

Особливості місцевого імунітету в дітей грудного віку з дисбактеріозом кишечника

О.М. Муквіч

ДУ «Інститут педіатрії, акушерства і гінекології АМН України», м. Київ

Визначено стан місцевого імунітету в дітей перших місяців життя з порушенням мікробного пейзажу кишечника. Установлено кореляційну залежність між кількістю секреторних імуноглобулінів, проліферативною активністю потенційно-патогенної мікрофлори та показниками основних складових слизу кишечника.

Ключові слова: дисбактеріоз, імуноглобуліни, діти.

На слизові оболонки травного тракту, як і на інші слизові оболонки організму дитини, постійно впливають різні речовини та мікроорганізми, у тому числі мікроби – збудники низки захворювань, харчові та бактеріальні алергени, токсини. Доведено, що проникненню чужорідних агентів до внутрішнього середовища організму запобігає бар'єрна функція слизових оболонок шляхом взаємодії комплексу неспецифічних факторів (перистальтичні хвилі в'їждчастого епітелію, виділення слизу, продукція ферментів та ін.) та специфічних імунних механізмів [3, 8, 9].

У разі різних ушкоджень органів травлення, які супроводжуються порушеннями ферментативної активності, усмоктування білків, вітамінів, мінералів, зниженням бар'єрної функції слизових оболонок, виникають вторинні зміни функціональних властивостей імунокомпетентних клітин травного тракту, які згодом сприяють розвитку алергійних реакцій, формуванню аутоімунних та імунодефіцитних станів [2, 5, 10].

Проте залишається нез'ясованим, чому організм одних дітей здатен ефективно протидіяти агресії потенційних антигенів, а в інших розвиваються патологічні процеси, які з часом можуть призводити до формування не тільки запальних, а навіть виразкових або неопластичних утворень. Незважаючи на численні дослідження в питаннях формування імунопатогенетичних механізмів у слизовій оболонці травного тракту, пусковий механізм їх розвитку та значення потенційно-патогенних бактерій у виникненні цих порушень до цього часу дискутується. Не до кінця визначено, які зміни в імунному захисті макроорганізму спричинює тривала персистенція неінвазивних, слабо вірулентних інфекцій або, навпаки, які дефекти імунітету слизових оболонок можуть призводити до її підтримання [6, 13, 14].

Виходячи з того, що первинною реакцією місцевого імунітету є все ж таки реакція на бактеріальні та харчові алергени, можна припустити, що збільшення їх концентрації теоретично може призвести до зриву імунологічної толерантності у випадках генетичної схильності.

Основний захист слизових оболонок травного тракту від патогенного впливу інфекційно-токсичних агентів здійснюють антитіла, які синтезуються в імунній системі слизових оболонок (ІСС).

Тому актуальним є визначення особливостей їх формування на ранніх етапах онтогенезу, що може стати важливим діагностичним та прогностичним фактором розвитку не тільки захворювань органів травлення, а і інших систем організму.

Мета дослідження – вивчення реакцій основних факторів місцевого імунітету кишечника в разі порушень кишкового мікробіоценозу в дітей на першому році життя.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Обстежена 141 дитина віком від 1 до 6 міс, із них 91 дитина вигодовувалася грудним молоком, а 50 – адаптованими або частково адаптованими молочними сумішами без додавання пре- або пробіотичних компонентів. Під час забору матеріалу всі діти не мали гострих інфекційних захворювань, не отримували антибактеріальну, пре- або пробіотичну терапію.

Мікробіологічну діагностику проводили за методами та вимогами наказу № 535 МОЗ СРСР від 22.04.1985 р. та наказу № 59 МОЗ України від 2003 р. За допомогою бактеріологічних методів аналізували кількісний та видовий склад мікрофлори кишечника.

Ступінь порушень біоценозу кишечника оцінювали за методичними рекомендаціями «Діагностика і лікування дисбактеріозів кишечника» (Москва, 1991).

За уніфікованою робочою класифікацією дисбактеріозів (І.Б. Куваєва, К.С. Ладодо, 1991) виділяли 4 ступеня дисбіотичних розладів кишечника.

Відповідно до поставлених задач діти були розподілені на 3 групи:

- перша (контрольна) група: 47 практично здорових дітей, що перебували виключно на грудному вигодовуванні, без бактеріологічних ознак дисбіозу кишечника;
- друга група: 45 дітей, під час бактеріологічного дослідження яких встановлено дисбіоз кишечника I–II ст., із них 28 дітей на грудному та 17 – на штучному вигодовуванні;
- третя група: 49 дітей з дисбіозом кишечника III–IV ст., 16 дітей на грудному вигодовуванні та 33 – на штучному.

Копрофільтрати (10%) виготовляли шляхом гомогенізації калу на фізіологічному розчині не пізніше 2–3 год після акту дефекації. Отриманий гомогенат центрифугували 20 хв (8000 об/хв) у холодовій центрифугі K-24, а потім фільтрували. У фільтратах визначали: концентрацію глікозаміногліканів (мкг/мг), загальної фукози (мкмоль/мг) та білка, на 1 мг якого розраховували концентрацію зазначених показників.

В отриманих копрофільтратах визначали імуноглобуліни (Ig G, Ig M, Ig A, SIg A) методом радіальної імунодифузії в гелі за Манчіні.

Дані клінічних та лабораторних досліджень оброблені методами математичної статистики, що прийнята в біології та медицині. Обчислювальні операції здійснювали за допомогою дискримінантного покрокового аналізу із застосуванням пакета програм Microsoft Excel (SAS та SPSS). Формування бази даних проводили за допомогою програми SPSS for DOS. Статистичний аналіз даних виконували за допомогою статистичного пакета SAS (USA).

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Для оцінки стану місцевого імунітету були визначені концентрації специфічних (секреторний Ig A, імуноглобуліни класів A, G, M) факторів місцевого імунітету в копрофільтратах дітей віком від 1 до 6 міс залежно від ступеня порушення кишечного мікробіоценозу.

Дані про концентрацію гуморальних факторів місцевого імунітету копрофільтратів представлено в табл. 1.

Концентрація імуноглобулінів у копрофільтратах дітей з дисбіозом кишечника

Імуноглобулін копрофільтратів	Концентрація імуноглобулінів у групах, г/л		
	1-ша, n=47	2-га, n=45	3-тя, n=49
Ig G	0,30±0,067	0,26±0,044	(0,14±0,020)* ■
Ig A	0,10±0,021	(0,34±0,043)*	(0,13±0,008) ■
SIg A	0,83±0,077	(0,41±0,067)*	(0,07±0,017)* ■

Примітки: * – різниця між 1-ю та 2-ю, 3-ю групами вірогідна (p<0,05);

■ – різниця між 2-ю та 3-ю групами вірогідна (p<0,05).

Концентрація факторів місцевого імунітету в копрофільтратах дітей з дисбіозом кишечника на грудному та штучному вигодовуванні

Тип вигодовування	Кількість дітей, n	Концентрація імуноглобулінів, г/л		
		SIg A	Ig A	Ig G
Штучне	50	0,32±0,11	(0,08±0,01)*	0,05±0,04
Природне	44	0,38±0,34	0,14±0,04	0,07±0,01

Примітка: * – різниця між групами вірогідна, p<0,05.

Кореляційні коефіцієнти в дітей з дисбіозом кишечника

Імуноглобулін	Значення кореляційного коефіцієнта в дітей, n=94				
	ГАГ	Гексоза	Загальна фукоза	Вільна фукоза	КУО/г
Ig A	-0,18104	+0,05189	-0,13376	-0,17038	-0,24923
Ig G	+0,0852	+0,0852	-0,11038	-0,15355	-0,25116
SIg A	-0,51372	+0,25091	-0,49627	-0,51380	-0,63063

Відомо, що основним імуноглобуліном секретів слизових оболонок є SIg A, який проявляє активність у біологічних середовищах з високим рівнем протеолітичних ферментів [1]. Установлено, що в дітей з порушенням мікробного пейзажу кишечника концентрація SIg A в копрофільтратах прогресивно знижувалася відповідно до ступеня розгальмування проліферативної активності мікробіот: у дітей 2-ї групи до (0,41±0,067) г/л, 3-ї групи – до (0,07±0,017) г/л і була значно нижчою, ніж у дітей без дисбактеріозу (p<0,05).

У 12,5% дітей 2-ї групи та 34,6% – 3-ї SIg A виявлявся майже в слідових концентраціях.

Виходячи з того, що в кишечнику здорової людини 70–90% імуноцитів секретують Ig A, нами було визначено його концентрацію в дітей з порушенням колонізаційної резистентності кишечника і встановлено дещо іншу залежність: у дітей 2-ї групи концентрація Ig A перевищувала дані в здорових дітей – (0,34±0,043) г/л (p<0,05), а в дітей 3-ї групи спостерігалася досить знижена його концентрація – (0,13±0,008) г/л.

На наш погляд, подібна залежність зумовлена інтенсифікацією споживання Ig A в умовах підвищеного бактеріального навантаження. Проте не виключається і генетично детермінований дефіцит Ig A або неспроможність приєднання секреторного компоненту до дефектного Ig A у відповідного контингенту дітей, що може збільшувати проліферативну активність ППБ або блокувати адгезію анаеробної мікрофлори.

Аналогічна залежність виявлена й щодо Ig G: його концентрація знижувалася паралельно зі зростанням мікробного навантаження. Проте чіткої пропорційної залежності між цими показниками не встановлено (τ=-0,25116).

Характерно, що Ig M у копрофільтратах визначались у 8,8% дітей 2-ї групи та в 7,1% – 3-ї групи.

У дітей без порушень мікробіоти кишечника 86,2% Ig A було представлено димерною формою з включенням секреторного компоненту. У разі порушення колонізаційної резистентності кишечника концентрація в секреті SIg A знижувалася до 54,6% у дітей 2-ї групи та до 35% – 3-ї групи.

Під час аналізу отриманих результатів імунологічних показників у дітей залежно від виду вигодовування встановлено вірогідну різницю в групах тільки відносно Ig A, які дитина могла додатково отримувати з грудним молоком (табл. 2).

Отримані дані підтверджують існуючу думку, що власна система місцевого імунітету дітей у перші місяці життя ще практично не функціонує, тому в цей період надзвичайно важливим є аліментарне надходження захисних факторів з материнським молоком, які і повинні забезпечувати пасивний імунітет.

За кореляційним аналізом між концентрацією SIg A та абсолютною кількістю потенційно-патогенних бактерій (КУО/г) у кишечнику встановлено зворотню пропорційну залежність (τ=-0,63063). Тому в разі збільшення проліферативної активності мікробного обсіменіння кишечника концентрація SIg A зменшується (табл. 3).

Наші дані щодо ефекту SIg A-залежності *in vivo* узгоджуються з даними Macpherson та співавторів [12], які встановили залежність його синтезу від стану нормальної мікрофлори, що колонізує слизові поверхні, та ряду інших факторів, у тому числі від антибактеріальних субстанцій зовнішньої секреції – лактоферину, лактопероксидази, лізоциму.

Установлено зворотню пропорційну залежність і між концентрацією SIg A та показниками слизового бар'єру кишечника: глікозаміногліканів (ГАГ) (τ=-0,51372) та вільної

фукози ($\tau = -0,51380$). Тобто інтенсивність секреції глікопротеїнів з ентероцитів, яка залежить від щільності мікробного обмінення кишечника ($\tau = +0,72142$) та відображає інтенсивність альтеративних процесів слизової оболонки кишечника, узгоджується зі ступенем зниженням концентрації SIg A.

Подібні результати можуть свідчити про те, що пошкодження преепітеліальних структур кишечника призводить до порушення проникності стінки кишечника та розвитку імунопатогенних станів. По суті ці процеси лежать в основі виникнення бактеріальної та харчової алергії, коли підвищується проникність слизової оболонки для високомолекулярних фрагментів харчових та бактеріальних білкових молекул і відбувається їх неповний гідроліз [7].

Безумовно, підвищений потік мікробних антигенів і токсинів у дітей у ранньому онтогенезі в разі неспроможності повноцінного імунологічного захисту може призвести до активації «дрімливих» клонів імунокомпетентних лімфоцитів, що володіють потенційною здатністю продукувати автоантитіла.

Слід брати до уваги і те, що дефіцит селективного Ig A – один з найпоширеніших первинних імунодефіцитів, який розвивається в результаті мутації в структурних генах α -ланцюга, сприяє формуванню затяжних, рецидивних форм інфекційних, алергійних і автоімунних захворювань як кишечника, так і інших органів і тканин [2, 6].

Зазначені захворювання, вірогідно, можуть розвиватися не лише в разі такого грубого порушення імунітету, як первинний імунодефіцит, але й за більш «м'яких» порушень у синтезі SIg A: зниженні його кількості і функціональної активності, пов'язаних, наприклад, з порушеннями в синтезі IL-6, TNF або порушенні цитопротекторної активності слизового бар'єру. Незалежно від причин зниження продукції SIg A призводитиме до підвищеного проникнення у внутрішнє середовище організму мікробних антигенів і за наявності перехресно реагуючих субстанцій – до формування з часом автоімунної відповіді на них [14].

ВИСНОВКИ

1. Стан місцевого імунітету в дітей перших місяців життя характеризується дисбалансом секреторних імуноглобулінів залежно від агресивності та проліферативної активності потенційно-патогенної мікрофлори. Зниження рівня SIg A, Ig A та Ig M у копрофільтратах призводить до порушень захисних механізмів кишечного бар'єру в разі інвазії бактеріями та/або харчовими алергенами.

2. Кореляційна залежність між показниками секреторних імуноглобулінів, слизового бар'єру кишечника та абсолютною кількістю потенційно-патогенних бактерій зумовлює важливість забезпечення та підтримки імунологічного гомеостазу саме в ранньому віці для втримання інтенсифікації мікробної та харчової агресії.

3. Наявність потужного місцевого імунітету є надійною перепорою для проникнення патогенних мікробів у внутрішнє середовище організму й розвитку інфекційного процесу, виникнення якого завжди є наслідком зниження як місцевого, так і системного імунітету. Утворення міцної «оборони» слизових оболонок від інвазії патогенними мікроорганізмами забезпечить більш вдале вирішення проблеми боротьби з інфекційними захворюваннями.

Особенности местного иммунитета у детей грудного возраста с дисбактериозом кишечника

Е.Н. Мукович

Проведено изучение местного иммунитета у детей первых месяцев жизни с нарушениями микробного пейзажа кишечника. Установлена корреляционная зависимость между количеством секреторных иммуноглобулинов, пролиферативной активностью потенциально-патогенной микрофлоры и показателями основных составляющих слизи кишечника.

Ключевые слова: дисбактериоз, иммуноглобулины, дети.

Particularities of local immunity of infants with intestinal dysbacteriosis

E.N. Mukvich

Researched local immunity of intestine of children with deranged microbe view of the intestine. Proved correlative dependence between the quantities of secretory immunoglobulins, proliferate activity of potentially pathogenic microflora and indicators of the basic components of the intestinal mucus.

Key words: dysbacteriosis, immunoglobulins, children.

ЛІТЕРАТУРА

1. Дранник Г.Н. Строение и функции иммунной системы // Клінічна імунологія, алергологія, інфектологія. – 2005. – № 1 (04). – С. 13–15.
2. Нестерова И.В., Швыденко И.Н. Особенности строения и функционирования иммунной системы желудочно-кишечного тракта // Алергологія и иммунологія. – 2002. – Т. 3, № 2. – С. 282–292.
3. Никоненко А.Г. Слизистые оболочки – важный участок защитного барьера организма // Биологическая терапия. – 2005. – № 1. – С. 4–9.
4. Ткаченко Е.И., Успенский Ю.П. Питание, микробиоценоз и интеллект человека. – СПб.: СпецЛит, 2006. – 589 с.
5. Хайтов Р.М. Физиология иммунной системы. – 2001. – М.: ВИНТИ РАН. – 223 с.
6. Хайтов Р.М., Пинегин Б.В. Иммунная система ЖКТ: особенности строения и функционирования в норме и патологии // Иммунологія. – 1997. – № 5. – С. 4–7.
7. Чернишова Л.И., Чернишов П.В., Макуха М.Т. Стан гуморального імунітету в дітей з atopічним дерматитом // Современная педиатрия. – 2007. – № 2 (15). – С. 35–38.
8. Campbell N., Yio X.Y. The intestinal epithelial cell: processing and presentation of antigen to the mucosal immune system // Immunol. Rev. – 2000. – V. 172. – P. 315–324.
9. Cross V.L. Microbes versus microbes: immune signals generated by probiotic lactobacilli and their role in protection against microbial pathogens // Immunol. and medical microbiology. – 2002. – Vol. 34. – P. 245–253.
10. Duffer L.C. Interaction mediating bacterial translocation in the immature intestine // Nutrition. – 2000. – Vol. 130. – P. 432–436.
11. He Fang, Tuomola Elina, Arvilommi Heikki. Modulation of humoral immune response though probiotic intake // Immunology and Medical Microbiology. – 2000. – Vol. 29. – P. 47–52.
12. Macpherson A.J., Gatto D., Saihsbury E. A primitive T-cell – independent mechanism of intestinal mucosal IgA responses to commensally bacteria // Science. – 2000. – Vol. 208. – P. 2222–2226.
13. Ouwenand A., Isolauri E., Salminen S. The role of the intestinal microflora for the development of the immune system in earthy childhood // Eur. J. Nutr. – 2002. – Vol. 41 (Suppl. 1). – P. 132–137.
14. Samarkos M., Vaiopoulos G. The role of Infections in the Pathogenesis of Autoimmune diseases // Current Drug Targets Inflammation and Allergy. – 2005. – Vol. 4. – P. 99–103.
15. Sharma R., Schumacher U. Carbohydrate expression in the intestinal mucosa // Adv. Anat. Embryol Cell Biol. – 2001. – Vol. 160, VIII–IX. – 91 P.