

Теоретическое обоснование превентивной роли кишечной микробиоты в генезе аллергических заболеваний у детей

А.П. Волосовец, член-корр. НАМН Украины, д.м.н., профессор, заведующий кафедрой, главный внештатный специалист МЗ Украины по детской кардиоревматологии,

С.П. Кривоустов, д.м.н., профессор, **Н.Т. Макуха, Е.В. Павлик, О.В. Емец, Н.А. Слюсар**, кафедра педиатрии

№ 2 Национального медицинского университета имени А.А. Богомольца, г. Киев



Член-корреспондент
НАМН Украины, д.м.н.,
профессор **А.П. Волосовец**



Д.м.н., профессор
С.П. Кривоустов

«Многочисленные ассоциации микробов, населяющих кишечник человека, в значительной мере определяют его духовное и физическое здоровье».

И.И. Мечников

Аллергические заболевания характеризуются нарушением Th2-клеточного иммунного ответа на пищевые аллергены и антигены окружающей среды. Активация аллергической реакции приводит к повышенной секреции интерлейкинов IL-4, IL-5 и IL-13 и продукции аллерген-специфического IgE. Индукция Th2-ответа цитокинов также подавляет деятельность Th1 клеток, в основном воздействуя на интерферон IFN- γ . Стабильность Th1/Th2 баланса регулируется на генном уровне функцией факторов транскрипции GATA-3 (Th2) и T-bet (Th1). Изучение дендритных клеток и регуляторных T-клеток (Treg) выявило важные эффекторные функции этих клеточных популяций в контроле аллергических реакций. По данным W.A. Goodman et al. (2012), у пациентов с аллергией снижается количество Treg и ослабевает их функция, в то время как мутации в гене транскрипционного фактора FoxP3 этих клеток приводят к тяжелым заболеваниям иммунной системы.

Механизмы, управляющие развитием аллергических заболеваний в детстве, до конца не изучены. Широко признанной является гипотеза о значении состава и профиля синантропных бактерий (кишечной микрофлоры) для развития иммунной системы. Такое взаимодействие может влиять на иммунное созревание, что приводит к Th2-поляризованному аллергическому ответу. Так на-

зываемая «гигиеническая гипотеза», согласно которой снижение контактов с микробами связывалось с увеличением заболеваемости сенной лихорадкой, первоначально была описана D.P. Strachan (1989).

Колонизация синантропными бактериями происходит сразу после рождения и продолжается в течение первого года жизни. Микрофлора кишечника оказывает наиболее значительное микробное воздействие на развивающегося ребенка. Порядка 10^{15} микроорганизмов, представляющих до 1000 различных штаммов, колонизируют желудочно-кишечный тракт. В нормальных условиях эти бактерии оказывают благотворное влияние на пищеварение, иммунную систему, способствуют контролю роста кишечного эпителия и дифференцировки клеток. Также важна роль синантропных бактерий для ферментации неперевариваемых пищевых волокон, приводящей к образованию большого количества короткоцепочечных жирных кислот (КЖК); для усвоения необходимых витаминов.

Развитие иммунной системы хозяина является одной из наиболее важных функций кишечной микрофлоры. Она обеспечивает организм крупнейшим источником антигенных стимулов, программирующих развитие постнатального иммунитета (благодаря созреванию лимфоидной ткани кишечника [gut-associated lymphoid tissue, GALT]) и иммунологической толерантности в ответ на без-

обидные антигены, в том числе продукты питания. Важную роль при этом играют *рецепторы распознавания антигенных структур* (pattern recognition receptors) на поверхности эпителиальных клеток кишечника и иммунных клеток. Эти специализированные рецепторы связываются с *микроб-ассоциированными молекулярными структурами* (microbe-associated molecular patterns), присущими различным микроорганизмам-комменсалам (S. Amdekar et al., 2010). К рецепторам узнавания антигенных структур относятся Toll-подобные рецепторы (Toll-like receptors – TLR), которые распознают ряд микроб-ассоциированных молекулярных структур, таких как липотейхоевая кислота (TLR2) и липополисахарид (TLR4) на грамотрицательных и грамположительных бактериях соответственно. Сигналы, передаваемые от синантропных бактерий TLR, определяют характер иммунного ответа и индуцируют эффекторские функции, связанные с дендритными клетками, Treg, хемокинами и цитокинами, предотвращающие аллергические реакции Th2-типа.

Грудное вскармливание является параметром, который может иметь решающее значение для пробиотических эффектов. У детей на грудном вскармливании, матери которых получали пробиотики в пренатальном периоде, отмечается наименьший риск развития аллергических заболеваний (С.К. Dotterud et al., 2010). В грудном молоке содержатся важные иммунорегулирующие факторы, например трансформирующий фактор роста (TGF) β и IgA, наличие которых защищает организм ребенка от развития аллергии. Отмечены значительные отличия микрофлоры при разных типах вскармливания. У детей на грудном вскармливании кишечная микрофлора представлена в основном бифидо- и лактобактериями, у детей на искусственном вскармливании – бактероидами и колиформными бактериями.

Также проведенные эпидемиологические исследования показали более высокий риск развития аллергических заболеваний у детей, рожденных путем кесарева сечения. Причиной этого может быть колонизация кишечника младенцев микрофлорой кожи либо госпитальной микрофлорой, например *Staphylococcus*, *Acinetobacter*. Также имеют значение позднее начало грудного вскармливания младенцев, профилактическое назначение антибактериальных препаратов роженице.

Лучшим подтверждением роли микробиоты в развитии GALT стали эксперименты с мышинными моделями – мыши со стерильным кишечником имели значительные дефекты развития GALT. Ряд исследований показал, что у таких мышей уменьшалось количество интраэпителиальных лимфоцитов, нарушалось развитие пейеровых бляшек, снижалось содержание секреторного IgA и CD4+ T-клеток. Заселение различными видами микробной флоры способствовало восстановлению функции GALT у этих мышей, демонстрируя роль микробиоты в иммунном развитии. В то время как

у мышей с отсутствием микробиоты не развивалась толерантность к парентеральному введению антигена из-за отсутствия Treg-клеток, оральное применение микробов помогло развитию толерантности. Недавнее исследование показало, что у таких мышей снижался уровень про-IL-1 β по сравнению с диким типом. Предполагается, что нарушение способности к активации Th17 клеток необходимо для защиты хозяина (M.H. Shaw et al., 2012).

Кроме того, заселение кишечника сегментированными нитчатыми бактериями, клостридиями и *Alcaligenes* стимулировало продукцию IgA у этих мышей. Интересно, что когда мыши получали внутрь овальбумин в высокой дозе, а затем подвергались системной стимуляции с целью вызвать толерантность, Th2-ответ не возникал, однако заселения кишечника этих мышей *Bifidobacterium infantis* было достаточно для развития оральной толерантности. Кроме того, у мышей, получавших антибиотики, наблюдался кишечный дисбиоз, снижение количества Treg в толстой кишке и увеличение тяжести воспаления дыхательных путей (S.L. Russell et al., 2012). Эти данные подчеркивают роль микрофлоры в иммунной регуляции аллергических и аутоиммунных заболеваний.

В нескольких эпидемиологических исследованиях было показано, что микрофлора у младенцев с проявлениями атопии и без них различна. В исследовании M.A. Johansson et al. (2011) было выявлено, что кишечник младенцев, родители которых не страдали аллергией, чаще был колонизирован лактобациллами, что свидетельствует о роли материнской микрофлоры в защите от аллергических заболеваний. Кишечник здоровых детей, как правило, колонизирован с младенчества *B. longum* и *B. breve*, а у детей с экземой чаще преобладает колонизация «взрослого типа» – *B. adolescentis*. У новорожденных колонизация *S. aureus* и *Clostridium difficile* была связана с развитием атопии в дальнейшем.

Изучение способности кишечной микрофлоры влиять на развитие иммунитета привело к использованию профилактических возможностей современных пробиотиков. В частности, доказано, что прием пробиотиков способствует модулированию Th1/Th2 баланса. Изучено *несколько механизмов, посредством которых пробиотики благоприятно воздействуют на организм хозяина*; их можно классифицировать на:

- микробиологические;
- эпителиальные;
- иммунологические.

Во-первых, *пробиотические бактерии способны модулировать состав кишечной микрофлоры* младенцев с проявлениями атопии за счет уменьшения в кишечнике количества патогенных бактерий, таких как клостридии, при одновременном повышении/поддержании количества полезных бифидобактерий. Пробиотики могут также конкурировать с другими микроорганизмами за связывание со специфическими рецепторами на эпителиальных клетках, тем самым предотвращая инвазию потен-

ціальними возбуди́телями. Кроме того, некоторые пробиотические бактерии производят бактериоцины, подавляющие рост патогенных бактерий.

Другой механизм пробиотического действия направлен на поверхность эпителия, где *пробиотики модулируют целостность эпителиального барьера, регулируют функцию и экспрессию белков плотного соединения и секрецию слизи*. Пробиотики также производят значительное количество КЖК в процессе ферментации пищевых волокон и оказывают *мощное противовоспалительное действие*. Бутират, типичная КЖК, модулирует экспрессию определенных белков плотного соединения, таких как цингулин, ZO-белки и окклюдин, обеспечивая целостность эпителиального барьера. Другая КЖК, ацетат, способствует уменьшению воспаления при астме и колите. G-протеин-связывающие рецепторы GPR41 и GPR43 на нейтрофилах могут связывать КЖК и участвовать в регуляции воспалительного процесса. Этот эффект КЖК был продемонстрирован путем модуляции деятельности транскрипционного фактора NFκB и цитокинов *in vitro*. Есть предположения, что КЖК способны ингибировать гистондеацетилазу, которая изменяет структуру хроматина и влияет на его функции, снижая экспрессию генов.

Различные исследования показали, что *пробиотики могут модулировать врожденный и адаптивный иммунитет*. Активируя TLR, микроорганизмы инициируют иммунный ответ, который может привести к системным эффектам. Лактобактерии способствуют ослаблению провоспалительных реакций, регулируя активность NFκB, в то время как другие пробиотические микроорганизмы способны снижать содержание TNF-α, индуцируя активацию NFκB TLR9-зависимым путем. Кроме того, дендритные клетки, происходящие от моноцитов, после применения пробиотиков выделяют IL-10, что способствует дифференциации и выживанию Treg. Так, применение *B. bifidum* индуцирует активацию Th17 посредством высвобождения IL-17 дендритными клетками. Использование мышиных моделей атопического дерматита в нескольких исследованиях с применением различных штаммов лактобактерий показало положительный эффект в виде профилактики атопического дерматита, в том числе в повышении производства sIgA, снижении содержания IgE, а также уменьшении секреции цитокинов Th2 *in vitro*.

Для клиницистов *профилактика аллергических заболеваний* остается большой проблемой. К настоящему времени проведено 14 рандомизированных контролируемых исследований (РКИ), в основном с участием детей с отягощенным аллергоанамнезом, в которых оценивали эффективность различных пробиотиков (Z.Q. Toh et al., 2012). В рамках 9 из 14 РКИ оценивали пренатальное и постнатальное применение пробиотиков, в 4 – только их постнатальный прием и в 1 исследовании – только пренатальный (R.J. Boyle et al., 2011). Важно, что в 6 из 9 РКИ при комбинированном пренатальном/

постнатальном приеме пробиотических препаратов показано значительное снижение риска развития экземы и/или атопического дерматита до 2-летнего возраста (С.К. Dotterud et al., 2010).

Пробиотики эффективны для профилактики атопического дерматита в основном у детей, получавших их в перинатальный период. Систематический анализ клинических исследований показал, что потребление пробиотиков матерью во время беременности в последующем снижает частоту возникновения экземы. В частности, значительное улучшение наблюдалось у новорожденных с IgE-опосредованной аллергической экземой. В других исследованиях также было показано, что иммунная система взрослых хуже поддается модуляции с помощью пробиотиков (N.Y. Kim et al., 2012).

Механизм влияния приема пробиотических препаратов матерью на кишечную микрофлору ребенка остается до конца не изученным. Однако исследование, проведенное M. Gueimonde et al. (2006), показало, что прием матерью лактобактерий во время беременности способствует увеличению колонизации кишечника новорожденного *B. breve* и снижению количества *B. adolescentis* и *C. difficile* в микрофлоре на 5-й день жизни. При этом, в сравнении с плацебо, на 3-й неделе жизни у детей выявлена колонизация большим числом штаммов бифидобактерий. Причиной этого может быть модификация передачи бифидобактерий от матери либо изменения в селекции при колонизации кишечника. Положительные эффекты были отмечены при применении пробиотиков у детей на искусственном вскармливании – увеличение количества бифидобактерий, штаммы которых были сходны с образцами у детей на грудном вскармливании, снижение количества патогенных бактерий, а также уменьшение риска развития атопических заболеваний. Исследования с участием детей, рожденных путем кесарева сечения, которые получали пробиотики в комбинации с пребиотиками в течение первых 6 месяцев, показали, что у таких детей в возрасте 5 лет частота аллергических заболеваний значительно меньше в сравнении с группой плацебо.

Снижение частоты *атопического дерматита* у детей с семейной историей аллергических заболеваний при приеме пробиотических препаратов также связано со значительным увеличением способности мононуклеаров периферической крови продуцировать TGF-β. В исследовании N.Y. Kim et al. (2012) 62 пары (мать и ребенок) принимали пробиотики во время беременности и в период грудного вскармливания, при этом уровень TGF-β₂ в грудном молоке матерей был выше по сравнению с контрольной группой.

В сравнении с плацебо применение лактобактерий у детей 2-10 лет с атопическим дерматитом сопровождалось уменьшением симптомов и снижением их оценки по шкале SCORAD на 25 баллов. Кроме того, у них в сыворотке крови снижалось содержание хемокиновых лигандов CCL17 и CCL27, которые участвуют в процессе воспалительной ин-

фльтрації. Пероральний прийом комбінованих пробіотиків зменшує проявлення екзема, при цьому в сировотці знижується рівень еозинофільного катіонного білка; цей ефект більш виражений у пацієнтів з позитивним результатом алергологічного тестування шкіри та підвищеним рівнем IgE. Застосування пробіотиків у дітей з atopічним дерматитом при відлученні від грудного вигодовування сприяло зменшенню проявлень та тяжкості алергічної екзема, що супроводжалося зниженням рівня сировоточного кластера диференціації CD4 та еозинофільних білків X. Таким чином, результати клінічних досліджень свідчать, що пробіотики сприяють запобіганню розвитку симптомів запальних реакцій при алергічних захворюваннях за межами кишечної середовища (N. Y. Kim et al., 2012).

Показана роль сучасних мультипробіотиків, які представляють собою «живу біомасу» кліток багатовидової мутуалістичної асоціації найбільш фізіологічних для організму людини *сахаролітичних бактерій*, для профілактики та лікування atopічних захворювань (В.В. Березної та співавт., 2003; А.П. Волосоєв та співавт., 2010, та ін.). Так, при їх клінічному використанні відзначалася виражена позитивна динаміка шкірних проявлень захворювання на фоні однонаправленої динаміки імунологічних та мікробіологічних показувачів.

За даними В. Kligler, А. Cohrssen (2008), у дітей з групи ризику виникнення atopії пробіотики можуть запобігати розвитку atopічного дерматиту з рівнем доказальності В. Особливо важливо, що для профілактики atopічного дерматиту суттєве значення має пренатальне введення пробіотиків (D.A. Osborn, J.K. Sinn, 2007). Корекція мікробіоценозу організму жінки до та в час вагітності сприяє формуванню оптимального імунобіологічного

гомеостазу в системі «мати – плацента – плод», фізіологічної мікробної колонізації організму новонародженого (Б.М. Венцовський та співавт., 2002). При цьому продовження прийому пробіотиків в постнатальному періоді також може бути ефективним (R.J. Boyle et al., 2011).

Таким чином, використання пробіотических бактерій для профілактики алергічних захворювань показало багатообіцяючі результати на сьогоднішній день, хоча і потребує подальшого вивчення.

Література

1. Amdekar S., Dwivedi D., Roy P., Kushwah S., Singh V. Probiotics: multifarious oral vaccine against infectious traumas. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 2010; 58: 299-306.
2. Dotterud C.K., Storro O., Johnsen R. and Oien T. Probiotics in pregnant women to prevent allergic disease: a randomized, double-blind trial. *Br. J. Dermatol.* 2010; 163: 616-623.
3. Goodman W.A., Cooper K.D., McCormick T.S. Regulation generation: the suppressive functions of human regulatory T-cells. *Crit. Rev. Immunol.* 2012; 32: 65-79.
4. Gueimonde M., Sakata S., Kalliomaki M., Isolauri E., Benno Y., Salminen S. Effect of maternal consumption of *Lactobacillus GG* on transfer and establishment of fecal bifidobacterial microbiota in neonates. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2006; 42 (2): 166-170.
5. Johansson M.A., Sjogren Y.M., Persson J.O., Nilsson C., and Sverre-remark-Ekstrom E. Early colonization with a group of *Lactobacilli* decreases the risk for allergy at five years of age despite allergic heredity. *PLoS One.* 2011; 6 (8): e23031.
6. Kuitunen M., Kukkonen K., Juntunen-Backma K., Korpela R., Poussa T., Tuure T., Haahtela T., Savilahti E. Probiotics prevent IgE-associated allergy until age 5 years in cesarean-delivered children but not in the total cohort. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2009; 123 (2): 335-341.
7. Kim N.Y., Ji G.E. Effects of probiotics on the prevention of atopіc dermatitis. *Korean J. Pediatr.* 2012; 55 (6): 193-201.
8. Neu J., Rushing J. Cesarean versus vaginal delivery: long term infant outcomes and the hygiene hypothesis. *Clin Perinatol.* 2011; 38 (2): 321-331.
9. Toh Z.Q., Anzela A., Tang M.L., Licciardi P.V. Probiotic therapy as a novel approach for allergic disease. *Front Pharmacol.* 2012; 3: 171.
10. Shaw M.H., Kamada N., Kim Y.G., Nunez G. Microbiota-induced IL-1beta, but not IL-6, is critical for the development of steady-state TH17 cells in the intestine. *J. Exp. Med.* 2012; 209: 251-258.

АНОНС

Науково-практична конференція з міжнародною участю «Дні гастроентерології в Києві» 21-22 листопада 2013 року, м. Київ

Організатор:

Всеукраїнська громадська організація «Українське товариство терапевтів».
01030, Київ, бульвар Тараса Шевченка, 17. Тел.: (044) 234-29-02, 234-29-12