

Иммунная система слизистой кишечника, физиологическая микрофлора и пробиотики

**Профессор Дранник Георгий
Николаевич**

**Заведующий кафедрой клинической иммунологии и
аллергологии с секцией медицинской генетики Национального
медицинского университета им. академика А.А. Богомольца,
заведующий лабораторией иммунологии ГУ «Институт
урологии АМН Украины», Президент Украинского общества
специалистов по иммунологии, аллергологии и**

Врожденный (неспецифический) иммунитет слизистых.

Гуморальное звено.

Барьерные белки (мукус)-муцины

Дефензины α

Дефензины β

Кателицидины

Лектины

-коллектины А и Д

-фиколины (L, M, H, P)

Лизоцим

Лактоферин

Липокалины

Ингибиторы протеаз

- α 2-макроглобулин, серпин, цистатин С

-SLPI, SKALP/elafin

Цитокины

Врожденный (неспецифический) иммунитет слизистых.

Клеточное звено.

1. Дендритные клетки
2. Моноциты/макрофаги
3. Интраэпителиальные Т-лимфоциты
4. Нейтрофилы
5. Тучные клетки
6. Эозинофилы
7. Естественные киллеры

Приобретенный (специфический) иммунитет слизистых характеризуется:

1. Наличием специфических эпителиальных клеток для специфического захвата антигена, т.н. М-клетки.
2. Скоплением В-лимфоцитов, напоминающих по своей структуре фолликулы.
3. Наличием интрафолликулярных участков, где преимущественно расположены Т-лимфоциты вокруг посткапиллярных венул с высоким эндотелием.

Продолжение:

4. Наличием В-лимфоцитов – предшественников IgA-секретирующих плазматических клеток, которые примируются на территории фолликулов.

5. Способностью предшественников IgA-продуцирующих клеток мигрировать через лимфу в региональные лимфатические узлы и далее через грудной лимфатический проток и периферическую кровь распространяться по lamina propria всех органов, имеющих слизистую оболочку.

Общая иммунная система слизистых (mucosa-associated immune system – MALT)

$S \approx 400\text{m}^2$ (кожа 2m^2)

Индуктивная зона

CD4⁺ T-cells

CD8⁺ T-cells

Naso-pharynx
-associated lymphoid
tissue (NALT)

макрофаги, дендритные клетки
sIgA⁺ B-cells

Gut-associated lymphoid
tissue (GALT)

Bronchus-associated lymphoid
tissue (BALT)

Захват антигена АПК

Региональный ЛУ (Распознавание, примирование Т- и В-лимфоцитов)

Грудной лимфатический проток

Циркуляция

Эффекторная зона

LP GALT

Слезная железа

Молочная железа

Слюнная железа

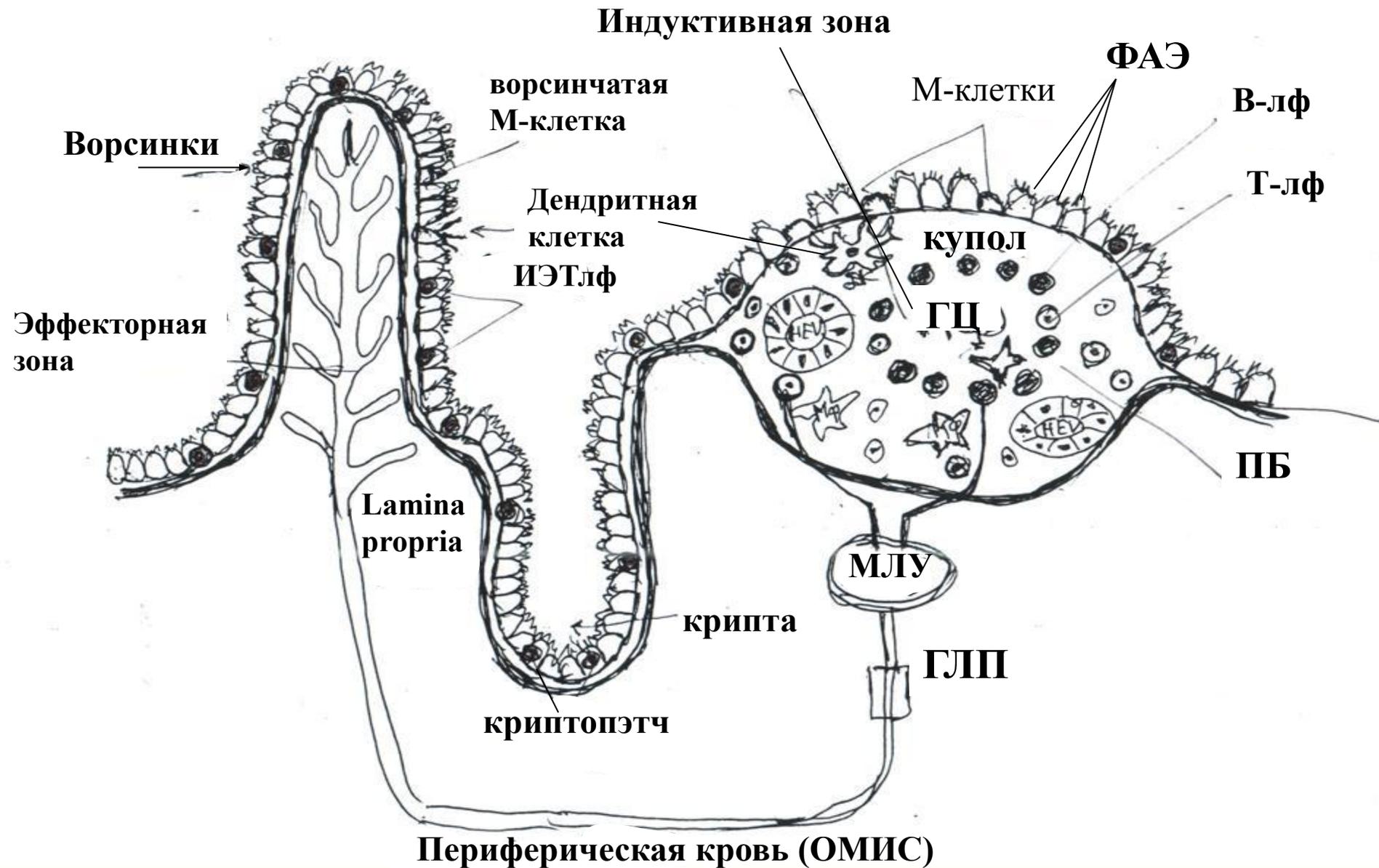
sIgA, интраэпителиальные Т-клетки

LP NALT

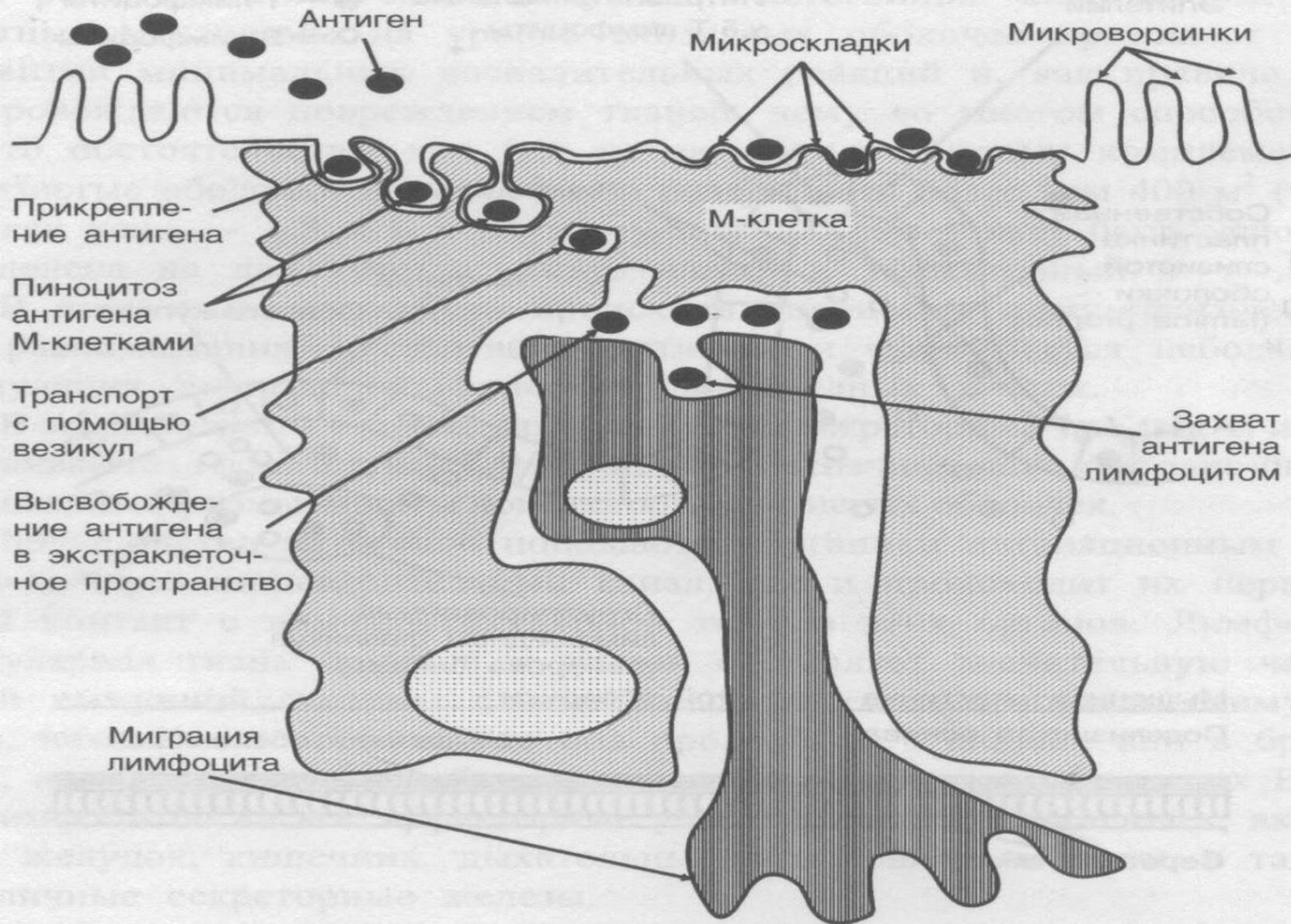
LP BALT

LP урогениталь-
ного тракта

Общая продукция sIgA в день $\approx 9,2\text{г}$
Общая продукция IgG в день $\approx 3\text{г}$



Схематическое изображение взаимосвязи индуктивной и эффекторной зон иммунной системы слизистой кишечника (Weinstein P.D. et al., 1991)



Схематическое изображение транспорта антигена с помощью М-клеток из просвета кишечника во внеклеточное пространство, где антиген захватывается антигенпрезентирующими клетками и Т-лимфоцитами (Owen, 1977).

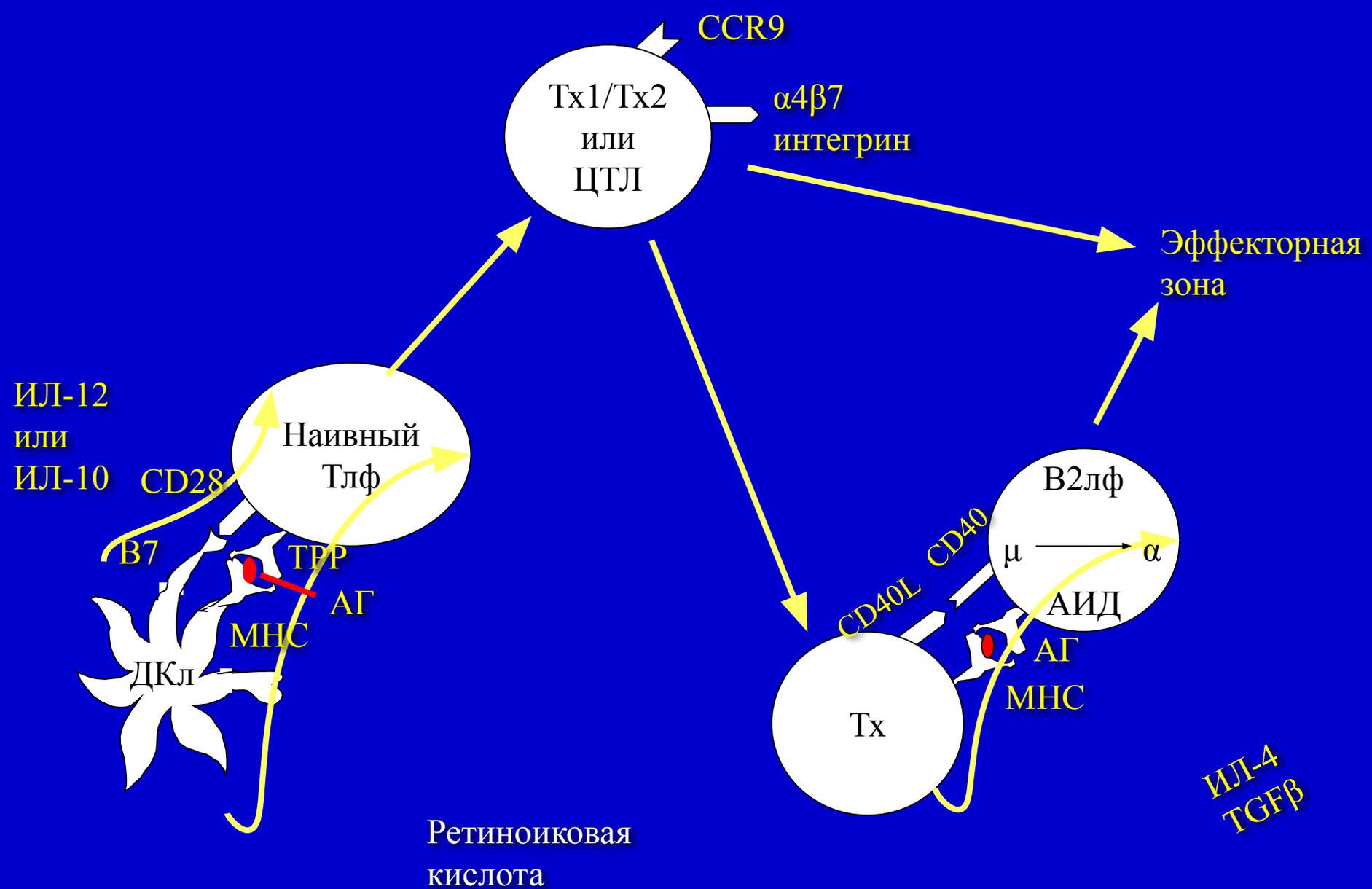


Схема механизмов развития иммунного ответа в индуктивной зоне Пейеровой бляшки (*Jun Kunisawa et al., 2005*).

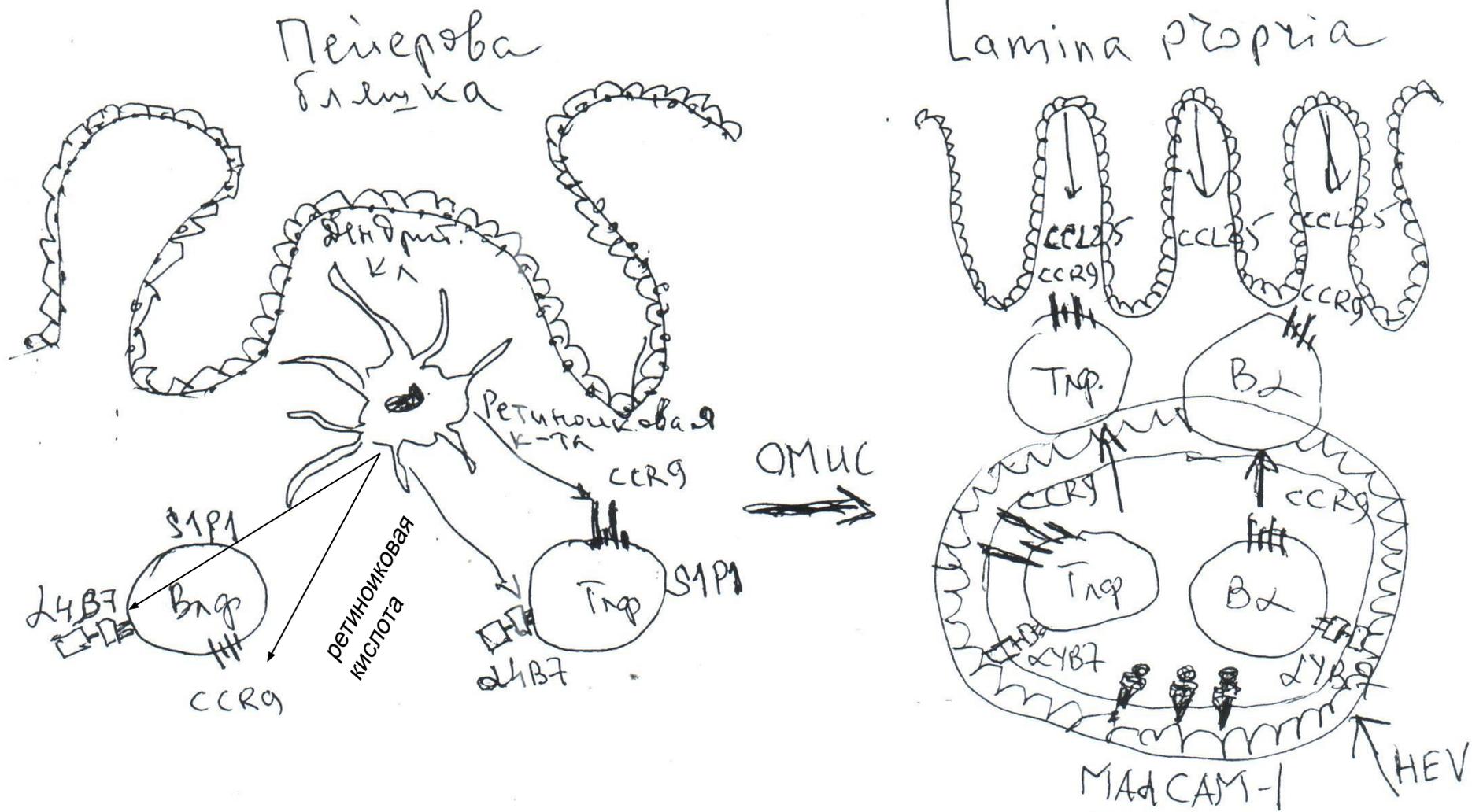


Схема механизмов, участвующих в реализации «homing»-эффекта Т- и В-лимфоцитов в иммунной системе слизистой кишечника (Jun Kunisawa et al., 2005).

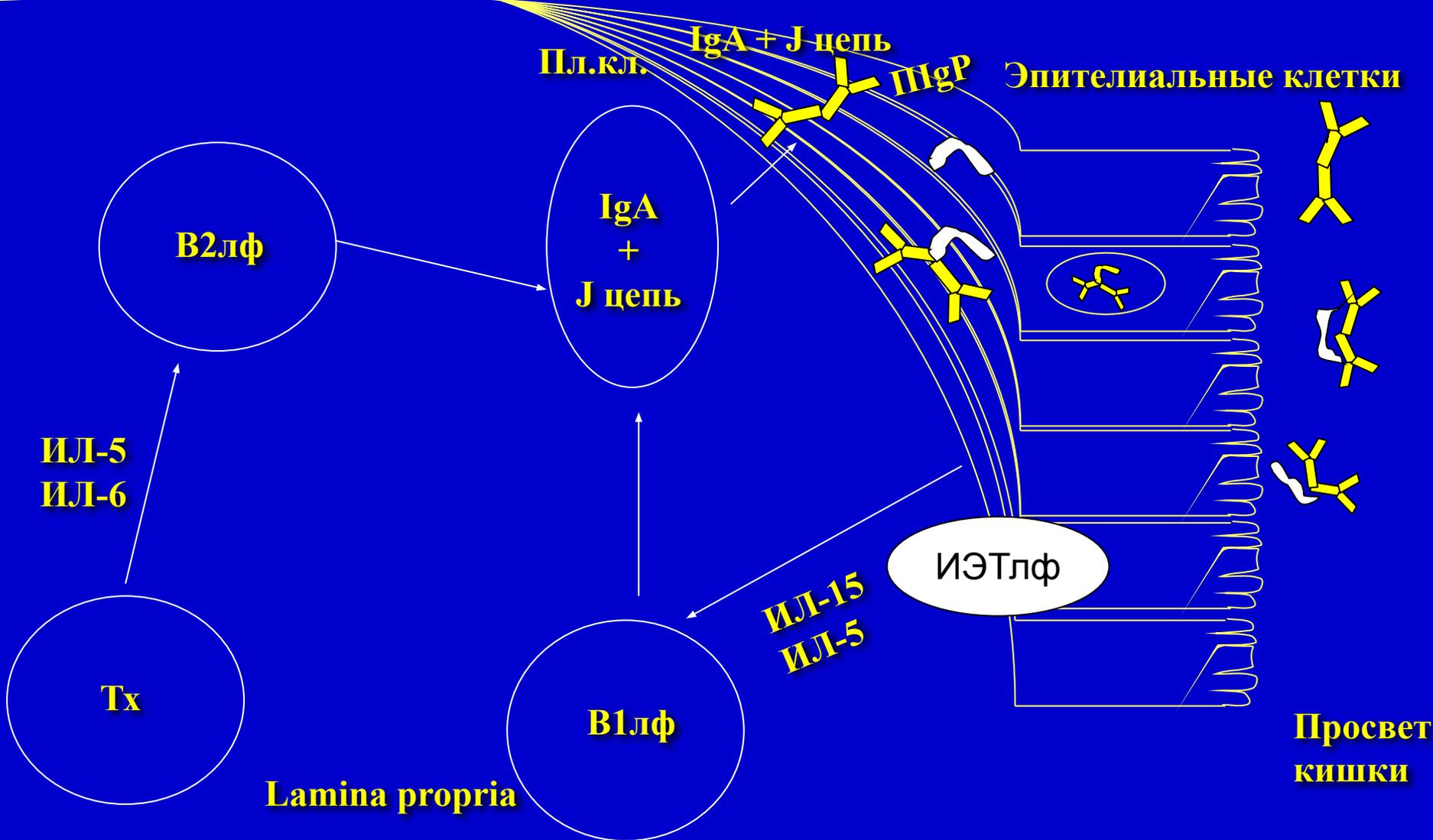


Схема механизмов продукции sIgA В1 и В2 лимфоцитами в эффекторной зоне Пейеровой бляшки (Jun Kunisawa et al., 2005).

-секреторный IgA;

-мукозальные цитотоксические CD8+ $\alpha\beta$ T-лимфоциты (распознавание мишени за счет молекул ГКГ класса I);

-интраэпителиальные гамма-, дельта T-лимфоциты (распознавание мишени за счет белков теплового шока).

МИКРОБИОТА

Благодаря работам И.И. Мечникова и Л. Пастера стало понятным, что нормальная микрофлора (микробиота) пищеварительного канала играет важную роль в поддержании здоровья организма хозяина, принимая участие в различных метаболических процессах, а также в формировании и поддержании функционирования иммунной системы и, тем самым, в обеспечении противоинойфекционной защиты.

Основные эффекты физиологической микрофлоры

1) Колонизационная резистентность

- колонизация эпителиальной зоны;
- межмикробный антагонизм (снижение жизнеподдерживающего субстрата и/или конкуренция за него;
- конкуренция за рецепторные места прикрепления — (конкурентное исключение — блокада рецепторов адгезинами микрофлоры);
- генерация условий, ограничивающих выживание (поддержание кислой рН; бактериостатический эффект летучих жирных кислот; Re-dox потенциал);
- иммунная функция (синтез иммуноглобулинов, интерферона);
- продукция анти-микробных субстанций (бактериоцины).

Основные эффекты физиологической микрофлоры *(продолжение)*

- 2) детоксикация (инактивация энтерокиназы, щелочной фосфатазы);
- 3) ферментативная функция (гидролиз продуктов метаболизма белков, липидов, углеводов);
- 4) пищеварительная функция (повышение физиологической активности желез пищевого канала);
- 5) антианемическая функция (улучшает всасывание железа);
- 6) антирахитическая функция (улучшает всасывание кальция, кальциферолов — вит. D)

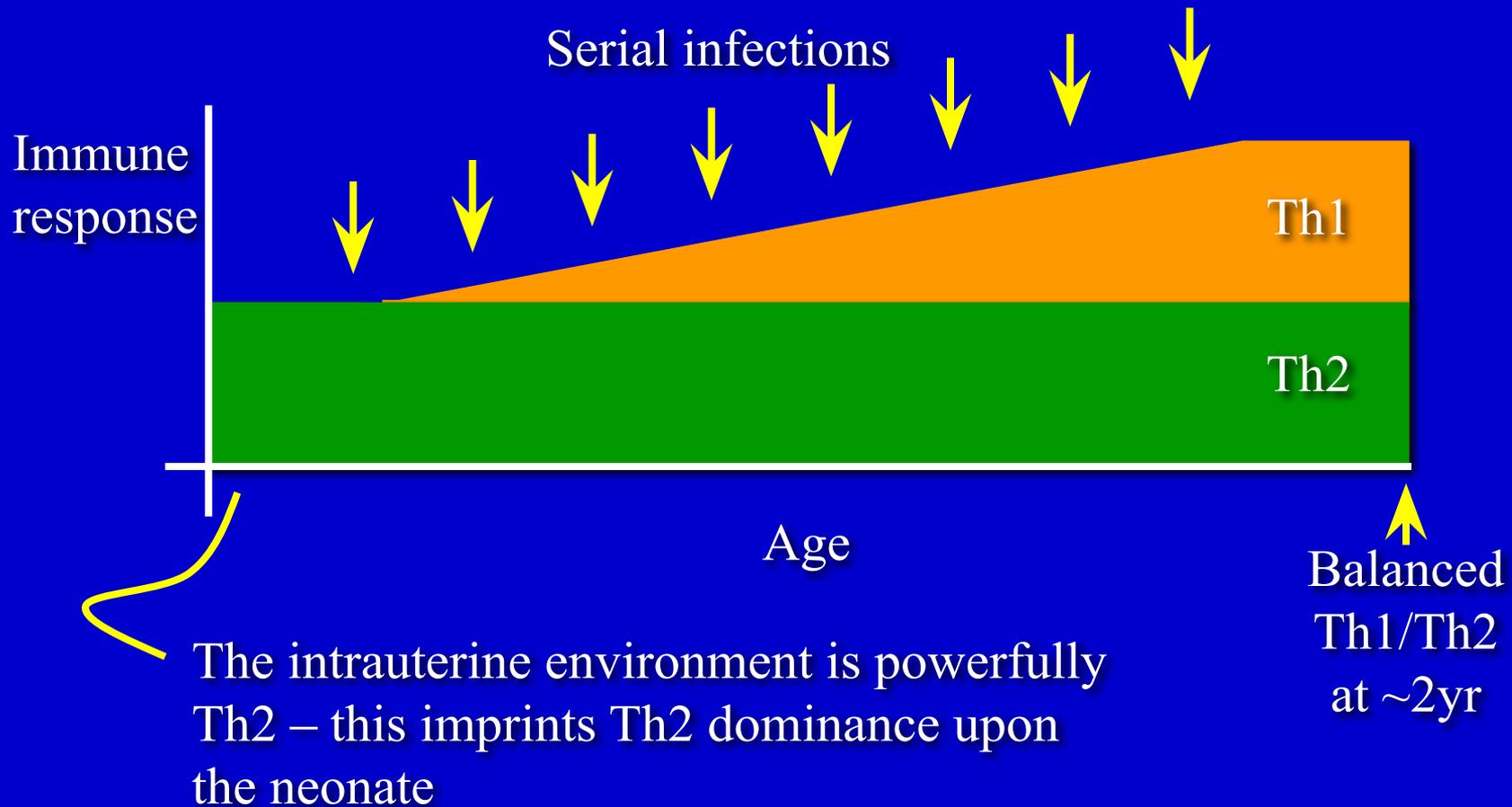
Важная роль взаимодействия физиологической микрофлоры и иммунной системы

1. Формирование и последующее поддержание иммунной системы слизистых (MALT и GALT, в частности).
2. Участие в переключении иммунной системы с Th2 на Th1.
3. Создание и поддержание толерантности к пищевым и микробным антигенам.
4. Управление провоспалительными механизмами.

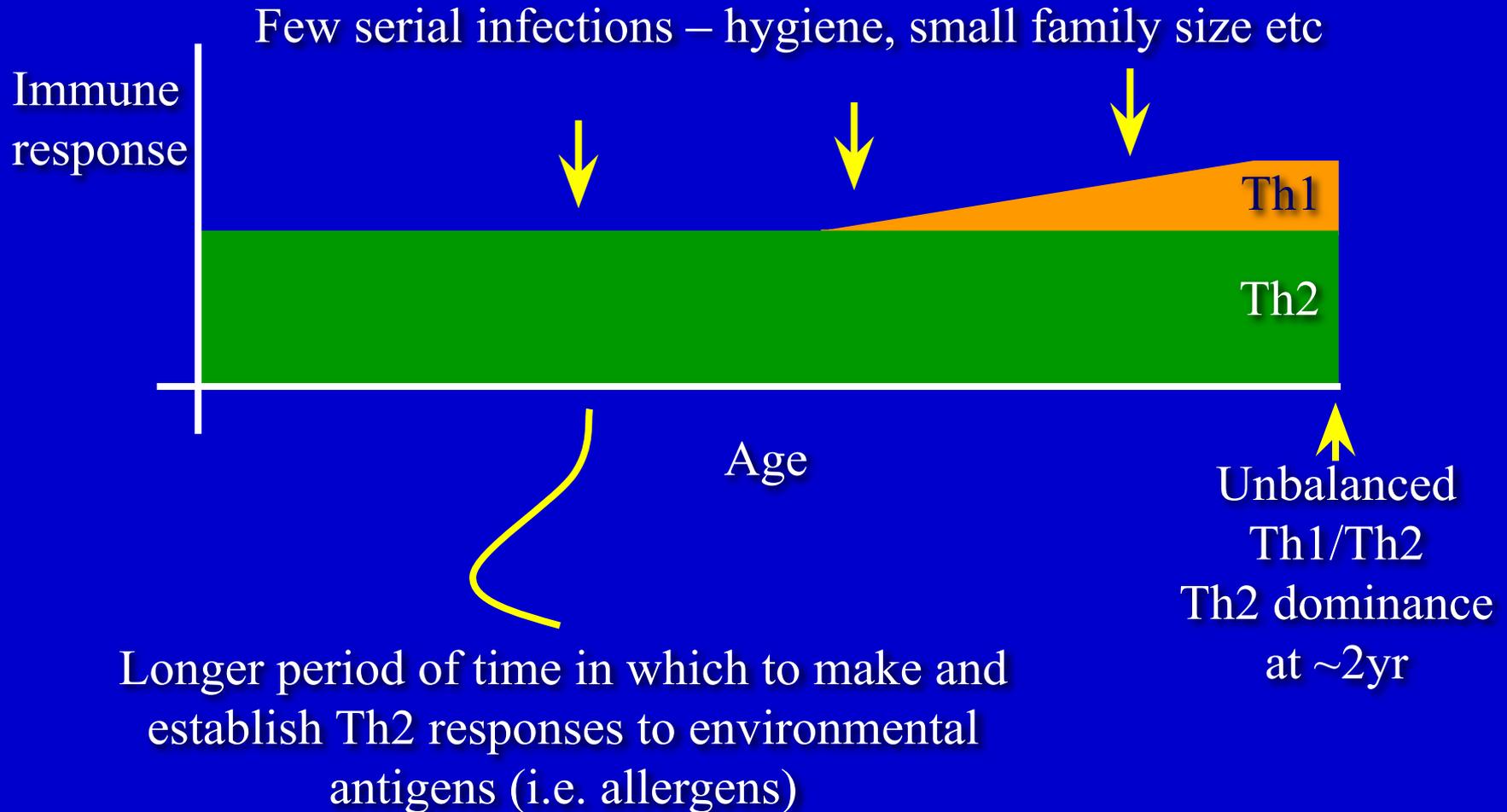
Участие микробиоты в переключении иммунной системы с Th2 на Th1



Neonatal & infant immune systems



Delayed maturation of Th1 capacity



**Создание и поддержание
толерантности к пищевым и
микробным антигенам**

Макромолекулы преодолевают кишечный барьер через:

1. Межэпителиальные промежутки, особенно при «открытии» зон смыкания.

Межэпителиальный транспорт приводит к воспалительным реакциям.

2. Через эпителиальные клетки путем:

- рецептор-независимого трансцитоза; при этом белки разрушаются ферментами;
- рецептор-зависимого трансцитоза (при этом белки не разрушаются).

Трансцитоз способствует формированию толерантности (оральной).

Оральная толерантность – такая форма толерантности, при которой зрелые лимфоциты локальной и периферической лимфоидной ткани теряют способность отвечать иммунным ответом на специфический антиген при условии его предварительного введения через рот (*S.Strobel, 2002*).

Для индукции оральной толерантности необходима определенная зрелость мукозальной иммунной системы.

Механизмы оральной толерантности.

1. Клональная делеция – гибель Т-лимфоцитов под влиянием высоких доз антигена.
2. Клональная анергия – отсутствие ко-стимуляционного сигнала, толерогенные дендритные клетки и эпителиальные клетки. Эпителиальные клетки продуцируют тимический стромальный лимфопоэтин, который толеризирует дендритные клетки.
3. Антиген-индуцирующая супрессия – созревание Treg, ИЛ-10, TGFβ.

Иммунологический парадокс (Война и мир на поверхности слизистых) (Sansonetti, 2007)

В организме человека сосуществуют **ТОЛЕРАНТНОСТЬ** к комменсалам с одновременным быстрым и эффективным распознаванием / элиминацией бактериальных патогенов за счет развития **ВОСПАЛЕНИЯ**

Механизмы поддержания «физиологического воспаления» и толерантности.

Микробы

- комменсалы образуют биопленки в слизи, что обеспечивает дистанцию от эпителия
- комменсалы плохо распознаются
 - LPS грамм-комменсалов (*Bacteroides*) являются пентацилатами, а не гексацилатами; они скорее антагонисты TLR4
 - флагеллины комменсалов плохие агонисты для TLR5, не секретируют мономерную форму

Эпителий

- активация PRRs индуцирует продукцию анти-микробных пептидов, которые усиливают защитный барьер
- различная компартиментализация и экспрессия PRRs (например, TLR2, 4, 5) и/или коактивационных молекул (например, CD14, MD2)

Субэпителиальная ткань (*lamina propria*)

- иммунные связи направлены на создание и поддержание толерантности (например, Мф, ДКл, Treg)
- комменсалы подавляют провоспалительный механизм

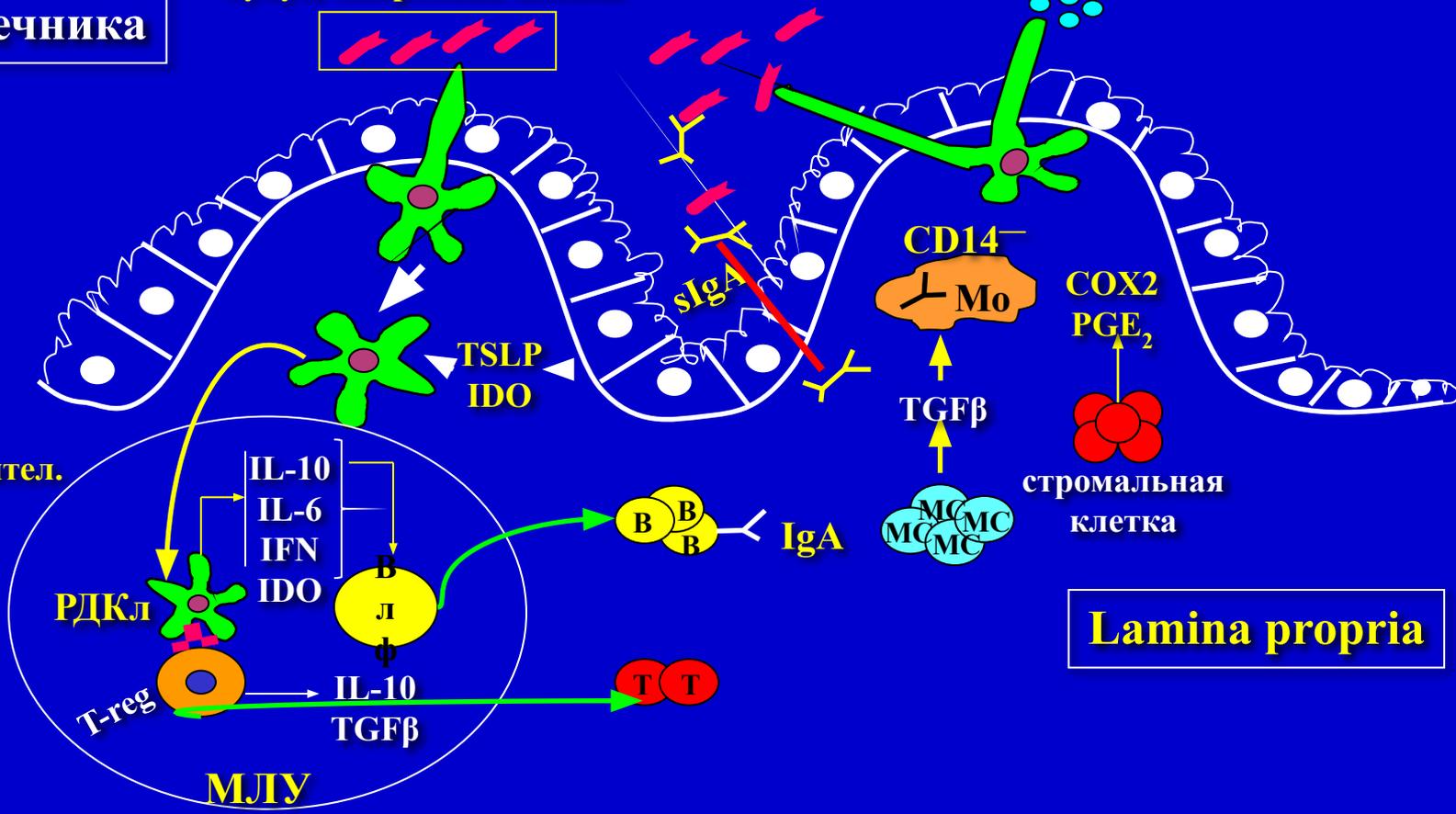
Механизмы толерантности к пищевым антигенам и микробиоте

Просвет
кишечника

мукус, микробная пленка

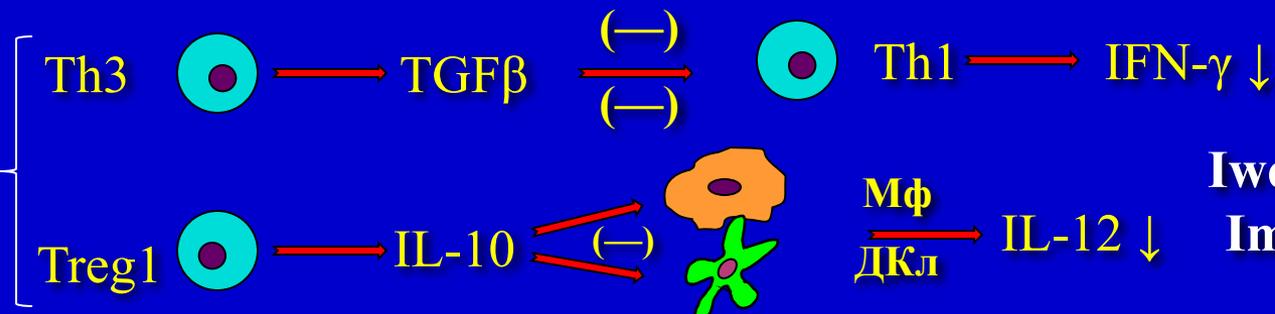
пищевые аллергены

индукция
не-воспалител.
ДКл



Lamina propria

Treg/FoxP3



Iweala & Nagler.
Immunol. Rev.,
2006

Относительная толерантность эпителиоцитов к комменсалам связана с двумя механизмами:

- 1) *пассивный* — комменсалы и их продукты не активируют NFκB трансдукционный путь.
- 2) *активный* — некоторые комменсалы способны активно подавлять NFκB-путь за счет предотвращения инактивации ингибиторных белков (IκB).

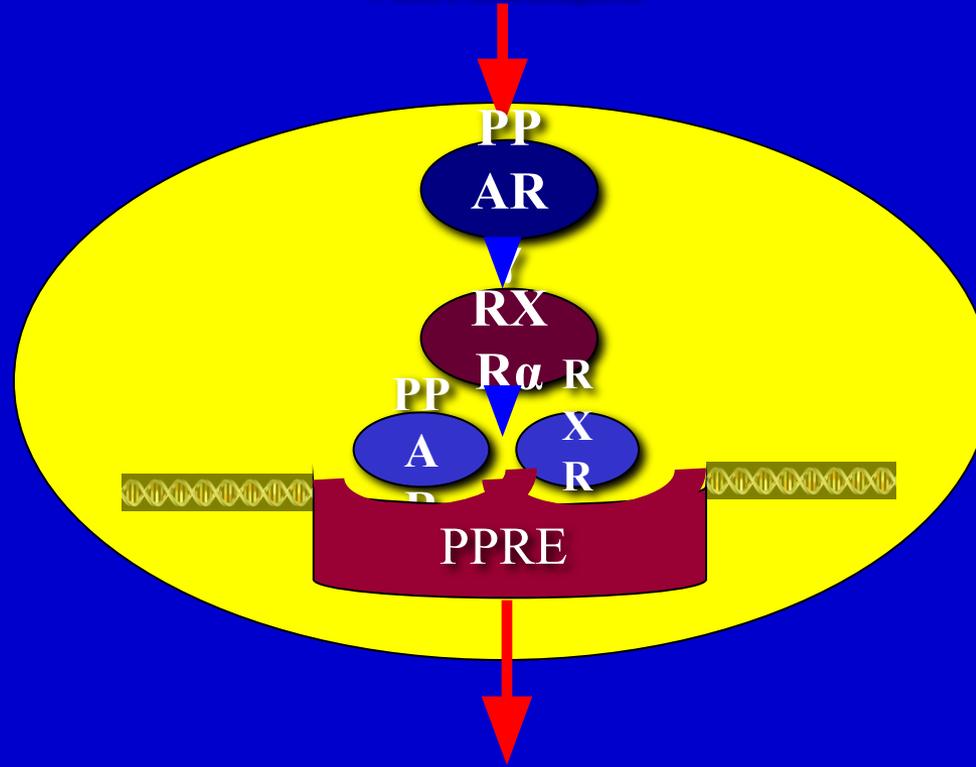
Относительная толерантность
иммунной системы слизистых к
микробиоте обеспечивает
«физиологический» характер
перманентного воспаления.

**Управление
провоспалительными
механизмами**

Пероксисомального пролифератора-активатора рецептор γ (PPAR γ) принадлежит к семейству ядерных транскрипционных факторов, был открыт в 1993 году (Zhu Y. et al.).

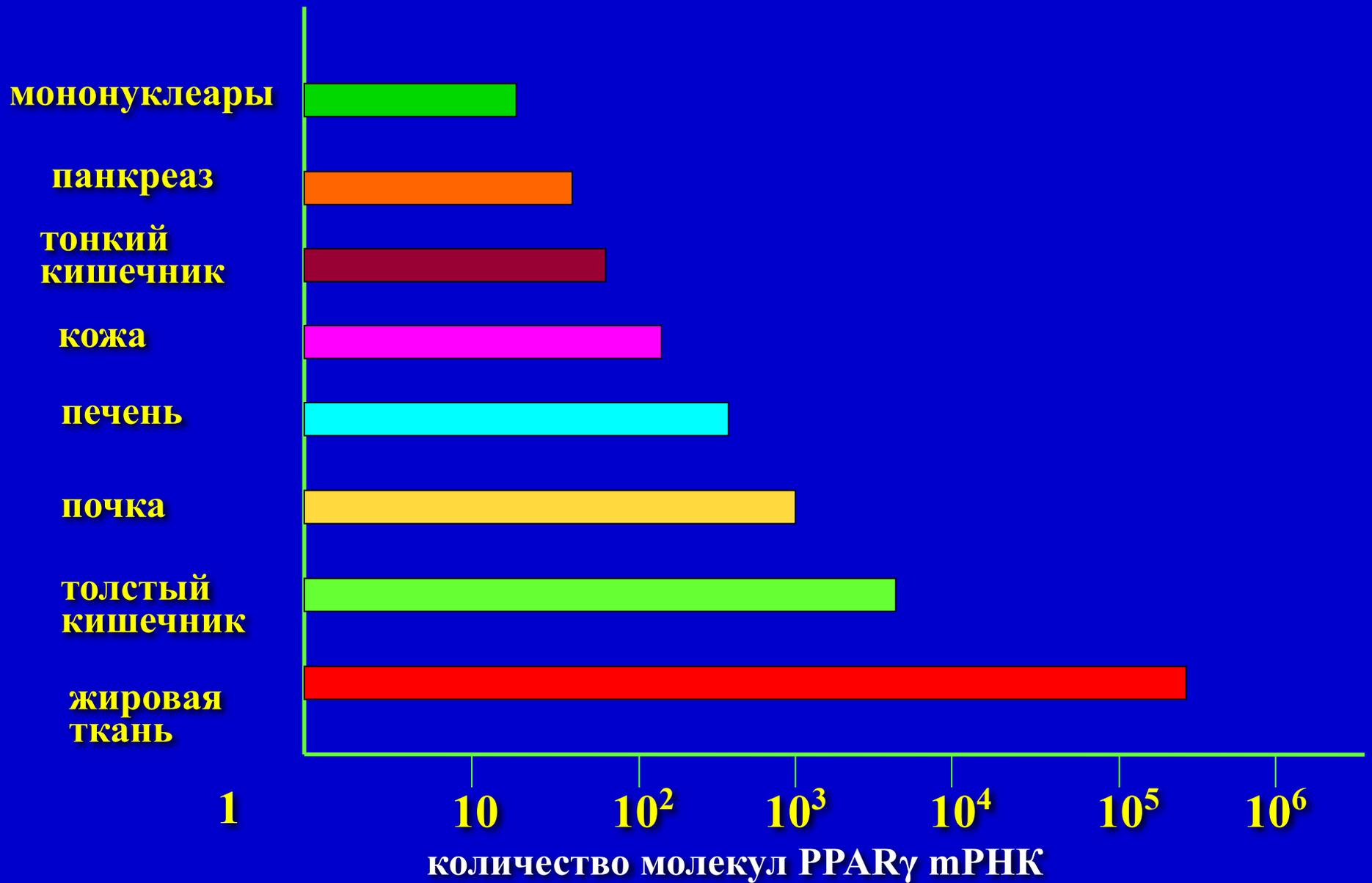
Контролирует экспрессию большого количества регуляторных генов, участвующих в метаболизме липидов, чувствительности тканей к инсулину, воспалении и пролиферации (Debie M.V. et al., 2001; Pajas I. et al., 2001).

Активация

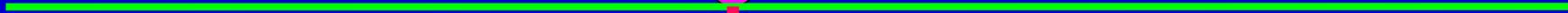
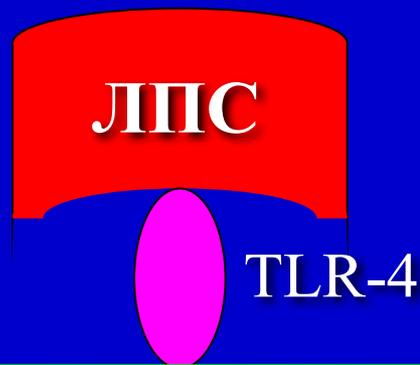


Регуляция экспрессии генов и подавление
сигнальных путей воспаления

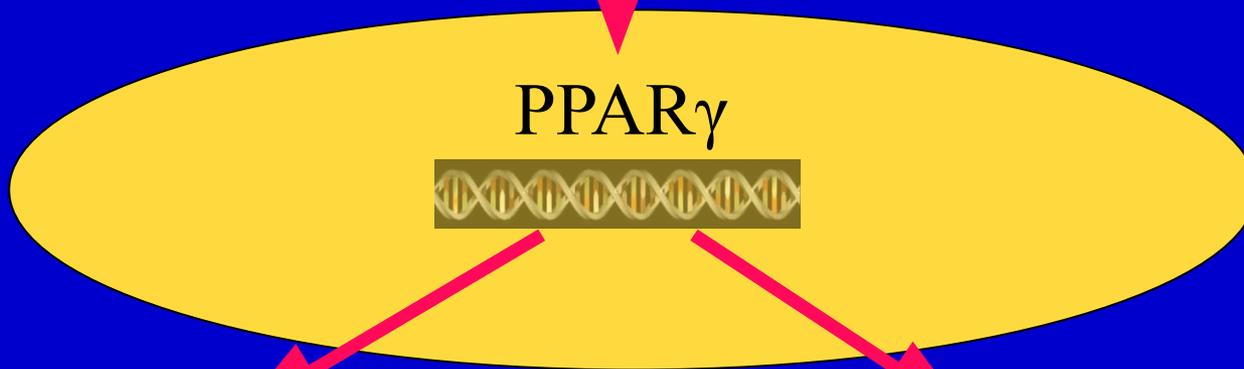
- Активация γ -рецептора пролифератора-активатора пероксисомы
- Гетеродимеризация с α -рецептором ретиноида X (RXR α)
- Связывание в ядре с элементом ответа пролифератора пероксисомы
- Экспрессия (активация) генов, контролирующих многие биологические процессы, в частности, воспаление



Экспрессия PPARγ в разных тканях



Эпителиальная клетка



экспрессия

активация

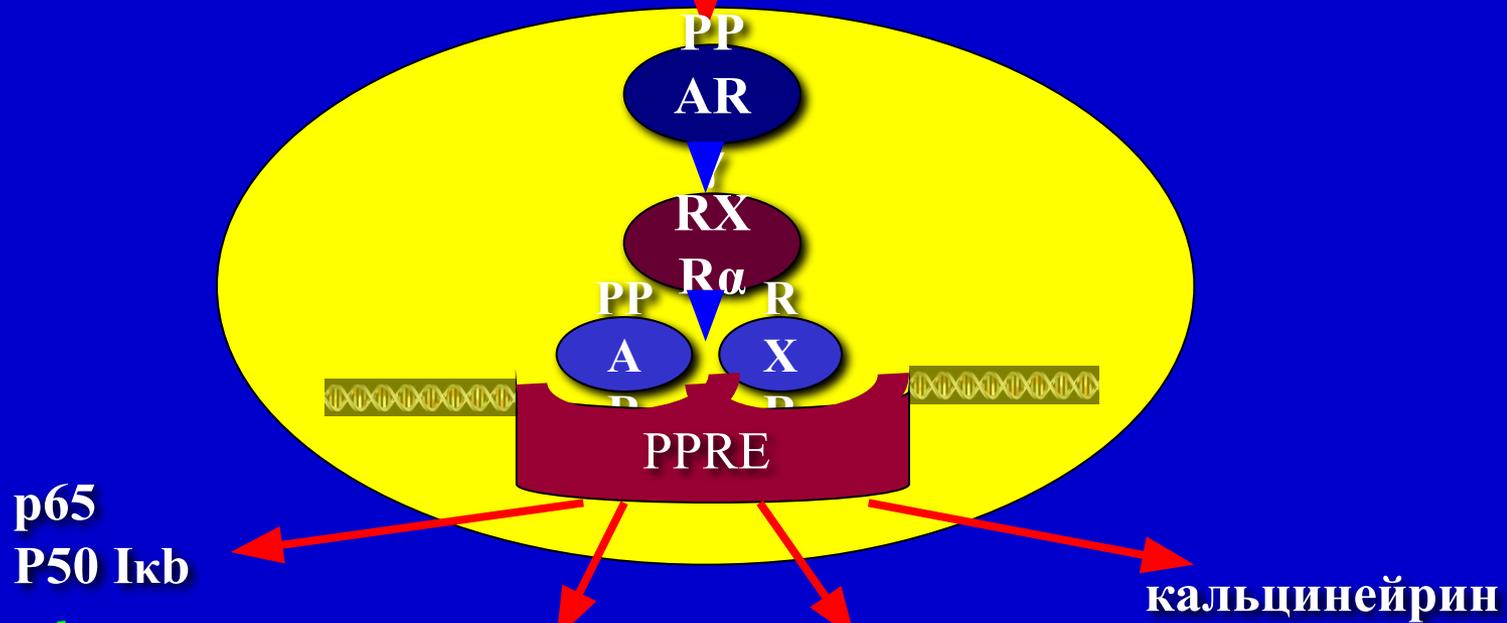
Связывание TLR-4 с ЛПС комменсальной флоры приводит к повышению экспрессии PPAR γ и его активации.

Экспрессия PPAR γ зависит от LPS, который принадлежит комменсальной флоре.

Отсутствие PPAR γ на поверхности эпителиальных клеток кишечника дает начало воспалению, а затем его поддерживает.

Показано, что PPAR γ активировался в присутствии комменсала *Bacterioides thetaiotamicron*, но не в присутствии патогенного микроорганизма *Salmonella enteritides* 9 (Kelly et al.).

Активация



p65
P50 IκB

кальцинейрин

JNK

p38

NFκB

AP 1

AP 1

NFAT

подавление сигнальных путей

цитокины, хемокины, адгезивные молекулы, пролиферация клеток

подавление воспаления и инфильтрации клеток

ПРОБИОТИКИ

Идея употребления в пищу живых молочнокислых бактерий, оказывающих благоприятный эффект на организм человека, принадлежит И.И.Мечникову (1908), который впервые обосновал концепцию «пробиотиков». В настоящее время под термином «пробиотики» подразумевают «живые микроорганизмы, которые, будучи введены в организм в достаточном количестве, оказывают положительный эффект на здоровье хозяина» *(FAO и WHO – Food a. Agricultural Organization of the United Nations and World Health organization) (F.M. Luquet, G.Corrieu, 2005).*

Основные эффекты пробиотиков.

1. Нормализация барьерной функции эпителия (tight junction, zona occludens).
2. Улучшение микроэкологии кишечника (повышение колонизационной резистентности).
3. Регуляция цитокинового баланса и ангиогенеза (подавление ОНФа и связанного с ним апоптоза колоноцитов; стимуляция ИЛ-10, TGFβ).
4. Повышение синтеза sIgA.
5. Стимуляция факторов врожденного иммунитета.

В контексте пробиотических продуктов питания определение «пробиотик» звучит следующим образом: «продукт, содержащий живые микроорганизмы в достаточном количестве, который оказывает благоприятное влияние на здоровье хозяина в дополнение к его первичному пищевому эффекту».

Компания Данон создала пробиотический продукт **Actimel**, который содержит 2 обычно используемых пробиотических йогуртовых штамма, а также 10^8 КОЕ/г *Lactobacillus casei* IMUNITASS (DEFENSIS).

L.casei IMUNITASS (DEFENSIS):

- ингибирует ротавирусную инфекцию;
- индуцирует секреторную активность клеток Панета;
- подавляет увеличение индуцированной энтеропатогенными кишечными палочками парацеллюлярной проницаемости;
- ингибирует способность *Escherichia coli*, выделенной у пациентов с болезнью Крона, к адгезии и инвазии в эпителиальные клетки кишечника.

L.casei IMUNITASS (DEFENSIS):

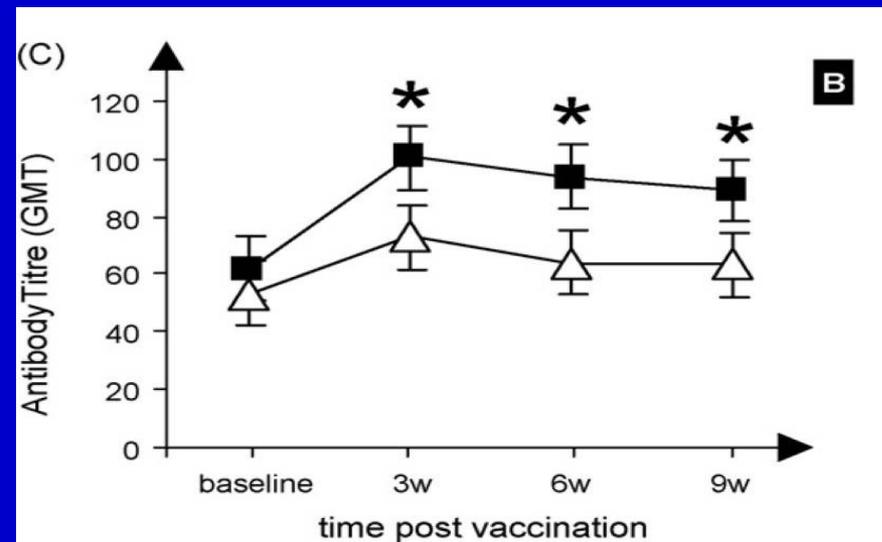
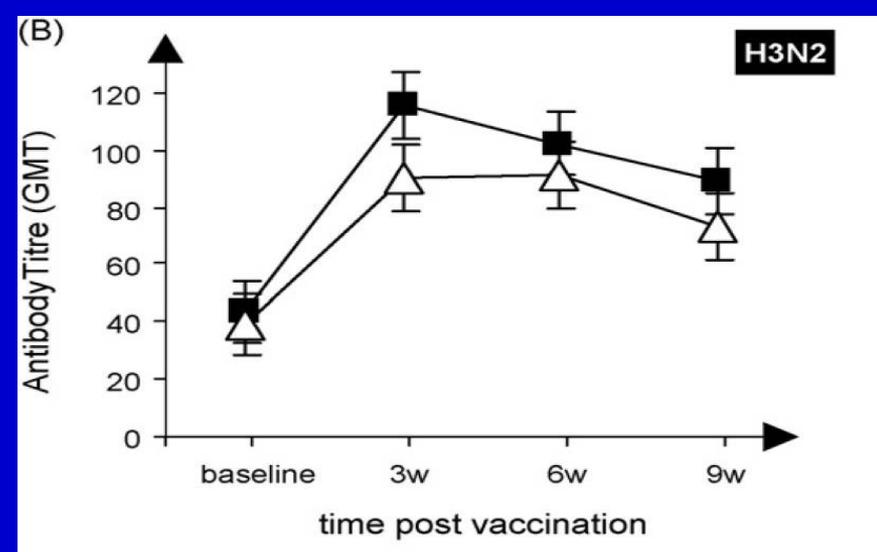
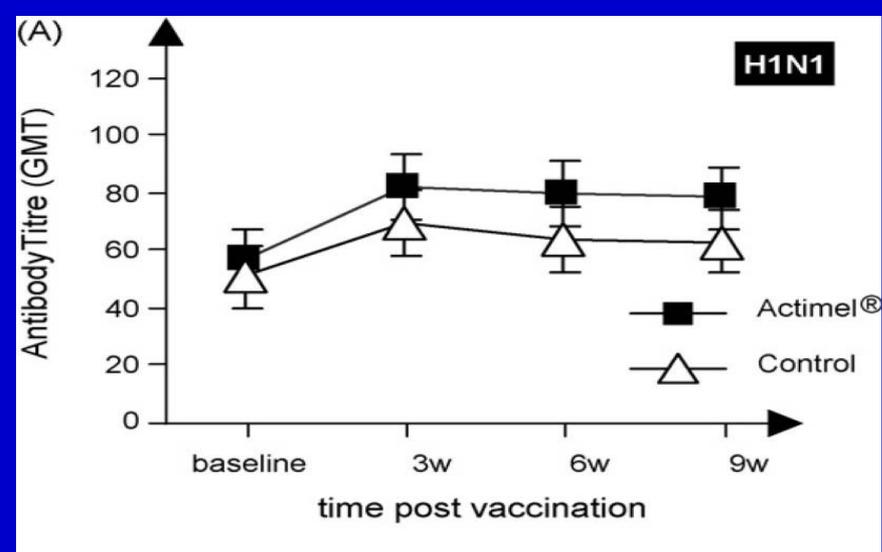
- модулирует врожденный клеточно-опосредованный иммунный ответ во время **интенсивных физических нагрузок** (Pujoł P. и соавт., 2000) и **психологического стресса** (Marcos A. et al., 2004);
- снижает число случаев заболевания диареей у маленьких детей** (Pujoł P. et al., 2000);
- сокращает продолжительность зимних инфекций у людей старше 60 лет** (Turchet P. и соавт., 2003);

L.casei IMUNITASS (DEFENSIS):

-усиливает иммунный ответ против гриппозной вакцины у пожилых людей (Aubin J.T. et al., 2007);

-способствует более эффективной эрадикации на ликвидацию H. pylori у детей (Sykora J. и соавт, 2005);

-подавляет активацию тучных клеток, активированную IgE (C.Schiffer-Mannioui et al., 2007)



Проанализировали два рандомизированных, многоцентровых, двойных, слепых, контролируемых исследований по итогам вакцинаций против гриппа двух сезонов (2005-2006гг. и 2006-2007гг.) на контингенте пожилых людей (>70 лет) (*Thierry Boge et al., 2009*).

Вывод: потребление пробиотического продукта, содержащего *L.casei* IMUNITASS (DEFENSIS), способствует улучшению продукции специфических антител против гриппозных вирусов, входящих в состав вакцины, что повышает резистентность к гриппу.

Положительный эффект пробиотиков доказан при следующих заболеваниях (состояниях).

1. Диарея, ассоциированная с применением антибиотиков.
2. Непереносимость лактозы.
3. Атопический дерматит у детей.
4. Кишечный дисбиоз.

Есть данные по эффективности пробиотиков при:

1. Воспалительные заболевания желудочно-кишечного тракта (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит).
2. Рак толстой кишки.
3. Язва желудка и 12-перстной кишки (*Helicobacter pylori*).
4. Урогенитальные инфекции.
5. Синдром раздраженного кишечника.
6. Вирусные инфекции.

Факторы риска при приеме пробиотиков.

Большие:

1. Тяжелые иммунодефициты, включая наличие опухолей.
2. Недоношенность.

Малые:

1. Диарея, кишечное воспаление
2. Введение пробиотиков через еюностому.
3. Наличие у больного центрального венозного катетера
4. Введение антибиотиков широкого спектра действия, в том числе тех, к которым пробиотик является резистентным
5. Пробиотик с высокой степенью мукозальной адгезии.
6. Заболевания клапанов сердца

«Дисбиоз – обязательный спутник любых стрессовых воздействий на организм. Одним из важнейших условий сохранения здоровья является сохранение физиологической микрофлоры кишечника, оказавшейся наиболее уязвимым «компонентом» организма».

В.А.Тутельян
директор Института питания РФ, 2007)



Благодарю за внимание!