **Добрик Д.С.** Можливості та перспективи імунного харчування передчасно народжених немовлят. Неонатологія, хірургія та перинатальна медицина. 2021; 11(1(39)): 39–47. doi: 10.24061/2413-4260.XI.1.39.2021.6 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, написанні статті, формулюванні висновків, підготував матеріал до друку).*

2) **Dobryk D.S.**, Dobryk O.O., & Dobryanskyu D.O. The effect of enteral lactoferrin supplementation in prevention of morbidity associated with immature digestive tract in premature infants: prospective cohort study. Georgian medical news. 2022; (323): 94–101. PMID: 35271478.28 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

3) **Dobryk D.S.**, Dobryanskyu D.O. Fecal calprotectin, lactoferrin and morbidity associated with immature digestive tract in preterm infants. Modern Pediatrics. Ukraine. 2022; 7(127): 38–45. doi: 10.15574/SP.2022.127.38 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

4) **Добрик Д.С.**, Добрянський Д.О. Пробиотики, кишкова мікробіота та захворювання, пов'язані з незрілістю травного каналу, у значно недоношених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 2023; 3(131): 22-30. doi: 10.15574/SP.2023.131.22 *(Особистий внесок: здійснював пошук і вивчав літературні джерела, самостійно зібрав клінічний та лабораторний*

матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

5) **Добрик Д.С., Добрянський Д.О.** Залежність показників фекального кальпротектину від ентерального застосування лактоферину у передчасно народжених дітей». Матеріали української науково-практичної конференції лікарів-педіатрів з міжнародною участю «Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією». 2021; 76-78. *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

6) **Dobryk D.S., Dobryanskyu D.O.** Bovine lactoferrin and fecal calprotectin in premature infants», 4th Congress of Joint European Neonatal Societies: Nutrition. *Pediatr Res.* 2021; 90: 27–34. doi: 10.1038/s41390-021-01762-6 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*

7) **Добрик Д.С., Добрянський Д.О.** Клінічна ефективність ентерального застосування лактоферину у передчасно народжених дітей». Матеріали І науково-практичної конференції з міжнародною участю «Актуальні мультидисциплінарні питання перинатології, неонатології та педіатрії: клінічні і правові аспекти». 2021; 11-12. *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку).*
 «Залежність показників фекального кальпротектину від ентерального застосування лактоферину у передчасно народжених дітей», Матеріали української науково-практичної конференції лікарів-педіатрів з міжнародною участю «Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією». 2021р. с. 76-78 *(Особистий внесок: взяв участь в аналізі літературних джерел, самостійно зібрав клінічний та лабораторний*

матеріал, провів статистичну обробку даних, підготував матеріал до друку);

Апробація результатів дослідження:

Основні положення роботи та результати дослідження доповідались і обговорювались на науково-практичній конференції лікарів-педіатрів з міжнародною участю «Проблемні питання діагностики та лікування дітей з соматичною патологією» (м. Харків, 2021р., усна доповідь), 4-му Конгресі об'єднаних європейський неонатальних наукових товариств (м. Афіни, 2021 р., усна доповідь), науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні мультидисциплінарні питання перинатології, неонатології та педіатрії: клінічні і правові аспекти» (м. Львів, 2021 р., усна доповідь), та науково-практичній конференції з міжнародною участю «IV Полтавські перинатальні читання ім. Н.М. Максимовича-Амбодика «Здоров'я жінки та дитини: нові виклики сьогодення та можливості» (м. Полтава, 2022 р., усна доповідь).

ВПРОВАДЖЕННЯ В ПРАКТИКУ



ЗАТВЕРДЖУЮ
Генеральний директор
КНП «ІФ ОПЦ ОР»
Юрій ПАВЛУШИНСЬКИЙ
 «22» березня 2023р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ у лікувальний процес

1. **Назва впровадження:** «Визначення концентрації фекального кальпротектину для діагностики раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят»
2. **Установа-розробник, автори:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; Добрик Д.С., Добрянський Д.О.
3. **Джерела інформації:** Добрик Д.С., Добрянський Д.О. (2022). Фекальний кальпротектин, лактоферин і захворюваність, пов'язана з незрілістю травного каналу, у передчасно народжених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 7(127): 38-45. doi 10.15574/SP.2022.127.38.
4. **Впроваджено в роботу:**
КНП « Івано-Франківський обласний перинатальний центр
Івано-Франківської обласної ради»
- Термін впровадження:** з 09 січня по 15 березня 2023
5. **Загальна кількість спостережень:** 14
6. **Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації:** Впровадження у лікувальний процес запропонованої інформації дозволило заперечити наявність раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят за допомогою визначення вмісту кальпротектину в калі.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка здійснювала впровадження
Рівень фекального кальпротектину < 374 мкг/г в перші 72 год життя	Відсутність сепсису у 85% немовлят з терміном гестації ≤ 32 тиж	У 12 дітей (85,7%) відсутній сепсис

5. **Зауваження, додатки:**

Відповідальний за впровадження: лікар ВІПН

Людмила ТАЧИНСЬКА

«22» березня 2023 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

В.о. генерального директора

КНП «Чернівецький обласний перинатальний центр»

В.М. Гошовський

2023р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ у лікувальний процес

- Назва впровадження:** «Визначення концентрації фекального кальпротектину для діагностики раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят»
- Установа-розробник, автори:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; Добрик Д.С., Добрянський Д.О.
- Джерела інформації:** Добрик Д.С., Добрянський Д.О. (2022). Фекальний кальпротектин, лактоферин і захворюваність, пов'язана з незрілістю травного каналу, у передчасно народжених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 7(127): 38-45. doi 10.15574/SP.2022.127.38.
- Впроваджено в роботу:** відділення інтенсивної терапії новонароджених.
- Термін впровадження:** з 10.01.2023р. по 20.04.2023р.
- Загальна кількість спостережень:** 20
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації:** Впровадження у лікувальний процес запропонованої інформації дозволило заперечити наявність раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят за допомогою визначення вмісту кальпротектину в калі.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка здійснювала впровадження
Рівень ФК < 374 мкг/г в перші 72 год життя	Відсутність сепсису у 85% немовлят з терміном гестації ≤ 32 тиж за наявності такого показника	у 18 дітей (90%) відсутній сепсис.

5. Зауваження, додатки:

Відповідальний за впровадження:
медичний директор з неонатологічної допомоги

(посада, підпис, ПІВ)

« » 2023 р.



ЗАТВЕРДЖУЮ

Заступник директора
 АУ, ІПАР ім. акад. В.М. Кур'янича НАМНУ,
 акад. НАМНУ *Сівак*
 «26» *Сівак* 2023 р.



АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
 у лікувальний процес

1. Назва впровадження: «Визначення концентрації фекального кальпротектину для діагностики раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят»
2. Установа-розробник, автори: Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; Добрик Д.С., Добрянський Д.О.
3. Джерела інформації: Добрик Д.С., Добрянський Д.О. (2022). Фекальний кальпротектин, лактоферин і захворюваність, пов'язана з незрілістю травного каналу, у передчасно народжених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 7(127): 38-45. doi 10.15574/SP.2022.127.38.
4. Впроваджено в роботу: *Визначення рівня кальпротектину в фекаліях новонароджених, народжених в терміні гестації ≤ 32 тиж.*
5. Термін впровадження: з *січня* по *грудень 2022 р.*
6. Загальна кількість спостережень: *187 ТР ≤ 32 тиж.*
7. Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації: Впровадження у лікувальний процес запропонованої інформації дозволило заперечити наявність раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят за допомогою визначення вмісту кальпротектину в калі.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка здійснювала впровадження
Рівень фекального кальпротектину < 374 мкг/г в перші 72 год життя	Відсутність сепсису у 85% немовлят з терміном гестації ≤ 32 тиж	<i>у 17 центрах (94%) - відсутність сепсису</i>

5. Зауваження, додатки: *шмат.*

Відповідальний за впровадження:

«26» січня 2023 р.



провзник неонатального сепсису, визначення кальпротектину в фекаліях, прав.
 ОСОБИСТИЙ ПІДПИС (прізвище, ім'я, по батькові)
Кобальчук І.В.
 Начальник відділу кадрів
 Кобальчук І.В.

ЗАТВЕРДЖУЮ

Директор В.Б. Педрик
Світло Пилипчук
 КП «ІО ТНО м. Львів» Міський І.О.
 «20» Березня 2023 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ
 у лікувальний процес



- Назва впровадження:** «Визначення концентрації фекального кальпротектину для діагностики раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят»
- Установа-розробник, автори:** Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького, 79010, м. Львів, вул. Пекарська, 69; Добрик Д.С., Добрянський Д.О.
- Джерела інформації:** Добрик Д.С., Добрянський Д.О. (2022). Фекальний кальпротектин, лактоферин і захворюваність, пов'язана з незрілістю травного каналу, у передчасно народжених немовлят. Сучасна педіатрія. Україна. 7(127): 38-45. doi 10.15574/SP.2022.127.38.
- Впроваджено в роботу:** Відразу після реалізації КМ
і кожній сесії
- Термін впровадження:** з січня по грудень 2022
- Загальна кількість спостережень:** 28
- Ефективність впровадження у відповідності з критеріями викладеними у джерелі інформації:** Впровадження у лікувальний процес запропонованої інформації дозволило заперечити наявність раннього неонатального сепсису у значно недоношених немовлят за допомогою визначення вмісту кальпротектину в калі.

Показники	За даними	
	Розробників	Установи, яка здійснювала впровадження
Рівень фекального кальпротектину < 374 мкг/г в перші 72 год життя	Відсутність сепсису у 85% немовлят з терміном гестації ≤ 32 тиж	<u>28 дітей</u> <u>24 (89,3%) без раннього сепсису</u>

5. Зауваження, додатки:

Відповідальний за впровадження:

«20» Березня 2023 р.

(посада, підпис, ПІБ)

В.Б. Педрик