

# ***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  $\alpha$

Дефензины  $\beta$

Кателицидины

## Лектины

-коллектины А и Д

-фиколины (L, M, H, P)

Лизоцим

Лактоферин

Липокалины

## Ингибиторы протеаз

- $\alpha$ 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  $2\text{m}^2$ )

## Индуктивная зона

$\text{CD4}^+$  T-cells

$\text{CD8}^+$  T-cells

Naso-pharynx  
-associated  
lymphoid  
tissue (NALT)

макрофаги, дендритные клетки  
 $\text{sIgA}^+$  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

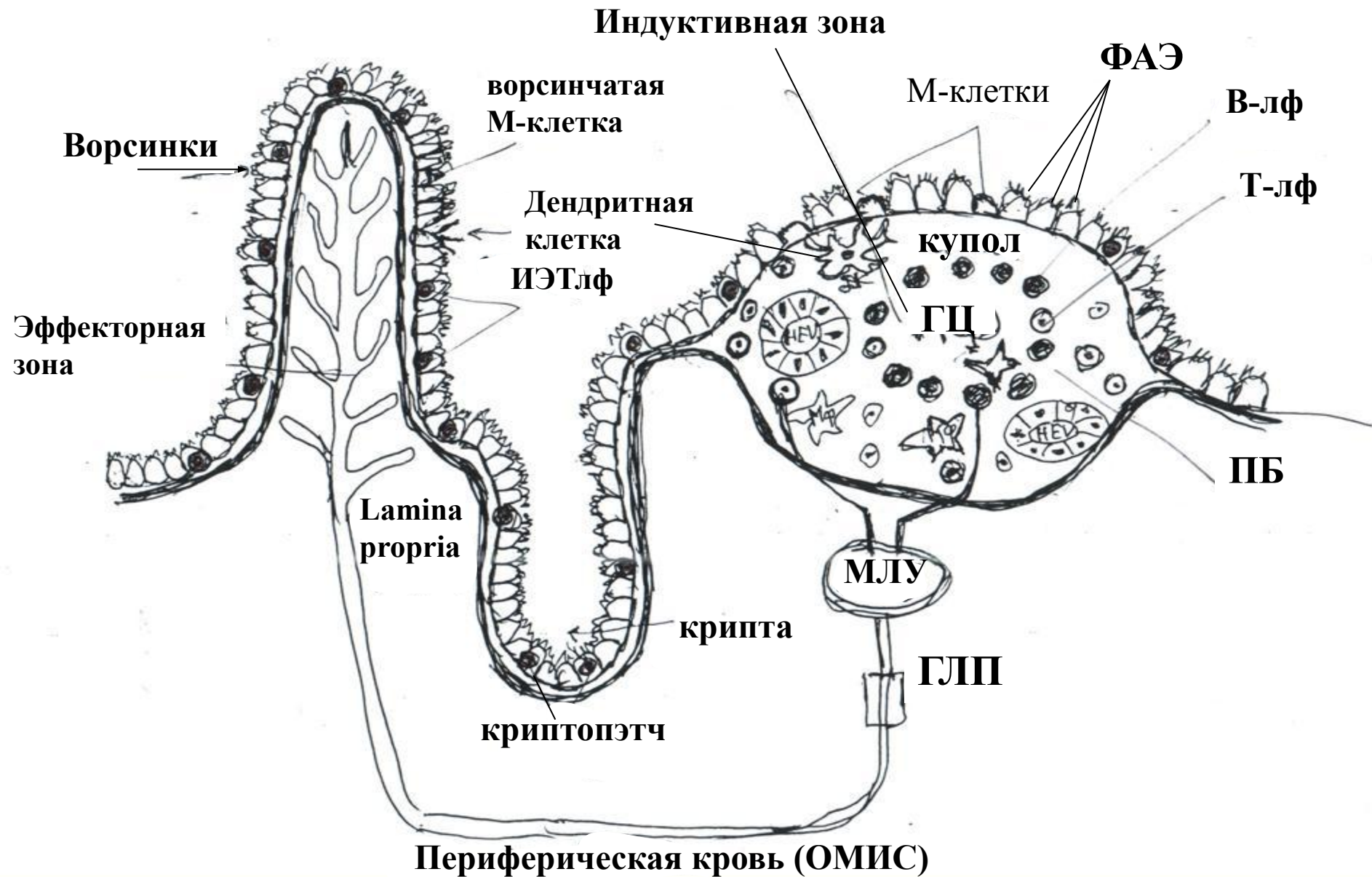
$\text{sIgA}$ , интраэпителиальные Т-клетки

LP NALT

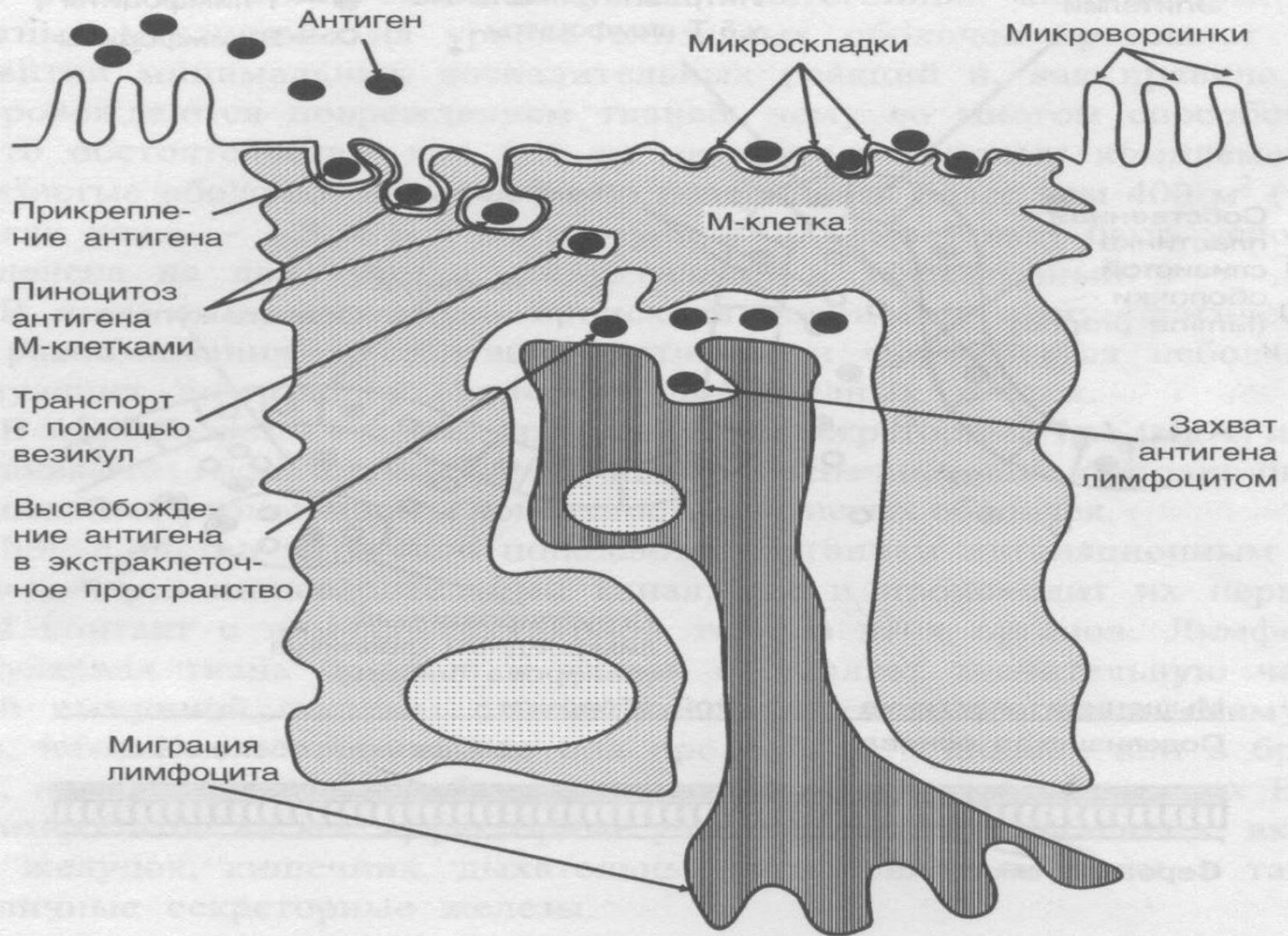
LP BALT

LP урогениталь-  
ного тракта

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

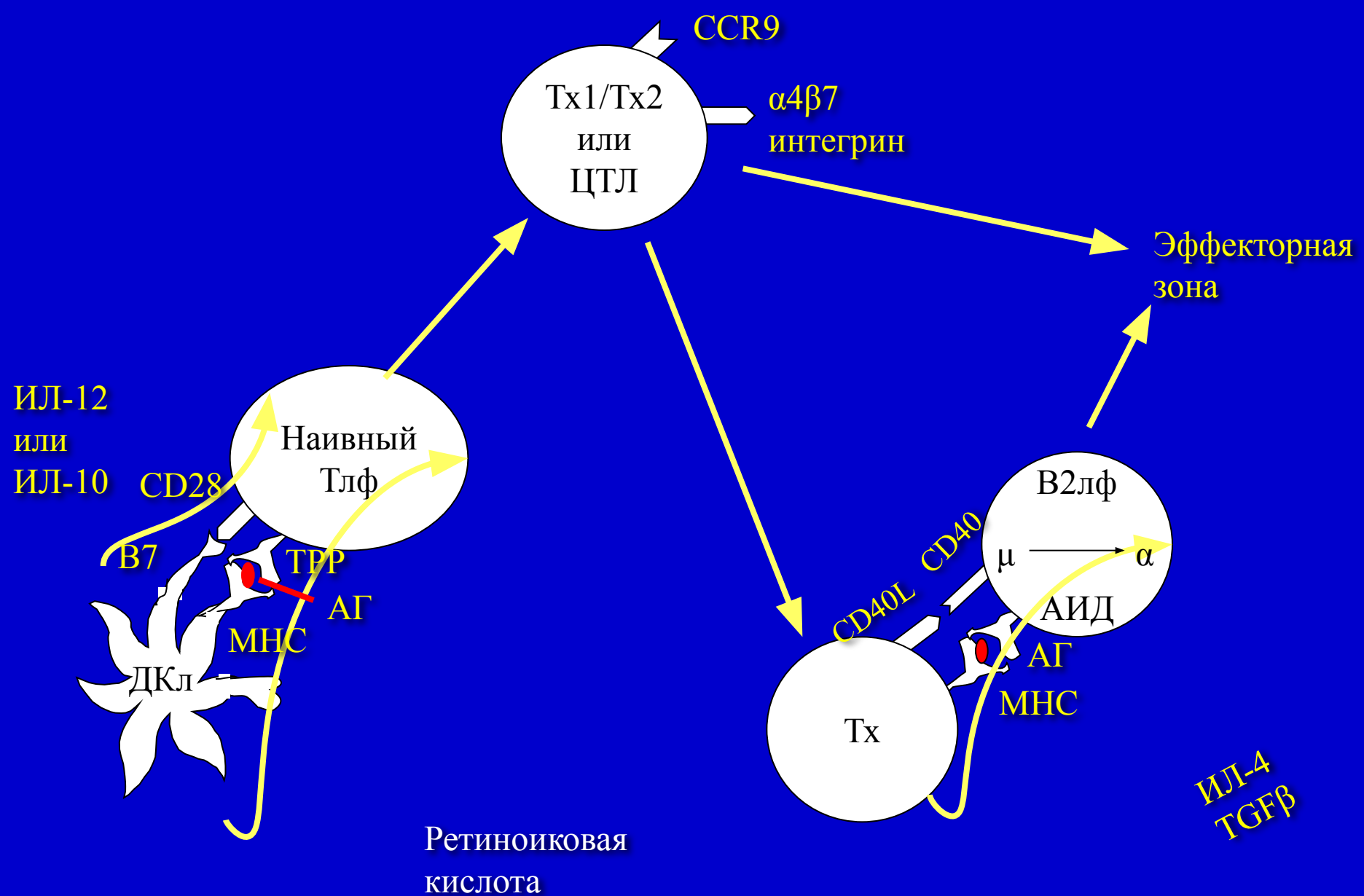


**Схематическое изображение взаимосвязи индуктивной и эффекторной зон иммунной системы слизистой кишечника (Weinstein P.D. et al., 1991)**

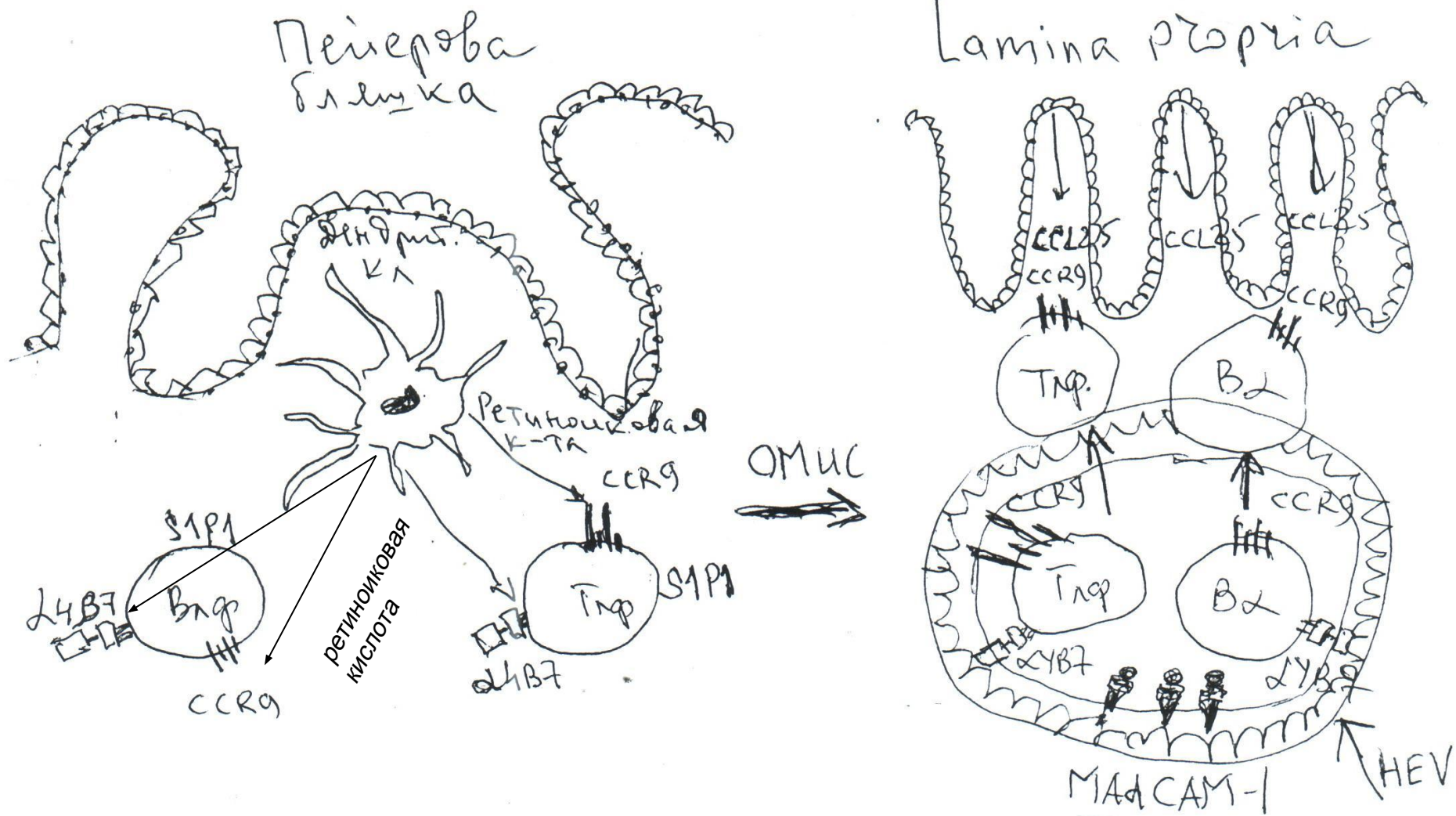


Схематическое изображение транспорта антигена с помощью М-клеток из просвета кишечника во внеклеточное пространство, где антиген захватывается антигенпрезентирующими клетками и Т-лимфоцитами (Owen, 1977).

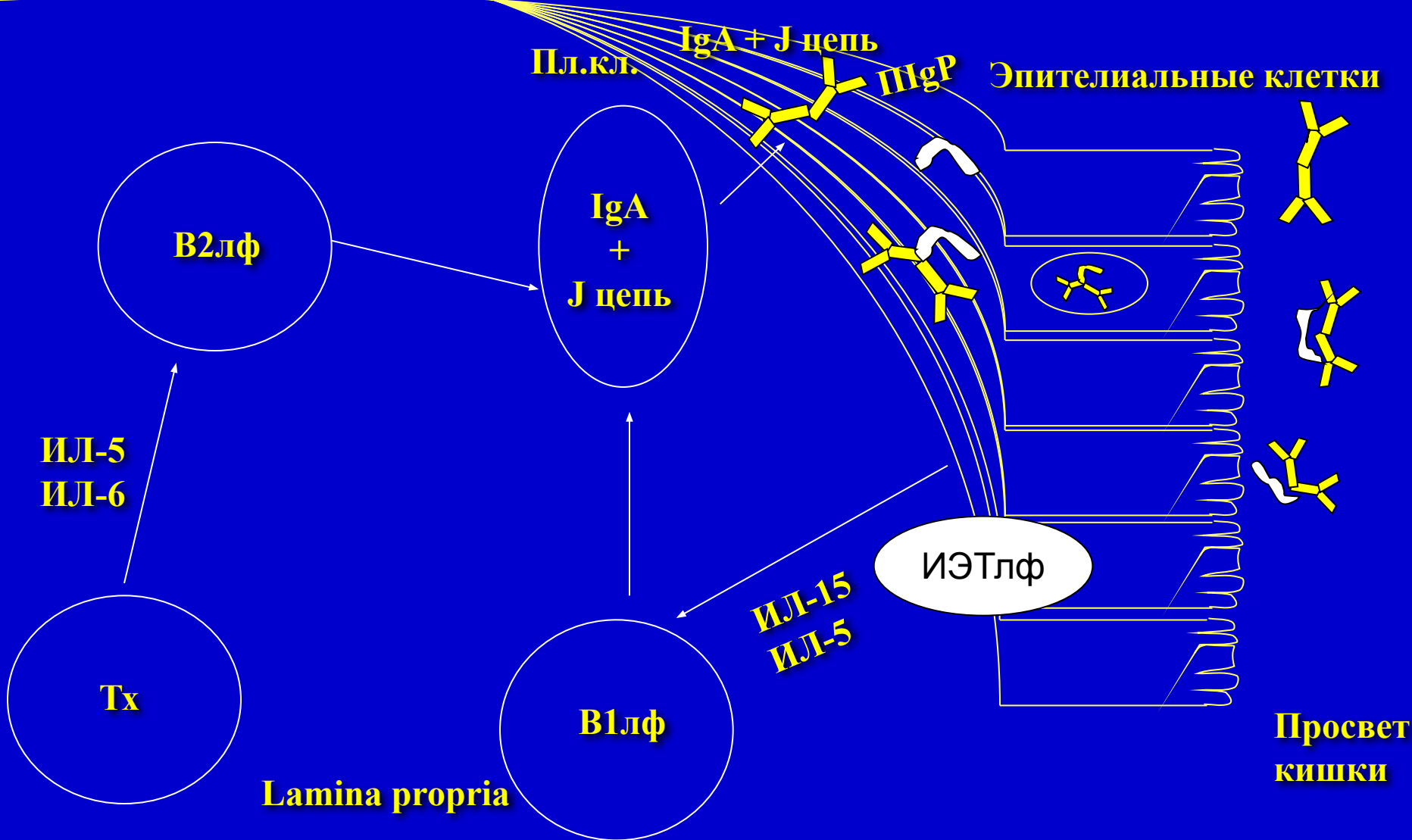




**Схема механизмов развития иммунного ответа в индуктивной зоне Пейеровой бляшки (*Jun Kunisawa et al., 2005*).**



**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<sup>+</sup> αβ 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)



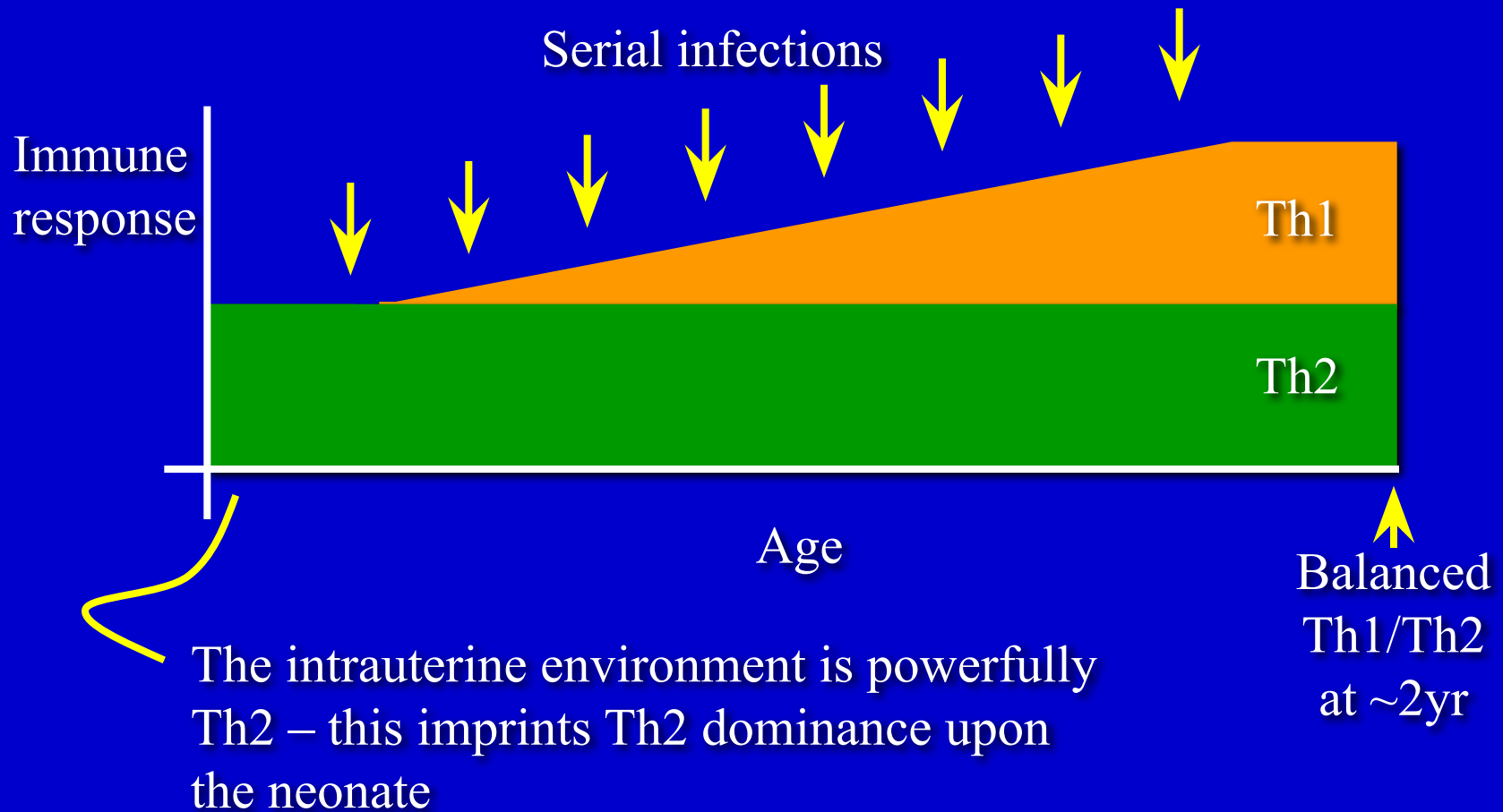
# Важная роль взаимодействия физиологической микрофлоры и иммунной системы

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.

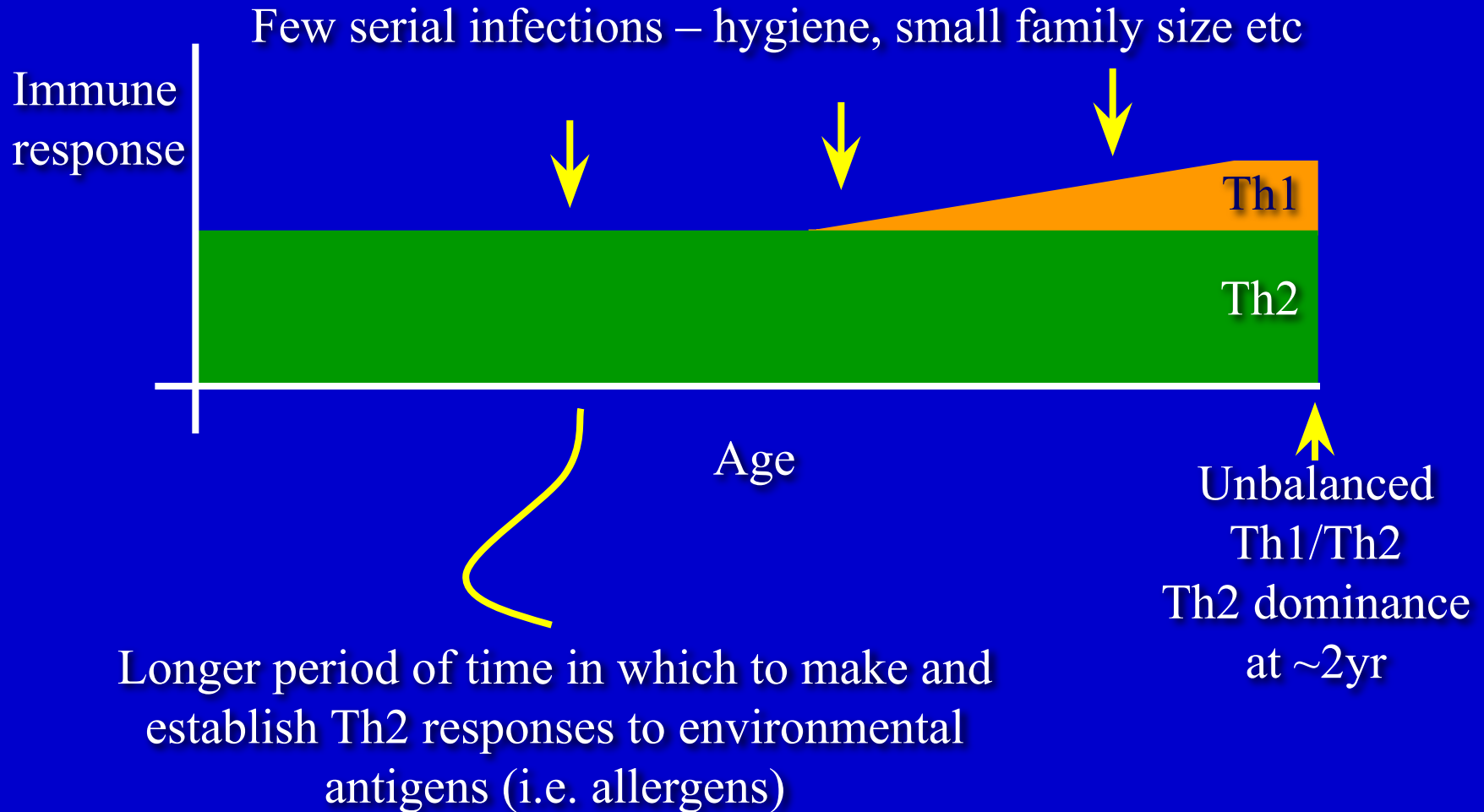
# Участие микробиоты в переключении иммунной системы с Th2 на Th1



# 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

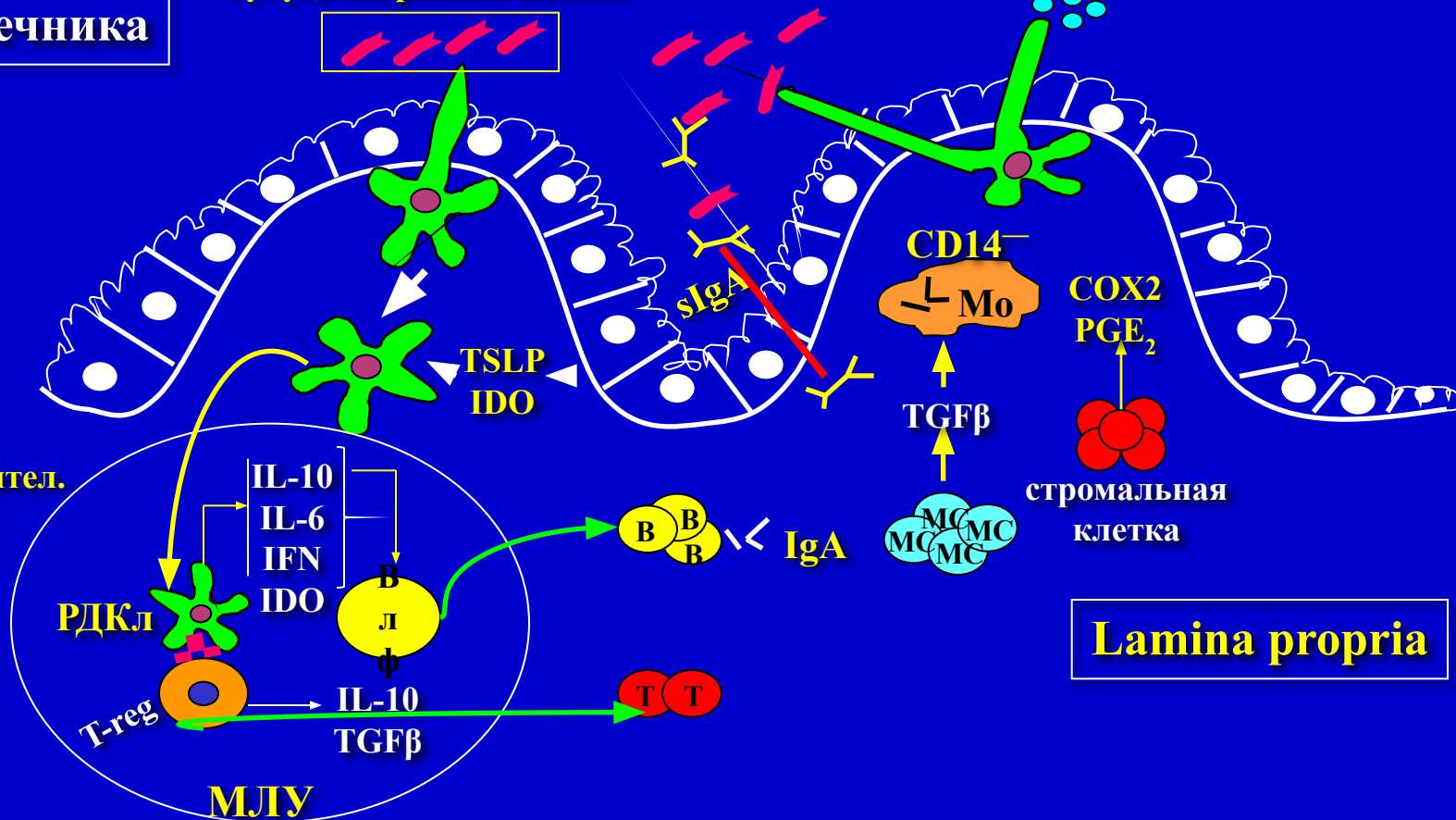
# Механизмы толерантности к пищевым антигенам и микробиоте

Просвет  
кишечника

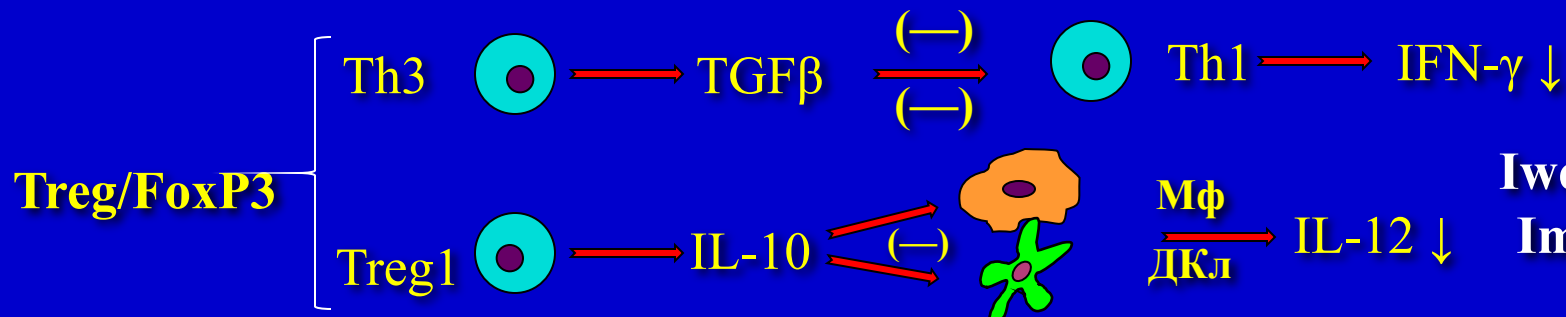
мукус, микробная пленка

пищевые аллергены

индукция  
не-воспалител.  
ДКл



Lamina propria



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).

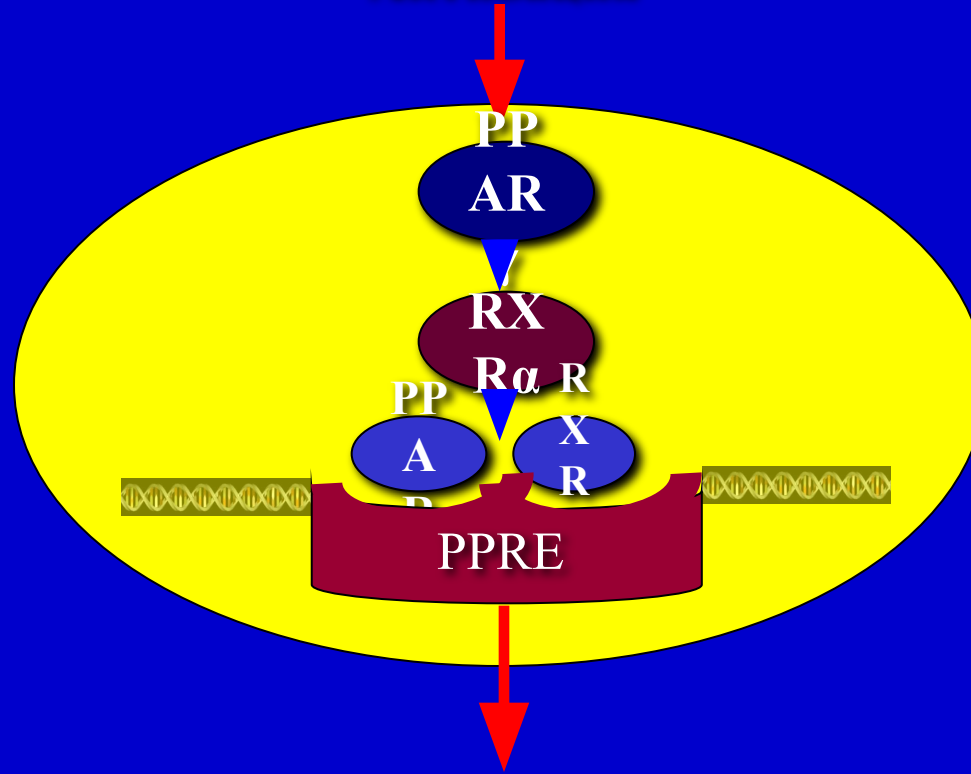
Относительная толерантность  
иммунной системы слизистых к  
микробиоте обеспечивает  
«физиологический» характер  
перманентного воспаления.

**Управление  
провоспалительными  
механизмами**

Пероксисомального пролифератора-активатора рецептор  $\gamma$  (PPAR $\gamma$ ) 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).

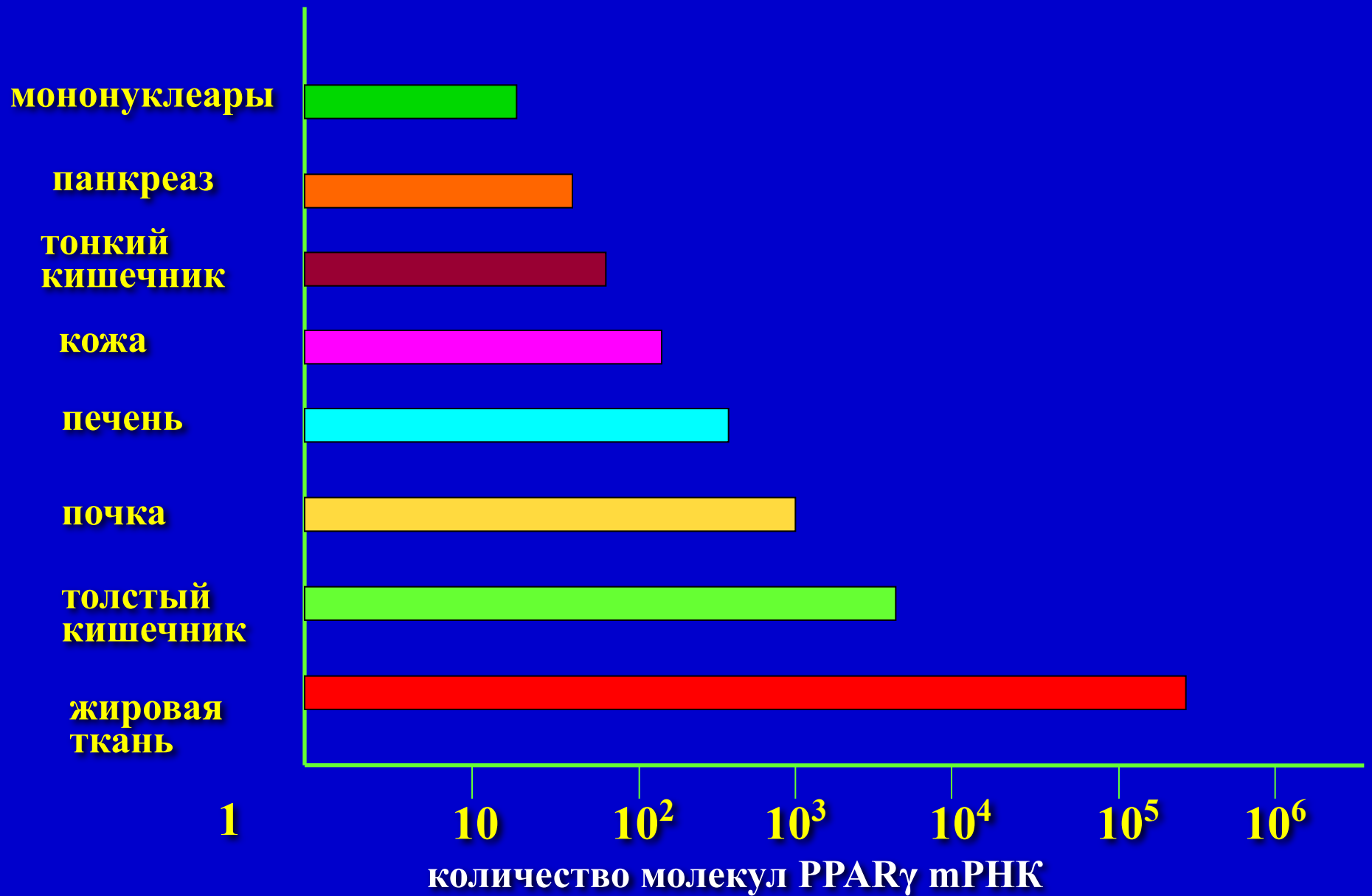
## Активация



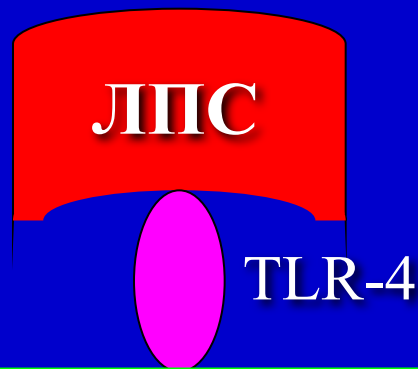
Регуляция экспрессии генов и подавление  
сигнальных путей воспаления

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

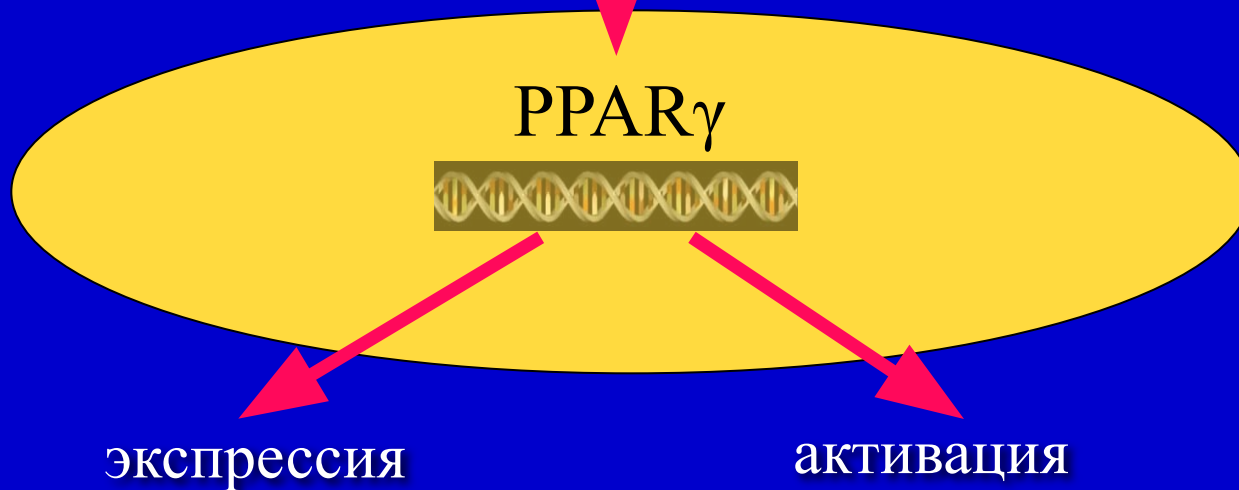




**Экспрессия PPAR $\gamma$  в разных тканях**



Эпителиальная клетка



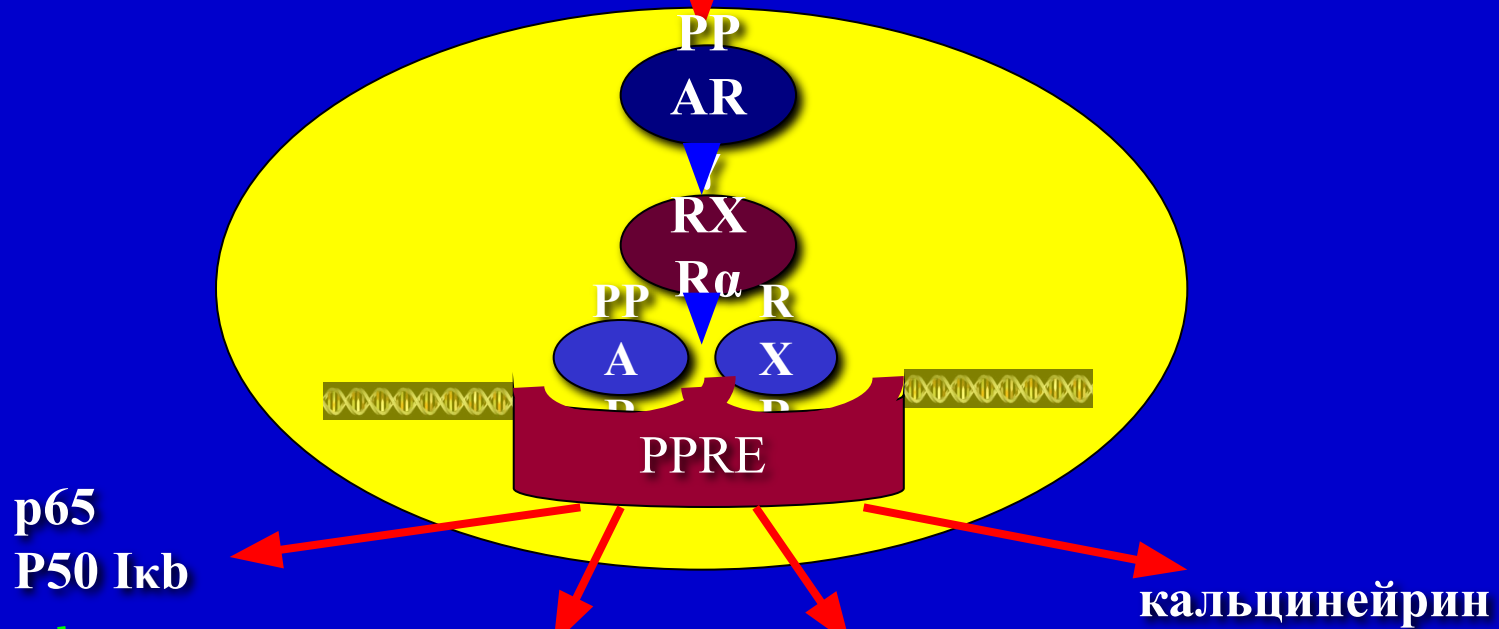
**Связывание TLR-4 с ЛПС комменсальной флоры приводит к повышению экспрессии PPAR $\gamma$  и его активации.**

Экспрессия PPAR $\gamma$  зависит от LPS, который принадлежит комменсальной флоре.

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

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

# Активация



p65  
P50 Ikb

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);

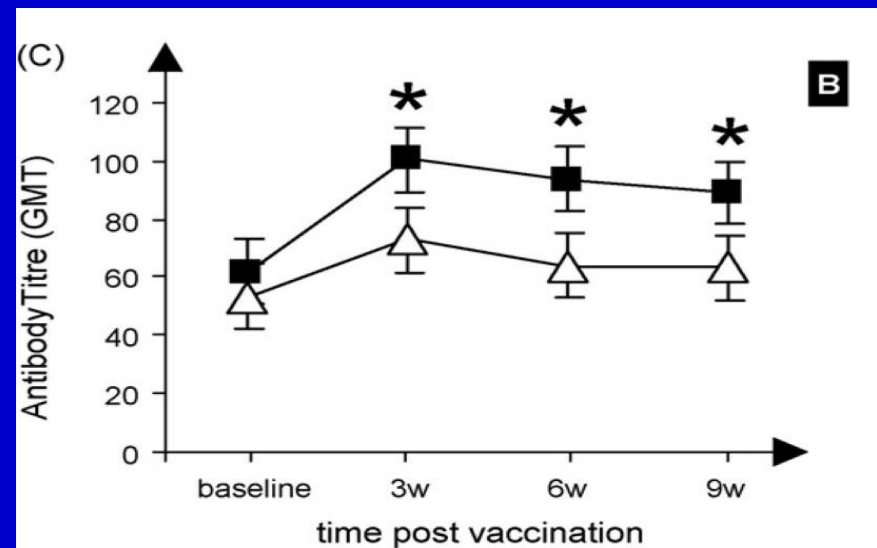
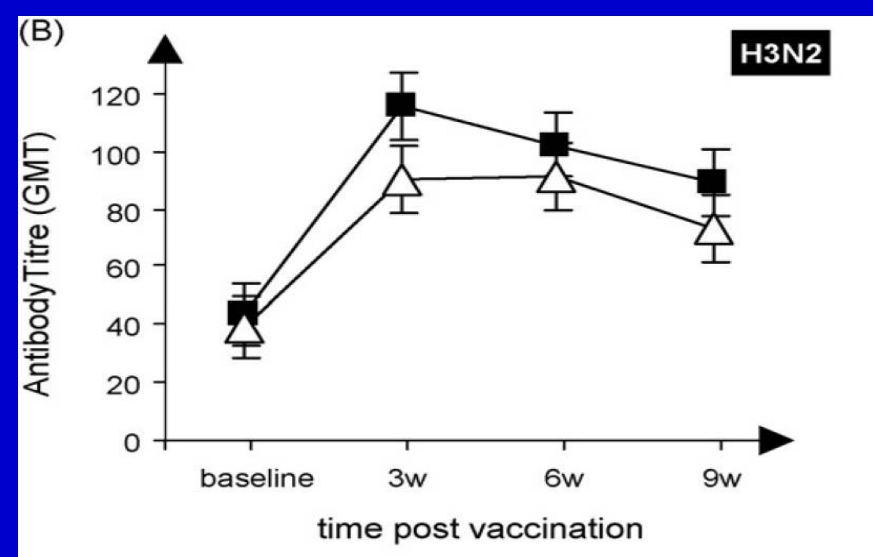
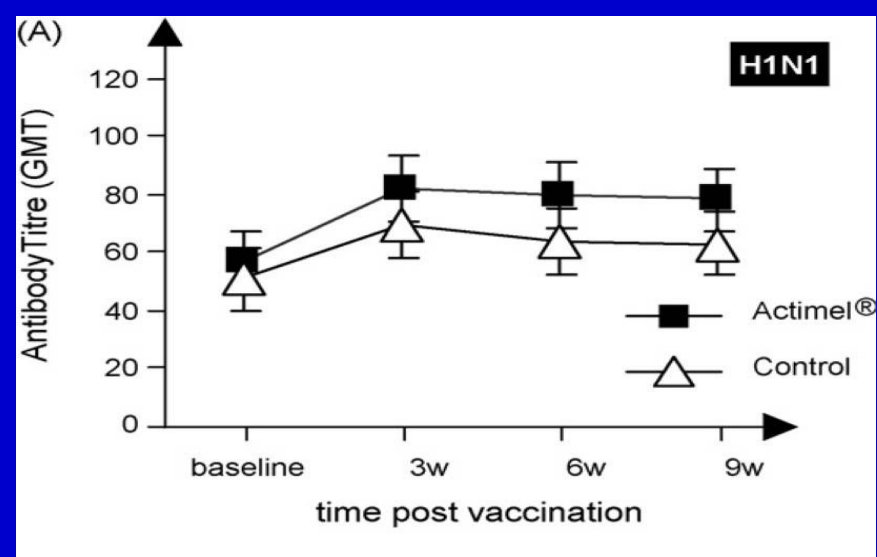
**-сокращает продолжительность зимних инфекций у людей старше 60 лет** (Turchet P. и соавт., 2003);

# **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!*