

© Walker W.A., 2004

W.A. Walker

РОЛЬ МИКРОФЛОРЫ В РАЗВИТИИ ЗАЩИТНЫХ ФУНКЦИЙ КИШЕЧНИКА*

Основной функцией желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) являются полное переваривание и всасывание питательных веществ для обеспечения потребностей организма в энергии и субстратах для роста и поддержания жизнедеятельности. Следовательно, заболевания, сопровождающиеся нарушением функции кишечника, отрицательно сказываются на состоянии всего организма [1, 2]. В то же время кишечник непосредственно контактирует с большим количеством разнообразных микробов и нутриентов, поступающих извне. В обычных условиях в кишечнике поддерживается симбиоз организма человека и постоянно обитающего в нем большого числа штаммов микробов [3]. Эпителий, расположенный между поверхностью кишечника и его сосудами, постоянно подвергается воздействию антигенов из внешней среды. В отличие от кожи эпителий кишечника представляет собой единый поляризованный монослой [2]. Апоикальные участки эпителия контактируют с содержимым кишечника, куда входит и нормальная кишечная микрофлора, но эти вещества неотделимы от базолатеральной поверхности, поскольку привязаны к определенным участкам соединения в белковых молекулах [4, 5]. Эти два соединяющих комплекса представляют собой специализированные структуры, уникальные для поляризованных клеток, благодаря которым последние представляют собой не жесткую структуру, а активную гибкую поверхность, что обеспечивает свободную миграцию полиморфноядерных клеток при инфицировании и доступ дендритных клеток к чужеродным антигенам в просвете кишечника [6, 7].

Структура и функция кишечника

Эпителий кишечника, который отделяет кишечное содержимое от подлежащей слизистой оболочки, состоит из абсорбирующих энтероцитов (93—95% клеток), секретирующих слизь бокало-

видных клеток (3—5% клеток) и энтероэндокринных клеток, вырабатывающих желудочно-кишечные гормоны (1—2%). В отличие от толстой кишки, площадь поверхности тонкого кишечника увеличивается благодаря ворсинкам. Продуцируемая бокаловидными клетками слизь, которая секретируется в виде слоя высокогликозилированных белков, покрывает внутреннюю поверхность кишки и функционирует как смазочный материал и защитный слой поверхности эпителия. Недифференцированные пролиферативные клетки, в том числе и стволовые клетки, в тонкой и в толстой кишке выходят на расположенные на поверхности лункообразные структуры, называемые Люберкиновыми криптами [8]. Однако только в тонкой кишке на дне каждой крипты располагаются клетки, имеющие многогранную форму [9]. Многогранные клетки продуцируют большое количество уникальных антибактериальных белков, которые защищают стволовые клетки от повреждающего действия бактерий. Эпителий крипт также является поляризованным, но на его апоикальной поверхности имеются микроворсинки, известные как щеточная кайма, и по ним клетки мигрируют из крипты на ворсинку [2, 8]. После выхода из крипт эпителиальные клетки подвергаются дифференцировке и начинают экспрессировать специализированные белки, такие, как пищеварительные ферменты и транспортные белки [1, 2]. Эти гликопротеины, фиксированные на апоикальной поверхности эпителия, отвечают за пищеварительную и абсорбционную функцию клеток.

Высокогликозилированные белки и гликолипиды, образующие структуру поверхности эпителиальных клеток, могут также функционировать как рецепторы для нормальной микрофлоры, которая начинает заселять поверхность кишечника вскоре после рождения [10, 11]. В дополнение к описанному выше разнообразному составу эпите-

* Статья подготовлена к публикации профессорами В.А. Ревякиной и О.К. Нетребенко по материалам лекции профессора W.A. Walker (Университет Гарвард, США), прочитанной на семинаре компании Нестле по детскому питанию в апреле 2003 г. Материалы публикуются с разрешения компании Нестле.

лиальных клеток, эпителиальный слой нередко содержит куполообразные структуры или так называемый фолликуло-ассоциированный эпителий [12]. В отличие от эпителия ворсинок, в этих утолщенных структурах с различной частотой попадают клетки, называемые микроскладчатые (М-клетки). У людей и грызунов 10% ассоциированных с фолликулами эпителиальных клеток представлены М-клетками [2, 12]. В этих клетках нет лизосом, и они обладают способностью проникать в участки прикрепления микробов и крупных белков. М-клетки представляют собой росток эпителия, специализирующийся на идентификации антигена [12]. В отличие от примыкающих энтероцитов, на поверхности М-клетки содержится меньше ворсинок, они более короткие, а на базолатеральной поверхности имеется множество углублений, в которых присутствуют лимфоциты слизистой оболочки [13]. М-клетки нельзя увидеть на ворсинках из дифференцированного эпителия. Ассоциированные с фолликулами эпителиальные и М-клетки перемещаются по внешней поверхности лимфоцитарных скоплений в Пейеровых бляшках [13]. Проведенные недавно исследования *in vitro* показали, что дифференцированные клетки клона энтероцитов могут трансформироваться в М-клетки под влиянием патогенов в просвете кишечника. Это дает основание предполагать, что дифференцировка в М-клетки может быть обусловлена влиянием присутствующих в кишечнике микробов и паракринного действия В-клеток [14].

Развитие тонкого кишечника

Морфологическое созревание, дифференцировка клеток и дифференцировка в специфические энтероциты у плода начинается в конце I триместра беременности [15].

Функциональное созревание ЖКТ включает два периода. В конце I триместра гестации эпителий начинает образовывать монослой, и формируется структура ворсинок и крипт. С началом дифференцировки эпителия появляются специфические тканевые маркеры [2]. Пролиферирующий эпителий ограничивается криптами, где присутствуют клетки нескольких клонов [15, 16]. Эта фаза развития происходит у человека на протяжении II и III триместра беременности. Раннюю фазу функционального развития тонкого кишечника можно определить посредством дифференцировки маркеров специфических энтероцитов. У плода уровень лактазы остается низким в течение антенатального периода, однако в то же время уровень сахаразы остается высоким, то есть эквивалентным таковому у грудных детей [15].

Вторая и завершающая фаза развития кишечника начинается при рождении ребенка. В периоде новорожденности активность лактазы повышается, достигая максимального уровня [15].

Регуляция развития кишечника

Функциональное развитие кишечника регулируется большим комплексом факторов. Чтобы получить четкое представление об этом комплексе, было проведено большое количество экспериментальных исследований у грызунов [1, 2, 15]. Тем не менее пока мы располагаем лишь небольшим количеством объективных данных о развитии кишечника, поскольку исследование ткани кишечника невозможно по этическим соображениям, а соответствующих экспериментальных моделей на животных найти не удалось. Регуляцию развития кишечника могут осуществлять либо внешние факторы (из просвета кишечника), такие, как амниотическая жидкость, молозиво/молоко и микрофлора, или такие эндогенные факторы, как присутствующие в циркулирующей крови факторы роста, глюкокортикоиды (ГК), внутренние временные механизмы, например, биологические часы и эпителиально-мезенхимальные взаимодействия.

Молозиво и грудное молоко. Молозиво или грудное молоко является многокомпонентной биологической жидкостью, в которой содержится большое количество нутриентов, не только необходимых для питания, но также обеспечивающих защитное действие и стимулирующее пролиферацию клеток [17]. Грудное молоко содержит также ряд трофических факторов, которым принадлежит критическая роль в развитии кишечника. Однако роль каждого из этих факторов остается пока не ясной.

Естественная микрофлора. Колонизация кишечника начинается уже при рождении ребенка [18]. Структура кишечной микрофлоры изменяется в процессе вскармливания ребенка [19]. В какой-то мере это обусловлено изменением содержания в просвете кишечника из-за изменения состава грудного молока и особенностями структуры созревающего эпителия. В исследованиях на стерильных крысах и мышках не было обнаружено особенностей в последних стадиях развития, но при отсутствии микробов темпы пролиферации и миграции эпителия были заметно ниже [19, 20]. Когда стерильных животных переводили в обычные условия обитания, темпы пролиферации и миграции достигали нормальных величин в течение 2 недель.

Циркулирующие факторы роста. Существует предположение о роли некоторых субстанций, которые можно рассматривать в качестве потенциальных факторов роста, регулирующих развитие тонкого кишечника. Среди них, по-видимому, только ГК оказывают непосредственное влияние на развитие кишечника. В число других факторов, которые были предметом изучения, вошли тироксин, инсулин, гастрин, эпидермальный фактор роста, факторы трансформации роста TGF α и TGF β . У грызунов и эндогенные, и экзогенные ГК оказывают влияние на темпы созревания кишечника [2].

Это влияние можно воспроизвести в культуре ткани и в живых организмах. ГК оказывают влияние на все процессы, протекающие при созревании, что создает предпосылки для раннего включения функции абсорбирования переваренных соединений, активации и пролиферации, а также миграции эпителия из крипт в ворсинки. Эти эффекты проявляются в течение короткого периода времени, продолжительность которого у грызунов составляет 2 недели, а после 3-й недели кишечник утрачивает свою чувствительность к ГК [2]. Есть косвенные аргументы в пользу предположения о существовании подобного периода в III триместре гестации. На онтогенез кишечника могут оказывать и присутствующие в циркулирующей крови аутокринные и паракринные факторы [21]. Более полная информация о влиянии отдельных факторов на рост и созревание кишечника может помочь найти более эффективные методы восстановления кишечника после резекции, нарушений кровообращения или некроза.

Биологические часы. По данным большого числа исследований, окончательное созревание тонкого кишечника у грызунов контролируется внутренним механизмом отсчета времени (биологическими часами), функционирование которых не связано непосредственно с гормонами. В исследованиях изографтов (полосок ткани) кишечника было установлено, что созревание кишечника запускается строго в определенное время собственными механизмами отсчета времени [22]. Подобная гипотеза была высказана и в отношении собственных механизмов отсчета времени для других систем. Было предположено, что тонкий кишечник подчиняется местному пусковому устройству, хотя клеточные основы и молекулярная природа этого механизма пока не установлены [23].

Взаимодействие между эпителием и мезенхимой. Изучению роли взаимодействия между эпителием и мезенхимой посвящено довольно много исследований [24]. Полученные в них данные позволяют предположить, что эпителий играет индуктивную роль, а мезенхима — разрешающую роль в дифференцировке клеточного эпителия. Из этого следует, что участие мезенхимы в этом процессе необходимо, но не достаточно для развития кишечника. Например, наиболее вероятно, что эффект ГК на эпителий опосредуется через взаимодействие между эпителием и мезенхимой. Тем не менее механизм действия мезенхимы в гормональной регуляции ГК остается не совсем ясным. Выдвинуто предположение о том, что ГК могут напрямую влиять на клеточное взаимодействие через специфические компоненты внеклеточного матрикса [25]. Для решения этого вопроса необходимо с помощью новых методов провести исследования с клонами жизнеспособных неопухолевых клеток человека.

Развитие иммунной системы слизистой оболочки кишечника

Эпителиальный барьер кишечника, отделяющий попавшие в просвет кишечника антигены и микробы от подлежащей лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, является первой линией обороны иммунной системы слизистой оболочки [26]. Обычно пищевые антигены и естественная микрофлора не вызывают патологических иммунных реакций, а способствуют формированию пищевой толерантности [27]. Тем не менее, если они вызывают реакцию со стороны лимфоцитов собственной пластинки, активация этих клеток может сопровождаться развитием пищевой непереносимости или хроническим воспалительным процессом в кишечнике. И наоборот, кишечные патогены могут становиться триггерами ограниченной местной или системной иммунной реакции при нарушении целостности барьера на фоне обычных компенсаторных процессов, направленных на эффективную элиминацию патогена [28]. В зависимости от патогена выраженность этой реакции может варьировать от легкого воспаления до полного разрушения ткани. Способность отличать нутриенты и естественную полезную микрофлору от кишечных патогенов и их токсинов является важной особенностью ответа здоровой слизистой оболочки кишечника, благодаря которой поддерживается иммунный гомеостаз кишечника [6, 26].

Такой баланс устанавливается еще во время антенатального развития, но только в условиях бактериальной колонизации [18]. Экология кишечника изменяется от стерильной поверхности, омываемой амниотической жидкостью, до обсемененных бактериями пищевых продуктов, сначала молока, а потом и твердой пищи [17].

Как уже принято считать, поляризованный монослой эпителия существует как надежный барьер, который не позволяет различным молекулам из кишечника проникать в глубь интерстиция [5]. Антигены пищи в просвете кишечника и бактерии переносятся М-клетками, которые выполняют роль переносчика для лежащих глубже антиген-презентирующих клеток, функцию которых выполняют такие клетки, как макрофаги и дендритные клетки, вступающие в непосредственный контакт с М-клетками [26, 29]. В собственной пластинке также присутствуют тучные клетки и разнообразные лимфоциты, в основном IgA-продуцирующие В-клетки. Эпителий не просто выполняет роль физического барьера, а принимает активное участие в иммунной реакции путем выработки цитокинов и трансцитозольного димера IgA. IgA препятствует адгезии бактерий к поверхности энтероцита. Кроме того, специализированные Т-клетки, известные под названием интраэпителиальных лимфоцитов, расположенные между эпителием и базолатеральной

поверхностью, распознают бактериальные антигены и/или иммуногенные молекулы и обеспечивают оперативное развитие иммунных реакций при повторной стимуляции [30].

Эпителий вместе с этими компонентами иммунной системы модулирует активацию иммунной системы на кишечные антигены или активацию периферической иммунной системы бактериями. Этот физический и функциональный барьер служит опорой иммунной системы слизистой оболочки кишечника, который не только постоянно защищает от проникновения опасных антигенов при постоянном переваривании и всасывании пищевых продуктов, но и модулирует системную иммунную реакцию, которая может быть или заблокирована, или может приводить к интенсивному воспалительному процессу с повреждением тканей. Эти клетки принимают участие в реализации врожденного и приобретенного иммунитета кишечника как быстро развивающиеся неспецифические реакции на антиген, с последующим развитием, спустя длительное время, антиген-специфических реакций клеток памяти [26, 27, 31].

Врожденное и приобретенное звено иммунной системы слизистой оболочки запускают саморегулируемые воспалительные реакции путем вовлечения активированных нейтрофилов и моноцитов из периферической крови в собственную пластинку, но без поддержания хронического воспалительного процесса.

Эпителий кишечника тесно связан с клетками, принимающими участие в реализации реакций естественного иммунитета, в частности, с макрофагами, дендритными клетками, тучными клетками и панетными (paneth) клетками [4, 7, 9, 26, 27]. До сих пор остается неясным, как происходит развитие этих клеток. Макрофаги представляют собой главные резидентные фагоциты лимфоидной ткани кишечника. Они диффузно распределены в собственной пластинке, но, главным образом, сосредоточены в области Пейеровых бляшек. В кишечнике плода макрофаги обнаруживаются с 12-й недели антенатального развития, хотя специфические субпопуляции варьируют в зависимости от срока гестации и локализации.

Особый интерес представляет тот факт, что в макрофагах собственной пластинки отсутствует поверхностный рецептор CD 14, обладающий способностью связываться с липополисахаридами (LPS), и поэтому эти клетки характеризуются гипореактивностью по отношению к эндотоксину [32]. Эта региональная особенность макрофагов, по-видимому, имеет особое значение в предотвращении чрезмерной активации при передаче сигналов воспалительной реакции на грамотрицательные бактерии, постоянно присутствующие в кишечнике и обладающие потенциальной возможностью преодолевать эпителиальный барьер.

Антиген-презентирующие дендритные клетки действуют на границе врожденного и приобретен-

ного иммунитета. Незрелые дендритные клетки быстро захватывают пищевые и микробные антигены, и затем, после активации, мигрируют к региональным лимфатическим узлам, где они представляют обработанный антиген Т-клеткам, попутно вырабатывая костимулирующие молекулы, спектр которых определяется регуляторными цитокинами [7, 26]. Пока остается неясным, как клетки различают патогенную и естественную флору. Недавно было показано, что дендритные клетки из собственной пластинки кишечника с помощью выростов (выпячиваний) цитоплазмы проникают через брешь в эпителиальном барьере кишечника и захватывают присутствующие там антигены [33]. При этом слой поляризованного эпителия остается неповрежденным.

Тучные клетки, присутствующие в большом количестве в слизистой оболочке кишечника, относятся к эффекторным клеткам, принимающим участие в аллергических реакциях, опосредованных через IgE, но они также выполняют защитную функцию против паразитов кишечника и хронических бактериальных патогенов, индуцирующих выработку TNF α [29].

Роль эпителия в развитии иммунной системы слизистой оболочки охарактеризована более подробно, чем других лимфоидных клеток иммунной системы слизистой оболочки. Плотное соединение и связывание эпителия образуется во II триместре беременности. Недавно в местах соединения были обнаружены основные белковые компоненты соединительного комплекса — окклюдин и клаудин, — но их регуляторная роль пока остается неясной [34]. Возможно, что у новорожденных через барьер из незрелых энтероцитов, в котором могут быть довольно большие бреши, могут проходить такие макромолекулы, как антитела матери и трофические факторы из молозива и грудного молока, причем эти молекулы могут функционировать сами по себе и запускать функционирование защитных механизмов слизистой оболочки [35].

Постепенно, в течение нескольких недель, эпителиальный барьер становится менее проницаемым, что получило название «закрытие» барьера, и, как показано в исследовании у грызунов, это происходит как раз перед началом вскармливания [36]. Хотя есть основание полагать, что этот процесс регулируется в процессе созревания, механизмы, с помощью которых происходит захват биоактивных макромолекул, например, фагоцитозом или перичеселлюлярным транспортом, остается неясным. Способность вырабатывать хемокины, рекрутирующие активированные полиморфноядерные клетки к месту воспаления, также может регулироваться в процессе созревания. Используя эксплантаты из кишечника плода на 20-й неделе антенатального развития и материал, полученный при биопсии кишечника у младенцев, удалось обнаружить избыточное количество IL8, выработанного

в ответ на эндотоксины и эндогенные провоспалительные стимулы [37]. Количество IL8 было наибольшим в эпителии развивающегося кишечника, и эти результаты были подтверждены с использованием линий клеток кишечника. Это различие в какой-то мере может быть причиной развития чрезмерной воспалительной реакции в кишечнике недоношенного ребенка при таких заболеваниях, как язвенно-некротический энтероколит.

Обычные антигены захватываются и переносятся М-клетками таким образом, чтобы иммунная система могла оставаться толерантной к пищевым и неизвестным бактериальным антигенам. М-клетки начинают появляться на 17-й неделе антенатального развития у плода человека, после того, как начинают появляться агрегаты лимфоидной ткани [2]. Эта временная последовательность имеет особое значение, поскольку у мышей, лишенных В-клеток, частично или полностью нарушено развитие Пейеровых бляшек, ассоциированных с эпителием фолликулов и М-клеток [12, 38]. Хотя, как недавно было продемонстрировано, развитие М-клеток может быть индуцировано не только В-клетками, антигенные макромолекулы и небольшое число патогенных бактерий, вирусов и простейших проникают через барьер из эпителиальных М-клеток путем эндоцитоза и фагоцитоза [4, 26]. М-клетки способствуют распознаванию этих патогенов и антигенов, образующихся в просвете кишечника, локальной и общей иммунной системой через субэпителиальные лимфоциты [26, 27]. К сожалению, механизмы, с помощью которых эти макромолекулы или патогены проникают через клеточный барьер, остаются неизвестными, оставляя обширное поле для исследований.

Бактериальная колонизация и роль процессов гликозилирования в созревании кишечника

Просвет кишечника содержит сложную экосистему микрофлоры, состоящей из более чем 500 штаммов, причем число анаэробов в 100 раз превосходит число аэробов [3, 10, 18]. Вместе с тем на долю немногим более 30—40 штаммов приходится 99% всего количества бактерий. Эти микробы способствуют реализации таких функций кишечника, как абсорбция, секреция электролитов и воды, формирование и экскреция шлаков. Кишечная микрофлора играет важную роль в поддержании тканевого гомеостаза, поскольку осуществляемая ею ферментация сопровождается образованием соединений, оказывающих положительное и отрицательное влияние на функцию кишечника. Например, ферментация остатков непереваренных сложных углеводов (таких, как пищевые волокна) до короткоцепочечных жирных кислот (SCFA) позволяет получить дополнительную энергию для клеток кишечника, тогда как патогенная флора может быть источником токсических соединений.

Основную группу микробов в кишечнике составляют грамотрицательные анаэробы из рода *Bacteroides* (30% от общего содержания бактерий в фекалиях). Следующую доминирующую группу составляют бактерии грамположительных родов (бифидобактерии, эубактерии, клостридии, лактобациллы) и грамотрицательные кокки (*Ruminococci*, *Peptococci*, *Peptostreptococci*). Главными среди них следует считать бифидобактерии, на долю которых приходится 25% общего содержания бактерий в фекалиях. В меньшей степени в кишечной микрофлоре представлены другие группы бактерий, включающие энтерококки, колиформы, метаногены и диссимиляторные сульфатпоглощающие бактерии.

Совсем недавно с помощью молекулярных методов были идентифицированы ранее неизвестные бактерии. Тем не менее в пробирке нельзя воссоздать уникальную среду, в которой происходит рост этих бактерий, что исключает возможность получения сведений об особенностях их существования в просвете кишечника. По функции эти бактерии разделяются на штаммы, которые усиливают вредное или благоприятное действие на организм человека. При патологическом нарушении структуры кишечной микрофлоры могут возникать понос, воспаление, некроз, изъязвление или перфорация кишечника. Подавление роста патогенных бактерий может способствовать улучшению здоровья за счет стимуляции адекватного иммунного ответа вследствие уменьшения газообразования, улучшения пищеварения и абсорбции эссенциальных нутриентов, а также синтеза витаминов В и К.

При рождении колонизация кишечника связана с проникновением бактерий, присутствовавших в кишечнике и на поверхности родовых путей матери. При рождении ребенка путем оперативного родоразрешения с помощью кесарева сечения колонизация происходит с определенной задержкой. Сразу после рождения микрофлора кишечника новорожденного представлена преимущественно энтеробактериями, число которых в 1 г фекалий достигает 10^9 . У детей, вскармливаемых грудным молоком, в структуре кишечной микрофлоры уже к 6-му дню жизни преобладают бифидобактерии, соотношение которых к энтеробактериям составляет 1000:1, в то время как энтеробактерии остаются доминирующими в структуре кишечной микрофлоры у детей, вскармливаемых заменителями грудного молока, их отношение к числу бифидобактерий составляет 10:1.

К концу первого месяца жизни бифидобактерии занимают доминирующее положение у детей с любым типом вскармливания, однако у детей, находящихся на искусственном вскармливании, число этих бактерий почти в 10 раз меньше, чем у детей, вскармливаемых грудным молоком, что дает основание полагать, что молоко создает среду,

более благоприятную для развития такой микрофлоры, как бифидобактерии. У детей, получающих заменители грудного молока, наоборот, структура кишечной микрофлоры представлена сложным комплексом микробиоза, в которой преобладают бифидобактерии, бактероиды, клостридии и стрептококки [39, 40].

Введение твердой пищи у детей, находящихся на естественном вскармливании, сопровождается резким изменением структуры микроэкологии кишечника, поскольку происходит колонизация большим количеством таких штаммов энтеробактерий и энтерококков, как *Bacteroides spp.*, *Clostridia* и анаэробные стрептококки. При введении твердого прикорма детям, получающим заменители грудного молока, их кишечная микрофлора не претерпевает подобных изменений. Число факультативных анаэробов остается высоким до тех пор, пока не произойдет их замещение другими анаэробами, а не бифидобактериями. К концу первого года жизни состав кишечной микрофлоры у всех детей становится похожим на свойственный взрослым за счет соответствующего снижения числа факультативных анаэробов [17, 41]. Частота чистых культур аэробных бактерий у недоношенных и детей, которым проводили интенсивную терапию, выше, чем у здоровых доношенных детей [18, 41]. Изменение состава кишечной микрофлоры различается в разных регионах мира, что отражает уровень развития санитарии, особенности рациона, другие характеристики питания и отношения к антибиотикотерапии в периоде новорожденности. Тип вскармливания имеет особое значение для состава кишечной микрофлоры.

До сих пор неясно, чем обусловлены различия в микрофлоре у детей, вскармливаемых грудным молоком, и у тех, кто получает заменители грудного молока, однако есть основания полагать, что они обусловлены типом всасываемых белков, например казеина (сыворожка или казеин), доступностью железа, поскольку бифидобактерии и лактобациллы не нуждаются в железе, а для бактероидов и энтеробактерий железо необходимо для роста. Возможно, имеют значение состав олигосахаридов в молоке и величина рН в просвете кишечника. Величина рН в кале у детей, вскармливаемых грудным молоком, в возрасте 7 суток составляет 5,1, тогда как у детей, получающих заменители грудного молока, она достигает 6,5 [18]. Низкий уровень рН способствует росту бифидобактерий и лактобацилл, но подавляет рост других бактерий. Даже при наличии индивидуальных особенностей состава кишечной микрофлоры и у одного пациента в разные периоды времени, в структуре кишечной микрофлоры всегда есть резидентные и транзиторные штаммы [10, 39].

Резидентная микрофлора использует специфические гликоконъюгаты на поверхности кишечника в качестве рецепторов, по которым определяется место колонизации в кишечнике. Эти остатки

молекул сахаров могут способствовать адгезии резидентных бактерий. Специфичность гликоконъюгатов зависит от области и степени зрелости кишечника. Это связано с постнатальной возрастной регуляцией ферментов, необходимых для присоединения гликоконъюгатов к гликопротеинам и гликолипидам эпителия кишечника.

В недавно опубликованном сообщении приведены данные о том, что у мышей, обитающих в стерильных условиях, отношение сиаловой кислоты и фукозы остается на высоком уровне, как в незрелом кишечнике, но после колонизации быстро становится таким же, как в зрелом кишечнике. Таким образом, особенности структуры кишечной микрофлоры (естественная/патогенная) при начальной колонизации могут быть определены через возрастную регуляцию гликоконъюгатов [42].

С поверхностью энтероцитов бактерии могут связываться в основном через поверхностные гликоконъюгаты, поскольку именно они составляют большинство структур, с которыми контактируют бактерии [10, 11]. Эти гликоконъюгаты имеют одинаковый структурный остов, но часто они обладают специфическими для тканей и для возраста особенностями в составе, что и определяет характер диверсификации и избирательность. Гликопротеины можно обнаружить как на поверхности клеток, так и в различных секретах, в то время как гликолипиды жестко связаны с мембраной, за исключением клеток, расположенных в верхней части ворсинок кишечного эпителия. Из-за технических трудностей о гликолипидах мы знаем намного меньше, чем о гликозилировании белков. Тем не менее были обнаружены специфические примеры изменения гликозилирования при связывании специфических ганглиозидов [3]. Например, ганглиозид GM₁ представляет собой рецептор, который может связываться с холерным токсином. Не исключено, что модификация гликозилирования предоставляет возможность для естественной флоры, также как и для патогенной флоры, закрепляться на поверхности эпителия кишечной стенки, обеспечивая колонизацию или способствуя преодолению клеточного барьера.

Характер «распознающих рецепторов». Следует добавить, что в организме синтезируются специфические белки, которые могут распознавать самые разные молекулы, презентруемые микробной флорой. Эти рецепторы объединены термином «распознающие рецепторы» (PRR) [43, 44].

К этому семейству принадлежат 10 толл-подобных рецепторов (TLR). Например, TLR4 представляет собой рецептор для LPS, входящих в состав оболочки грамотрицательных бактерий; TLR2 — для молекул оболочки грамположительных бактерий, таких, как липотейхоевая кислота и пептидогликана, а TLR5 — рецептор для флагеллина бактерий [28]. Эти трансмембранные белки представляют собой гликопротеины, которые в процес-

се димеризации связываются с компонентами бактерий PRR, активируют процессы передачи специфического сигнала, что приводит к экспрессии специфических воспалительных реакций со стороны различных клеток в кишечнике. Специфичность типа гликозилирования на этих рецепторах пока не установлена. Вместе с тем для запуска начальной воспалительной реакции может иметь значение незрелость кишечника в раннем детском возрасте, тогда как отсутствие реактивности у взрослых может быть обусловлено отсутствием рецепторов или десенситизацией рецепторов эпителия кишечника. Однако эти рецепторы различают компоненты естественной и патогенной флоры и предотвращают развитие неадекватной воспалительной реакции к новым микробным резидентам в процессе постнатального становления кишечной микрофлоры. Механизмы этих разнообразных реакций пока не установлены.

Реакции на экзотоксин. Помимо прямого связывания, кишечные патогены продуцируют и секретируют экзотоксины, которые связываются с различными поверхностными рецепторами. С возрастом изменяется регуляция специфичности связывания *Vibrio cholerae* и токсина *Clostridium difficile* с их рецепторами, что и сказывается на предрасположенности к развитию диареи в определенном возрасте [45—47]. Новорожденные более восприимчивы к вызывающему диарею действию холерного токсина и токсина термостабильной *E. coli*, но менее восприимчивы к аналогичному действию токсина *C. difficile* и токсина *Shigella*. Как было указано выше, действие экзотоксина холеры *Vibrio* изменяется при гликозилировании ее рецептора, поскольку тип экспрессируемых гликоконъюгатов регулируется в зависимости от степени зрелости. Поэтому, по-видимому, следовало бы уделить внимание изучению предрасположенности младенцев к развитию диареи под действием экзотоксина, которая обусловлена изменением характера гликозилирования на поверхности кишечника.

Пробиотики в лечении заболеваний у новорожденных

Пробиотиками называют непатогенные микроорганизмы, которые обычно обнаруживаются в ки-

шечнике человека и оказывают благоприятное действие путем модуляции иммунного ответа [48, 49].

Среди множества таких бактерий наиболее известны штаммы *Lactobacillus casei GG (LGG)*, *Lactobacillus acidophilus*, *Bifidobacterium bifidum*, *Saccharomyces boulardii* и *Streptococcus thermophilus*. Они были изучены при проведении клинических испытаний. Было показано, что при лечении вирусной диареи применение LGG эффективно, а использование *L. acidophilus* не позволяет получить эффект в виде сокращения продолжительности первого эпизода диареи и периода выздоровления в стационаре или дома. Хотя при вирусной диарее удалось обнаружить положительный эффект, фармакодинамика пробиотиков остается неизвестной. Кроме того, в различных клинических испытаниях были получены и весьма убедительные данные об эффективности всех этих микроорганизмов при диарее, вызванной применением антибиотиков [50].

S. boulardii подавляет развитие вызванной токسينами клостридий деструкцию кишечного эпителия путем секреции протеазы, расщепляющей не только токсинный белок, но и его рецептор. Лечение позволило добиться выраженного эффекта в профилактике рецидивов у больных, в анамнезе которых были указания на эпизоды диареи, вызванной токсином *C. difficile* [51]. Тем не менее реальные результаты применения пробиотиков в лечении и профилактике бактериальной диареи, включая диарею путешественников, за исключением персистирующей диареи, вызванной токсином *C. difficile*, остаются смешанными. По-видимому, пробиотики позволяют получить эффект при лечении некротизирующего энтероколита у животных. Было проведено лишь небольшое количество исследований с использованием *L. acidophilus* и *Bifidobacterium infantis* в отделениях интенсивной терапии новорожденных. Полученные в них результаты выглядят весьма перспективными для продолжения работы в условиях клиники

Вместе с тем, чтобы получить объективное представление об эффективности применения этих бактерий у недоношенных детей в качестве профилактического средства, необходимо провести контролируемые клинические испытания с применением плацебо.

ЛИТЕРАТУРА

См. online-версию журнала <http://www.pediatricsjournal.ru> № 1/2005, приложение № 9.

ЛИТЕРАТУРА

1. Henning S.J. // *Physiology of the Gastrointestinal Tract.* / Ed. L.R. Johnson. — 2th ed. — New York, 1987. — P. 285—300.
2. Nanthakumar N.N. // *Gastrointestinal functions.* / Eds. E. Delvin, M.J. Lentze. — Nestle Nutrition Workshop Series. — Vol. 46. — Philadelphia, 2001. — P. 39—58.
3. Savage D.C. // *Ann. Rev. microbiol.* — 1997. — Vol. 31. — P. 107—133.
4. Sanderson I., Walker W.A. // *Gastroenterology.* — 1993. — Vol. 104. — P. 622—629.
5. Mitic L.L., Anderson J.M. // *Annu. Rev. Physiol.* — 1998. — Vol. 60. — P. 121—142.
6. Galan J.E., Bliska J.B. // *Annu. Rev. of Cell Dev. Biol.* — 1996. — Vol. 12. — P. 221—255.
7. Rescigno M., Borrow P. // *Cell.* — 2001. — Vol. 106. — P. 267—270.
8. Simon T.C., Gordon L. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* — 1995. — № 5. — P. 577—586.
9. Ouellette A.J. // *Gastroenterology.* — 1997. — Vol. 113. — P. 1779—1784.
10. Dai D., Nanthakumar N.N., Newburg D.C., Walker W.A. // *J. Pediatr. Gastr. Nutr.* — 2000. — Vol. 30. — P. 23—S33.
11. Hooper L.V., Gordon J.I. // *Glycobiology.* — 2001. — Vol. 11. — R1—R10.
12. Kraehenbuhl J.P., Neutra M.R. // *Ann. Rev. Cell Dev. Biol.* — 2000. — № 16. — P. 301—332.
13. McGee D.W. // *Mucosal Immunology.* / Eds. Ogra P.L., Mestecky J., Lamm M.E. et al. — San Diego, 1999. — P. 559—573.
14. Kerneis S., Bogdanova A., Kraehenbuhl J.P., Pringault E. // *Science.* — 1997. — Vol. 277. — P. 949—952.
15. Grand R.J., Watkins J.B., Torti F.M. // *Gastroenterology.* — 1976. — Vol. 70. — P. 790—810.
16. Wright N.A. // *Gastrointestinal functions.* / Eds. E. Delvin, M.J. Lentze. — Nestle Nutrition Workshop Series. — Vol. 46. — Philadelphia, 2001. — P. 1—22.
17. Buescher E.S. // *Clin. in Perinatology.* — 1994. — Vol. 21. — P. 247.
18. Benno Y., Sawada K., Mitsuoka T. // *Microbiol. Immunol.* — 1984. — Vol. 28. — P. 975—986.
19. Macfarlane G.T., Macfarlane S. // *Scand. J. Gastroenterol.* — 1997. — Vol. 70. — P. 443—459.
20. Nanthakumar N.N., Dai D., Newburg D.S., Walker W.A. // *FASEBJ.* — 2003. — Vol. 17. — P. 44—46.
21. Louvard D., Kedinger M., Hauri H.P. // *Ann. Rev. Cell Biol.* — 1992. — № 8. — P. 157—195.
22. Yeh K.Y., Holt P.R. // *Gastroenterology.* — 1986. — Vol. 90. — P. 520—526.
23. Diamond J.M. // *Nature.* — 1986. — Vol. 324. — P. 408.
24. Kedinger M., Duluc I., Fritsch C. et al. // *Ann. N Y Acad. Sci.* — 1997. — Vol. 859. — P. 1—17.
25. Kedinger M., Simon-Assmann P., Alexandre E., Haffen K. // *Cell Differ.* — 1987. — № 20. — P. 171—182.
26. Brandtzaeg P. // *Gastrointestinal functions.* / Eds. E. Delvin, M.J. Lentze. — Nestle Nutrition Workshop Series. — Vol. 46. — Philadelphia, 2001. — P. 91—114.
27. Nagler-Anderson C., Shi H.N. // *Crit. Rev. Immunol.* — 2001. — № 21. — P. 121—131.
28. Gewirtz A.T., Madara J.L. // *Nat. Immunol.* — 2001. — № 2. — P. 288—290.
29. Gurish M.F., Boyce J.A. // *Clin. Rev. Allergy Immunol.* — 2002. — № 22. — P. 107—118.
30. Hayday A., Theodoridis E., Ramsburg E., Shires J. // *Nature Immunology.* — 2001. — № 2. — P. 997—1003.
31. Wills-Karp M., Santeliz J., Karp C.L. // *Nature Reviews Immunology.* — 2001. — № 1. — P. 69—75.
32. Smith P.D., Smythies L.E., Mosteller-Barnum M. et al. // *J. Immunol.* — 2001. — Vol. 167. — P. 2651—2656.
33. Rescigno M., Urbano M., Valzasina B. et al. // *Nature Immunology.* — 2001. — № 2. — P. 361—367.

34. Anderson J.M. // *News Physiol. Sci.* — 2001. — № 16. — P. 126—130.
35. Lebenthal E., Lee P.C. // *J. Pediatr. Gastr. Nutr.* — 1982. — № 3. — P. 1—3.
36. Teichberg S., Wapnir R.A., Moyse J., Lifshitz F. // *Pediatr Res.* — 1992. — Vol. 32. — P. 50—57.
37. Nanthakumar N.N., Fusunyan R.D., Sanderson I., Walker W.A. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA.* — 2000. — Vol. 97. — P. 6043—6048.
38. Finke D., Kraehenbuhl J.P. // *Curr. Opin. Genet. Dev.* — 2001. — Vol. 11. P. 561—567.
39. Fuller R., Gibson G.R. // *Scand. J. Gastroenterol.* — 1997. — Suppl. 22. — P. 28—31.
40. Stark P.L., Lee A. // *J. Med. Microbiol.* — 1982. — № 15. — P. 189—203.
41. Schachter H., Roseman S. // *The Biochemistry of Glycoproteins and Proteoglycans.* / Ed. W.J. Lennarz. — Plenum, 1980. — P. 3—160
42. Asano M., Furukawa K., Kido M. et al. // *EMBO J.* — 1997. — № 16. — P. 1850-1857.
43. Medzhitov R. // *Nature Reviews Immunology.* — 2001. — № 1. — P. 135—145.
44. O'Neill L. // *Trends. Immunol.* — 2001. — Vol. 22. — P. 418—419.
45. Pothoulakis C., Lament J.T. // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* — 2001. — Vol. 280. — P. 178—183.
46. Lencer W.I., Chu S.W., Walker W.A. // *Infect. Immun.* — 1987. — Vol. 55. — P. 3126—3130.
47. Claud E.C., Walker W.A. // *FASEBJ* — 2001. — № 15. — P. 1398—1403.
48. Teitelbaum J.E., Walker W.A. // *Ann. Rev. Nut.* — 2002. — № 22. — P. 107—138.
49. Keusch G.T., Acheson D.W. // *Mechanism of Microbial Diseases.* / Ed. M. Schaechter. — 3th ed. — New York, 1998. — P. 185—198.
50. Keusch G.T., Acheson D.W. // *Mechanism of Microbial Diseases.* / Ed. M. Schaechter. — 3th ed. — New York, 1998. — P. 176—184.
51. Fasano A. // *Gut.* — 2002. — Vol. 50. — Suppl. 3. — P. 1119—1119.