

Роль кишечного микробиоценоза в формировании оральной толерантности у детей

С.Г. Макарова

ГУ Научный центр здоровья детей, Москва

Ключевые слова: пищевая аллергия, микрофлора кишечника, иммунная функция кишечника, оральная толерантность

Обзор посвящен современному состоянию проблемы патогенеза пищевой аллергии, в частности – влиянию кишечной микрофлоры на процессы формирования оральной толерантности. С иммунологических позиций рассмотрена гигиеническая гипотеза аллергии, приведены данные о роли регуляторных клеток в формировании направленности иммунного ответа, подробно освещается роль микрофлоры желудочно-кишечного тракта в установлении баланса между Th1- и Th2-клетками и механизмы формирования толерантности к орально поступающим антигенам. Рассматривается роль первоначальной колонизации кишечника как периода, определяющего развитие иммунных реакций в более позднем возрасте. Приводятся данные об особенностях состава кишечной микрофлоры у детей с атопией.

В последние годы в мире отмечается значительный рост аллергической патологии. Частота таких заболеваний, как атопический дерматит, аллергический ринит и бронхиальная астма, значительно увеличилась, что особенно заметно в индустриально развитых странах, и в настоящее время данная патология занимает первое место среди самых распространенных хронических заболеваний в детском возрасте [1]. В развитии аллергической патологии большую роль играет наследственная предрасположенность, однако следует отметить, что генетические факторы вряд ли объясняют увеличение частоты иммунных нарушений по типу атопических реакций на аллергены внешней среды. Более того, предполагается, что воздействия среды, в том числе и микробного окружения, особенно – в критические периоды жизни – могут прямо изменять тип иммунного ответа хозяина.

В основе аллергических заболеваний лежат такие факторы, как нарушение барьерных функций кожи и слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта, изменение состава микрофлоры и иммунного статуса, а также нарушение регуляции цитокинов. Внешние факторы, ведущие к увеличению частоты аллергических заболеваний, включают значительные изменения рациона в экономически развитых странах за последнее десятилетие, а также нарушение экосреды, в том числе и микробного окружения. Однако механизмы, приводящие к возникновению порочного круга при аллергическом воспалении, до конца не расшифрованы.

и иммунодоминантные антигены, включая антигены кишечной микрофлоры. Важно отметить, что введение антигена кишечной микрофлоры в организм ребенка способствует формированию иммунной памяти, что способствует развитию оральной толерантности к антигенам кишечной микрофлоры. Важно отметить, что введение антигена кишечной микрофлоры в организм ребенка способствует формированию иммунной памяти, что способствует развитию оральной толерантности к антигенам кишечной микрофлоры.

Для объяснения тенденции такого быстрого роста атопии выдвинуты несколько гипотез. Наибольшее признание получила **гигиеническая гипотеза аллергии**, которая, по мнению ряда авторов, объясняет развитие аллергии и рост ее распространенности.

Strachan впервые сформулировал гигиеническую гипотезу в своей основополагающей публикации в 1989 г как объяснение кажущегося парадоксальным явления – связи между размером семьи и/или гигиеной и предрасположенностью к аллергическим заболеваниям [2]. В этом исследовании представлены данные о пациентах из развитых европейских стран. При этом автор обратил внимание на заметные различия между разными социальными группами белого населения. Особенно интересными оказались данные о том, что в многодетных семьях с низким уровнем доходов риск аллергии оказался сниженным. Эти различия автор гипотезы объяснил тем, что в семьях с низким социальным положением дети наиболее часто контактируют с различными микробами. Кроме того, в этой гипотезе было высказано предположение о том, что контакт с микробами детей в раннем возрасте, выраженный в наибольшей степени в семьях с низким социальным статусом, «отвлекает» иммунную систему от непатогенных антигенов окружающей среды, что снижает уровень аллергической сенсибилизации.

На уровне современных данных иммунологическая основа гигиенической теории – это смещение баланса Th1- и Th2-типа иммунного ответа.

клUSTERA генов иммуноглобулинов в В-лимфоцитах солитарных лимфоидных фолликулов слизистой оболочки кишечника и переключение класса антител на sIgA индуцируются колонизацией кишечника бактериодами и другими облигатно-анаэробными бактериями и в целом играют ключевую роль в регуляции кишечной микрофлоры [109].

Как уже отмечалось, в последние десятилетия наблюдаются изменения в колонизации кишечника человека, которые носят глобальный характер. Считается, что данные изменения связаны со значительными изменениями образа жизни, питания, микробного окружения, имеющими место в развитых странах. Результаты продолжительного исследования характера кишечной микрофлоры кишечника 235 детей, родившихся в роддомах г. Москвы, показали, что нарушения, соответствующие дисбактериозу I–II степени существует у 50% здоровых грудных детей, III–IV степени – у 25% [105]. Показано также, что эти изменения преобладают в возрасте 1–6 мес, и только у 10–15% детей сохраняются во 2-м полугодии жизни. Таким образом, становление кишечного биоценоза не ограничивается только неонатальным периодом: все первое полугодие является ответственным и напряженным этапом его развития.

У детей с пищевой аллергией, особенно в раннем возрасте, в большинстве случаев (до 96%) выявляются те или иные нарушения в составе кишечного биоценоза [111, 112]. Этому способствуют такие факторы, как снижение общей иммунорезистентности, заболевания органов пищеварения и особенности местного иммунного ответа, применение массивной медикаментозной терапии, соблюдение элиминационных диет. Глубокие изменения в составе биоценоза кишечника сопровождаются подавлением защитной микрофлоры, активным вегетированием таких представителей условно-патогенной флоры как *Staph. aureus*, бактерий рода *Klebsiella*, *Proteus*, гемолизирующих штаммов *E. coli*, грибов *Candida*, явлениями интоксикации, повышением проницаемости кишечного барьера. Все эти изменения оказывают влияние на течение аллергического процесса, способствуя его утяжелению. Согласно общепринятому мнению, дисбиотические сдвиги у детей с аллергией носят характер вторичных изменений и, как показывают исследования, выраженность их уменьшается на фоне лечения основного заболевания [113].

Однако в настоящее время появились убедительные доказательства того, что нарушения в составе микрофлоры кишечника выявляются у детей, склонных к атопии, еще до развития аллергического процесса, что возвращает внимание исследователей к моменту первичной колонизации.

Одно из подтверждений того, что колонизация в периоде новорожденности является важным фактором для развития сенсибилизации в более

старшем возрасте, получено в исследованиях флоры кишечника у детей в Эстонии и Швеции. У детей с аллергией и в той, и другой стране было снижено количество лактобактерий и анаэробов, но повышенено содержание колибактерий и *Staphylococcus aureus*. Примечательно, что эти изменения были выявлены в раннем возрасте, еще до развития клинической симптоматики аллергии [114].

Проспективное клиническое исследование показало, что в кишечной микрофлоре тех новорожденных, которые позже разворачивают картину атопической экземы, обнаруживаются в низком количестве бифидобактерии и большое количество клостродий [115].

В рандомизированном плацебо-контролируемом исследовании 159 младенцам из семей с отягощенным семейным анамнезом по атопическим заболеваниям в течение 6 мес и их матерям в течение 2–4 нед до родов давались капсулы, содержащие либо плацебо (64 пары), либо *Lactobacillus GG* (68 пар). Дети исследовались в возрасте 3, 6, 12, 18 и 24 мес. Частота развития атопического дерматита в «пробиотической» группе была наполовину меньше в группе детей, получавших плацебо: 23 против 46% [116]. Спустя два года действие продолжалось: атопический дерматит наблюдался у 14 из 53 детей, принимавших *Lactobacillus GG*, в сравнении с 25 из 54, получавших плацебо, что предполагало профилактическое действие *Lactobacillus GG* в отношении атопического дерматита, которое распространялось за пределы грудного возраста [117].

Показано также, что назначение *Lactobacillus GG* материам в периоде беременности и лактации приводит к повышению содержания противовоспалительного цитокина ТФР-β в грудном молоке более чем в 2 раза в сравнении с контрольной группой, получавшей плацебо [118].

В рандомизированном двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании показано, что специфические пробиотики (*Bifidobacterium lactis Bb12* или *Lactobacillus GG*), при добавлении к смеси на основе высокогидролизованных белков молочной сыворотки, существенно улучшили состояние кожи (оценка методом SCORAD) у 18 младенцев с атопическим дерматитом, получающих лечебную смесь с добавлением пробиотика, в сравнении с 9 младенцами, получавшими не обогащенную формулу [119].

Назначение детям с атопическим дерматитом и непереносимостью коровьего молока *Lactobacillus GG* приводило к увеличению выработки противовоспалительного цитокина ИЛ-10 и ослаблению клинических проявлений заболевания. Одновременно отмечалось снижение характерного для этих больных высокого уровня провоспалительного цитокина – ФНО-α [120].

Из современных синбиотиков можно отметить Нормофлорины Л, Б и Д, которые сочетают симбионтную облигатную флору, их метаболиты и преби-

отик лактит, который обеспечивает метаболическую активность нормальной микрофлоры.

Пробиотические штаммы представлены живыми клетками лактобактерий (*L. acidophilus* 10¹⁰, *L. casei* 10⁹ KOE/мл) и бифидобактерий (*B. bifidum*, *B. longum* 10¹⁰ KOE/мл). Данные штаммы облигатной микрофлоры усиливают действие друг друга, кроме того при их сочетании повышается их способность к адгезии к кишечному эпителию, что в конечном итоге усиливает его барьерные функции. Рациональная комбинация штаммов бифидобактерии позволяет применять Нормофлорины в разных возрастных группах.

Известно, что *B. longum* наиболее жизнеспособные из бифидобактерий, обладают высокой устойчивостью к действию желудочного сока и желчи.

L. casei обладает широким спектром противомикробного действия, уменьшает аллергическую настороженность, способствуя переключению иммунного ответа с Th2 на Th1.

Метаболиты облигатной микрофлоры кишечника (уксусная, молочная, пропионовая, янтарная и масляная кислоты) потенцируют действие пробиотического компонента.

Колонизационная резистентность обеспечивается не только высоким титром живых клеток бифидо- и лактобактерий, содержащихся в Нормофлоринах, но и продуктами их жизнедеятельности (бактериоцинами, КЦЖК). Последние создают слабокислую среду, неблагоприятную для роста условно-патогенной и патогенной микрофлоры. Кроме того уксусная и молочная кислоты регулируют моторную и секреторную функции ЖКТ. Как известно, восстановление микрофлоры без нормализации функциональной активности кишечника, малоэффективно.

Иммунотропный механизм осуществляется благодаря влиянию пробиотиков на фагоцитарную активность нейтрофилов. Данная функция неспецифической иммуностимуляции усиливается входящим в состав мурамидипептидом.

Важно, что в составе Нормофлоринов отсутствуют молочный белок и сахар, что позволяет их применять при непереносимости белка коровьего молока и лактазной недостаточности.

Проведенные клинические исследования в ГНЦ «Институт иммунологии ФМБА России», свидетельствовали о высокой эффективности Нормофлоринов в комплексной терапии аллергических заболеваний, таких как атопический дерматит и хроническая рецидивирующая крапивница.

Таким образом, в настоящее время общепризнанным является тот факт, что формирование иммунного ответа кишечника и организма в целом происходит под влиянием бактерий, в том числе и кишечной группы. Поэтому все большее значение в последние годы придается иммунной функции кишечника, которую по значимости для организ-

ма приравнивают к его пищеварительной функции. С современных позиций, кишечный биоценоз – это важнейший фактор, принимающий участие в становлении иммунной функции кишечника, формирования пищевой толерантности, а также в патогенезе аллергических заболеваний, в первую очередь – пищевой аллергии. Процесс первичной колонизации кишечника имеет ключевое значение для формирования кишечного биоценоза, а по последним данным – и для завершающих этапов созревания иммунной системы новорожденного, формирования направленности его иммунного ответа и является важнейшим периодом для формирования пищевой толерантности. Здоровье матери, совместное пребывание матери и ребенка, раннее прикладывание к груди – факторы, имеющие важное значение для нормального течения данного периода.

ЛИТЕРАТУРА

1. The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) Steering Committee: Worldwide variation in prevalence of symptoms of asthma, allergic rhinoconjunctivitis and atopic eczema. Lancet. 1998, v. 351, p. 1225-1232.
2. Strachan D.P. Hay fever, hygiene and household size. Br. Med. J. 1989, v. 299, p. 1259-1260.
3. Romagmani S. Human Th1 and Th2 subsets: doubt no more. Immunol. Today. 1991; 12, no. 8:256-257.
4. Upham J.W., Lee P.T., Holt B.J. et al. development of interleukin-12-producing capacity throughout childhood. Infect. Immunol. 2002, v. 70, p. 6583-6588.
5. Lammas D.A., Casanova J.L., Kumararatne D.S. Clinical consequences of defects in the IL-12-dependent interferon-gamma (IFN-gamma) pathway. Clin. Exp. Immunol. 2000, v. 121, p. 417-425.
6. Hansen G., Berry G., DeKruyff R.H., Umetsu D.T. Allergen-specific Th1 cells fail to counterbalance Th2 cell-induced airway hyperreactivity but cause severe airway inflammation. J. Clin. Invest. 1999, v. 103, p. 175-183.
7. Hansen G., McIntire J.J., Yeung V.P. et al. CD4(+) T-helper cells engineered to produce latent TGF-beta1 reverse allergen-induced airway hyperreactivity and inflammation. J. Clin. Invest. 2000, v. 105, p. 61-70.
8. Chen Y., Kuchroo V.K., Inobe J. et al. Regulatory T-cell clones induced by oral tolerance: suppression of autoimmune encephalomyelitis. Science. 1994, v. 265, p. 1237-1240.
9. Hafler D.A., Kent S.C., Pietruszewicz M.J. et al. Oral administration of myelin induces antigen-specific TGF-beta 1 secreting T-cells. Ann N Y Acad. Sci. 1997, v. 835, p. 120-131.
10. Yazdanbakhsh M., Kremsner P.G., van Ree R. Allergy, parasites, and the hygiene hypothesis. Science. 2002, v. 296, p. 490-494.
11. Van den Biggelaar A.H.J., van Ree R., Rodrigues L.C. et al. Decreased atopy in children infected with *Schistosoma haematobium*: a role for parasite-induced interleukin-10. Lancet. 2000, v. 356, p. 1723-1727.
12. Scrivener S., Yemaneberhan H., Zebenigus M. et al. Independent effects of intestinal parasite infection and domestic allergen exposure on risk of wheeze in Ethiopia: a nested case-control study. Lancet. 2001, v. 358, p. 1493-1499.
13. McGuirk P., Mills K. Pathogen-specific regulatory T cells provoke a shift in the Th1/Th2 paradigm in immunity to infectious diseases. Trends Immunol. 2002, v. 23, p. 450-455.
14. Bashir M.E., Andersen P., Fuss I.J. et al. An enteric helminths infection protects against an allergic response to dietary antigen. J. Immunol. 2002, v. 169, p. 3284-3292.
15. Schmidt-Weber C.B., Blaser K. T-cell tolerance in allergic response. Allergy. 2002, v. 57, p. 762-768.

16. Nagler-Anderson C. Man the barrier! Strategic defences in the intestinal mucosa. *Nat. Rev. Immunol.* 2001, v. 1, p. 59-67.
17. Akdis C.A., Blesken T., Akdis M. et al. Role of IL-10 in specific immunotherapy. *J. Clin. Invest.* 1998, v. 102, p. 98-106.
18. Muller U.R., Akdis C.A., Fricker M. et al: Successful immunotherapy with T cell epitope peptides of bee venom phospholipase A2 induces specific T cell anergy in bee sting allergic patients. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1998, v. 101, p. 747-754.
19. Pierkes M., Bellinghausen I., Hultsch T. et al. Decreased release of histamine and leukotrienes by human peripheral blood leukocytes after wasp venom immunotherapy is partially due to induction of IL-10 and IFN-gamma production of T-cells. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1999, v. 103, p. 326-332.
20. Tillie-Leblond I., Pugin J., Marquette C.H. et al. Balance between proinflammatory cytokines and their inhibitors in bronchial lavage from patients with status asthmaticus. *Am. J. Respir. Crit. Care. Med.* 1999, v. 159, p. 487-494.
21. Groux H., O'Garra A., Bigler M. et al. A CD4+ T-cell subset inhibits antigen-specific T-cell response and prevents colitis. *Nature*. 1997, v. 389, p. 737-742.
22. Chen Y., Inobe J., Kuchroo V.K. et al. Oral tolerance in myelin basic protein T-cell receptor transgenic mice: Suppression of autoimmune encephalomyelitis and dose-dependent induction of regulatory cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1996, v. 93, p. 388-391.
23. Sanderson I.R., Walker W.A. Uptake and transport of macromolecules by the intestine: possible role in clinic disorders. *Gastroenterology*. 1993, v. 104, p. 622-639.
24. Strober W., Kelsall B., Marth T. Oral tolerance. *J. Clin. Immunol.* 1998, v. 18, p. 1-30.
25. Hoppe U., Kailiomaiki M., Isolauri E. et al. Maternal diet rich in saturated fat during breastfeeding is associated with atopic sensitization of the infant. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2000, v. 43, p. 702-705.
26. Hoppe U., Kailiomaiki M., Laiho K. et al. Breast milk-immuno-modulatory signals against allergic disease. *Allergy*. 2001, v. 56, p. 23-26.
27. Holt P.G. Primary allergic sensitization to environmental antigens: perinatal T-cell priming as a determinant of responder phenotype in adulthood. *J. Exp. Med.* 1996, v. 183, p. 1297-1301.
28. Piccini M.P., Mecacci F., Sampognaro S. et al. Aeroallergen sensitization can occur during fetal life. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 1993, v. 102, p. 301-303.
29. Prescott S.L., Macaubas C., Holt B.J. et al. Transplacental priming of the human immune system to environmental allergens: universal skewing of initial T-cell responses towards the Th2 cytokines profile. *J. Immunol.* 1998, v. 160, p. 4730-4737.
30. Szepfalusy Z., Loibichler C., Pichler J. et al. Direct evidence for transplacental allergen transfer. *Pediatr. Res.* 2000, v. 48, p. 404-407.
31. Custovic A., Simpsom B.M., Simpson A. et al. Effect of environmental manipulation in pregnancy and early life on respiratory system and atopy during first year of life: a randomized trial. *Lancet*. 2001, v. 358, p. 188-193.
32. Prescott S.L., Macaubas C., Smallacomber T. et al. Development of allergen-specific T-cell memory in atopic and normal children. *Lancet*. 1999, v. 353, p. 196-200.
33. Yabuhara A., Macaubas C., Prescott S.L. et al. Th2-polarized immunological memory to inhalant allergens in atopics is established during pregnancy and early childhood. *Clin. Exp. Allergy*. 1997, v. 27, p. 1261-1269.
34. Oddy W.H., Holt P.G., Sly P.D. et al. Association between breast feeding and asthma in 6 year old children: findings from prospective birth cohort study. *B.M.J.* 1999, v. 319, p. 815-819.
35. Macaubas C., Sly P.D., Burton P. et al. Regulation of T-helper cells responses to inhalant allergens during early childhood. *Clin. Exp. Allergy*. 1999, v. 29, p. 1223-1231.
36. Piccinni M.P., Beloni L., Giannarini L. et al. Abnormal production of T helper 2 cytokines interleukin-4 and interleukin-5 by T-cells from newborns with atopic parents. *Eur. J. Immunol.* 1996, v. 26, p. 2293-2298.
37. Williams T.J., Jones C.A., Miles E.A. Fetal and neonatal IL-13 production during pregnancy and at birth and subsequent development of atopic symptoms. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2000, v. 105, p. 951-959.
38. Holt P.G., Clough J.B., Holt B.J. et al. Genetic risk for atopy is associated with delayed postnatal maturation of T-cell competence. *Clin. Exp. Allergy*. 1992, v. 22, p. 1093-1099.
39. Rowe J., Macaubas C., Monger T. et al. Heterogeneity in diphtheria-tetanus-acellular, pertussis vaccine-specific cellular immunity during infancy: relationship to variations in the kinetics of postnatal maturation of systemic Th1 function. *J. Infect. Dis.* 2001, v. 184, p. 80-88.
40. Liao S.Y., Liao T.N., Chiang B.L. et al. Decreased production of IFN-gamma and increased production of IL-6 by cord blood mononuclear cells of newborns with a high risk of allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 1996, v. 26, p. 397-405.
41. Warner J.A., Miles E.A., Jones A.C. et al. Is deficiency of interferon gamma production by allergen triggered cord blood cells a predictor of atopic eczema? *Clin. Exp. Allergy*. 1994, v. 24, p. 423-430.
42. White G.P., Watt P.M., Holt B.J. et al. Differential patterns of methylation of the IFN γ promoter at CpG and non-CpG sites underlie differences in IFN γ gene expression between human neonatal and adult CD45RO T-cells. *J. Immunol.* 2002, v. 168, p. 2820-2827.
43. Holt P.G. Environmental factors and primary T-cell sensitization to inhalant allergens in infancy: reappraisal of the role of infections and air pollution. *Pediatr. Allergy Immunol.* 1995, v. 6, p. 1-10.
44. Sudo N., Sawamura S.A., Tanaka K. et al. The requirement of intestinal bacterial flora for the development of an IgE production system fully susceptible to oral tolerance induction. *J. Immunol.* 1997, v. 159, p. 1739-1745.
45. Liu Y.J., Kadokawa N., Rissoan M.C., Soumelis V. T-cell activation and polarization by DC1 and DC2. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2000, v. 251, p. 149-59.
46. de Jong E.C., Vieira P.L., Kalinski P. et al. Microbial compounds selectively induce Th1 cell-promoting or Th2 cell-promoting dendritic cells in vitro with diverse Th cell-polarizing signals. *J. Immunol.* 2002, v. 168, p. 1704-1709.
47. Barton G.M., Medzhitov R. Toll-like receptors and their ligands. *Curr. Top. Microbiol. Immunol.* 2002, v. 270, p. 81-92.
48. Kadokawa N., Ho S., Antonenko S. et al. Subsets of human dendritic cell precursors express different tolllike receptors and respond to different microbial antigens. *J. Exp. Med.* 2001, v. 194, p. 863-869.
49. Akdis C.A., Blaser K., Akdis M. Genes of tolerance. *Allergy*. 2004, v. 59, p. 897-913.
50. Thomas H.G., Parrott D.M.V. The induction of tolerance to a soluble protein antigen by oral administration, immunology. 1974, v. 27, p. 631-639.
51. Strobel S., Ferguson A. Immune responses to fed protein antigens in mice. Systemic tolerance or priming is related to age at which antigen is first encountered. *Pediatr. Res.* 1984, v. 18, p. 588-594.
52. Kraus T.A., Toy L., Chan L. et al: Failure to induce oral tolerance to a soluble protein in patients with inflammatory bowel disease. *Gastroenterology*. 2004, v. 126, p. 1771-1778.
53. Peng H.J., Su S.N., Tsai J. et al. Effect of ingestion of cows milk hydrolyzed formulas on whey protein-specific Th2 immune responses in naive and sensitized mice. *Clin. Exp. Allergy*. 2004, v. 34, p. 663-670.
54. Vandendries Y., Mauser B., Van den Borre C. et al. The long-term effect of a partial whey hydrolysate formula on the prophylaxis of atopic diseases. *Eur. J. Pediatr.* 1995, v. 154, p. 488-494.
55. Chung H.L., Hwang J.B., Park J.J., Kim S.G. Expression of transforming growth factor type I and II receptors, and TNF- γ in the mucosa of the small intestine in infants with food-protein induced enterocolitis syndrome. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002, v. 109, p. 150-154.

56. Beyer K., Castro R., Birnbaum A. et al. Human milk-specific mucosal lymphocytes of the gastrointestinal tract display a Th2 cytokine profile. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002, v. 109, p. 707-713.
57. Perez-Machado M., Ashwood P., Sim R. et al. Evidence at protein and mRNA level of reduced Th3 lymphocytes in multiple food allergy. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2000, v. 31, p. 127-128.
58. Ke Y., Kapp J.A. Oral antigen inhibits priming of CD8+ CTL, CD4+ T-cells, and antibody responses while activating CD8+ suppressor T-cells. *J. Immunol.* 1996, v. 15, p. 16-921.
59. Weiner H.L. Oral tolerance for the treatment of autoimmune diseases. *Ann. Rev. Med.* 1997, v. 48, p. 341-351.
60. Rowe J., Macaubas C., Monger T. et al. Heterogeneity in diphtheria-teta-nus-acellular, pertussis vaccine-specific cellular immunity during infancy: relationship to variations in the kinetics of postnatal maturation of systemic Th1 function. *J. Infect. Dis.* 2001, v. 184, p. 80-88.
61. Nagler-Anderson C., Walker W.A. Mechanisms governing non-responsiveness to food proteins; in: Isolauri E., Walker WA (eds): *Allergic Diseases and the Environment*. Nestle Nutrition Workshop Series Pediatric Program. Vevey, Nestec/Basel, Karger. 2004, v. 53, p. 117-132.
62. Wells H.G., Osborne T.B. The biological reactions of the vegetable proteins. *J. Infect. Dis.* 1911, v. 8, p. 66-124.
63. Friedman A., Weiner H.L. Induction of anergy or active suppression following oral tolerance is determined by antigen dosage. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1994, v. 91, p. 6688-6692.
64. Manickasingham S.P., Edwards A.D., Schulz O., Sousa C.R. The ability of murine dendritic cell subsets to direct T helper cell differentiation is dependent on microbial signals. *Eur. J. Immunol.* 2003, v. 33, p. 101-107.
65. Miller A., Lider O., Abramsky O., Weiner H.L. Orally administered myelin basic protein in neonates primes for immune responses and enhances experimental autoimmune encephalomyelitis in adult animals. *Eur. J. Immunol.* 1994, v. 24, p. 1026-1032.
66. Peri B.A., Rothberg R.M. Specific suppression of antibody production in young rabbit kits after maternal ingestion of bovine serum albumin. *J. Immunol.* 1981, v. 127, p. 2520.
67. Thorstenson K.M., Khoruts A. Generation of anergic and potentially immunoregulatory CD25+ CD4 T-cells in vivo after induction of peripheral tolerance with intravenous or oral antigen. *J. Immunol.* 2001, v. 167, p. 188-195.
68. Zhang X., Izikson L., Liu L., Weiner H.L. Activation of CD25+CD4+ regulatory T-cells by oral antigen administration. *J. Immunol.* 2001, v. 167, p. 4245-4253.
69. Karlsson M.R., Kahu H., Hanson L.A. et al. Tolerance and bystander suppression, with involvement of CD25-positive cells, is induced in rats receiving serum from ovalbumin-fed donors. *Immunology*. 2000, v. 100, p. 320-333.
70. The Role of Immune Tolerance in Allergy Prevention. M. Karlsson M.R., Kahu H., Hanson L.A. et al. An established immune response against ovalbumin is suppressed by a transferable serum factor produced after ovalbumin feeding: A role of CD25+ regulatory cells. *Scand. J. Immunol.* 2002, v. 55, p. 470-477.
71. Karlsson MR. Rugtveit J., Brandtzæg P. Allergen-responsive CD41CD251 regulatory T cells in children who have outgrown cow's milk allergy. *J. Exp. Med.* 2004; 199:1679-1688.
72. Chen Y., Tnobe J., Marks R., Gonnella P., Kuchroo VK., Weiner HL. Peripheral deletion of antigen-reactive T cells in oral tolerance. *Nature*. 1995, v. 376, p. 177-180.
73. Pathirana C., Coupling NG., Gibney MJ. et al: Immune tolerance produced by pre and postnatal exposure to dietary antigens, *int. Arch. Allergy Appl. Immunol.* 1981, v. 66, p. 114.
74. Telemo E., Jakobsson I., Westerholm B.R., Folkesson H. maternal diet and the immune response in the offspring of the guinea pig. *Immunology*. 1987, v. 62, p. 35-38.
75. Fritzsche R., Martin O. In utero induction of oral tolerance in rats: Antigen feeding during pregnancy downregulates specific IgE response in offspring (abstract). *Allergy Clin. Immunol.* 2000, v. 105, p. 1070.
76. Макарова С.Г., Боровик Т.Э., Гусева И.М. и совт. Профилактика пищевой аллергии в раннем детском возрасте. «Вопросы современной педиатрии». 2006, т. 5, № 4, с. 69-74.
77. de Boissieu D. Do breast-feeding and «dairy» milks have any preventive or curative effect in the management of atopic dermatitis in children? *Ann. Dermatol. Venereol.* 2005, Jan;132 Spec № 1, p. 104-111.
78. Fritzsche R., Pahud J.J., Pecquet S., Pfeifer A. Induction of systemic immunological tolerance to beta-lactoglobulin by oral administration of a whey protein hydrolysate. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1997, v. 100, p. 266-273.
79. Baumgartner M., Brown C.A., Exl B.-M., Secretin M.C., van't Hof M., Haschke F. Controlled trials investigating the use of one partially hydrolyzed whey formula for dietary prevention of atopic manifestations until 60 months of age: an overview using meta-analytical techniques. *Nutr. Res.* 1998, v. 18, p. 1425-1442.
80. Berg A. von, Koletzko S., Grubl A., Schoetzau A., Wichmann H.E., Bauer C.P., Reinhardt D., Berdel D. GINI. German International Nutrition Intervention Study. *Nestle Nutrition Workshop series*. 2003, v. 53, p. 285-300.
81. Schoetzau A., Gehring U., Wichmann H.E. Prospective cohort studies using hydrolyzed formulas for allergy prevention in atopy-prone newborns: A systematic review. *Eur. J. Pediatr.* 2001, v. 160, p. 323-332.
82. Zeiger R.S., Heller S., Mellon M.H. et al. Effect of combined maternal and infant food-allergen avoidance on development of atopy in early infancy: A randomized study. *J. Allergy Clin. Immunol.* 1989, v. 84, p. 72-89.
83. Zeiger R.S., Heller S., Mellon M.H. et al. Genetic and environmental factors affecting the development of atopy through age 4 in children of atopic parents: A prospective randomized study of food allergen avoidance. *Pediatr. Allergy Immunol.* 1992, v. 3, p. 110-127.
84. Arshad S.H., Matthews S., Gant C., Hide D.W. Effect of allergen avoidance on development of allergic disorders in infancy. *Lancet*. 1992, v. 339, p. 1493-1497.
85. Gaboriau-Routhiau V., Moreau M.C. Oral tolerance to ovalbumin in mice: Induction and long-term persistence unaffected by *Staphylococcus aureus* enterotoxin B and *Clostridium perfringens* type A enterotoxin. *Pediatr. Res.* 1997, v. 42, p. 503-508.
86. Moreau M.C., Cortier G. Effect of the gastrointestinal microflora on induction and maintenance of oral tolerance to ovalbumin in C3H/He mice. *Infect. Immun.* 1988, v. 50, p. 2706-2705.
87. Maiysiak-Budnik T., van Niel G., Megraud F. et al. Gastric *Helicobacter* infection inhibits development of oral tolerance to food antigens in mice. *Infect. Immun.* 2003, v. 71, p. 5219-5224.
88. Harizi H., Juzan M., Pitard V. et al. Cyclooxygenase-2-issued prostaglandin E₂ enhances the production of endogenous IL-10, which down-regulates dendritic cell functions. *J. Immunol.* 2002, v. 168, p. 2255-2263.
89. Berg R.D. The indigenous gastrointestinal microflora. *Trends Microbiol.* 1996, v. 4, p. 430-435.
90. Smahi A., Courtois G., Rabia S.H. et al. The NF-κB signalling pathway in human diseases: from incontinentia pigmenti to ectodermal dysplasias and immune-deficiency syndromes. *Hum. Mol. Genet.* 2002, v. 11, p. 2371-2375.
91. Ogura Y., Bonen D.K., Inohara N. et al. A frame-shift mutation in Nod2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature*. 2001, v. 411, p. 603-606.
92. Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J. et al. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J. Biol. Chem.* 2003, epub (10.1074/jbc.C200651200).
93. Hooper T.V., Gordon J.L. Commensal host-bacterial relationships in the gut. *Science*. 2001, v. 292, p. 1115-1118.
94. Sebra J.J. Influences of microbiota on intestinal immune system development. *Am. J. Clin. Nutr.* 1999, v. 69 (suppl), p. 1046S-1051S.

95. Hooper L.V., Wong M.H., Thelin A. et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationships in the intestine. *Science*. 2001, v. 291, p. 881-884.
96. Stappenbeck T.S., Hooper L.V., Gordon J.I. Developmental regulation of intestinal angiogenesis by indigenous microbes via Paneth cells. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 2002, v. 99, p. 15451-15455.
97. Lu L., Walker W.A. Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium. *Am. J. Clin. Nutr.* 2001, v. 73 (suppl), p. 1124S-1130S.
98. Heilig H.G., Zoetendal E.G., Vaughan E.E. et al. Molecular diversity of *Lactobacillus* spp. and other lactic acid bacteria in the human intestine as determined by specific amplification of 16S ribosomal DNA. *Appl. Environ. Microbiol.* 2002, v. 68, p. 114-123.
99. Murch S.H. The immunologic basis for intestinal food allergy. *Current Opinion Gastroenterol* 2000; 16:552-557.
100. Murch S.H. Toll of allergy reduced by probiotics. *Lancet*. 2001, v. 357, p. 1057-1059.
101. Grutte F.K., Muller-Beuthow W. Wandlung der normalem darmflora des menschlichen sauglings innerhalb der letzten 20 Jahre. *Nahrung*. 1979, v. 23, p. 455-465.
102. Копанев Ю.А., Соколов А.Л. Дисбактериоз кишечника: микробиологические, иммунологические и клинические аспекты микробиологических нарушений у детей. М., 2002, с. 148.
103. Постникова Е.А., Пикина А.П., Кафарская Л.И., Ефимов Б.А. Изучение качественного и количественного состава микрофлоры кишечника у клинически здоровых детей в раннем возрасте. *Журн. микробиол.* 2004, № 1, с. 67-9.
104. Никитенко В.И., Сапрыкин В.Б., Матвеева О.И., Блинова В.М. Новые данные о механизме формирования и регулирующей роли нормальной микрофлоры кишечника у детей. Гастроэнтерология Санкт-Петербурга. Материалы 6-го Международного Славяно-Балтийского научного форума «Санкт-Петербург-Гастро-2004». М., № 2-3, с. 101.
105. Самсыгина Г.А. Особенности становления биоценоза кишечника у грудных детей и кишечный дисбактериоз. *Consilium Medicum*. 2003, № 2, с. 304.
106. Урсова Н.И. Основные физиологические функции нормальной микрофлоры и формирование микробиоценоза у детей. Вопросы практической педиатрии. 2006, т. 1, № 1, с. 51-56.
107. Шендеров Б.А. Медицинская микробная экология и функциональное питание. Т. 1: Микрофлора человека и животных и ее функции. М., «ГРАНТЪ», 1998, с. 288.
108. Simhon A., Douglas J.R., Drasar B.S., Soothill J.F. Effect of feeding on infants' faecal flora. *Arch. Dis. Child.* 1982, v. 57, p. 54-58.
109. Хромова С.С., Шкопоров А.Н., Ефимов Б.А. и др. Микрофлора кишечника и механизмы иммунорегуляции. *Вопросы детской диетологии*. 2005, т. 3, № 1, с. 92-96.
110. Кафарская Л.И., Инжеваткина С.М., Володин Н.Н. и соавт. Терапевтический потенциал пробиотиков: оптимизация иммунного ответа и восстановление экосистемы кишечника. *Вопросы детской диетологии*. 2005, т. 3, № 1, с. 72-75.
111. Куваева И.Б., Ладодо К.С. Микроэкологические и иммунные нарушения у детей. М., «Медицина». 1991, 432 с.
112. Балаболкин И.И., Гребенюк В.Н. Атопический дерматит у детей. М., «Медицина». 1999, 240 с.
113. Макарова С.Г., Боровик Т.Э., Ладодо К.С. и соавт. Состояние кишечного микробиоценоза у детей с атопическим дерматитом в зависимости от особенностей клинической картины и формы заболевания. *«Педиатрия»*. 1997, № 2, с. 19-24.
114. Bettelheim K.A., Breadon A., Faiers M.C. The origin of O serotypes of *Escherichia coli* in babies after normal delivery. *J. Hyg (Camb)*. 1974, v. 12, p. 61-1Q.
115. Kalliomaki M., Kirjavainen P., Arvola E. et al. Distinct patterns of neonatal gut microflora in infants in whom atopy was and was not developing. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001, v. 107, p. 129-134.
116. Kalliomaki M., Salminen S., Arvilomm L.H. et al. Probiotics in primary prevention of atopic disease: A randomized placebo-controlled trial. *Lancet*. 2001, v. 357, p. 1076-1079.
117. Kalliomaki M., Salminen S., Poussa T. et al. Probiotics and prevention of atopic disease: 4-year follow-up of a randomized placebo-controlled trial. *Lancet*. 2003, v. 361, p. 1869-1871.
118. Isolauri E., Arvola T., Sutas Y. et al. Probiotics in the management of atopic eczema. *Clin. Exp. Allergy*. 2000, v. 30, p. 1604-1610.
119. Rautava S., Kalliomaki M., Isolauri E. Probiotics during pregnancy and breastfeeding might confer immunomodulatory protection against disease in the infant. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2002, v. 109 (1), p. 119-21.
120. Bai A.P., Ouyang Q., Zhang W. et al. Probiotics inhibit TNF α -induced interleukin-8 secretion of HT29 cells. *J. Gastroenterology*. 2004, v. 10 (3), p. 455-457.

Статья поступила 28.02.2008 г, принята к печати 04.03.2008 г.
Рекомендована к публикации Пампурой А.Н.

THE ROLE OF INTESTINAL MICROBIOTA IN THE DEVELOPMENT OF ORAL TOLERANCE IN INFANTS

Makarova S.G.

RAMS, Scientific Center of children's health, Moscow, Russia

Key words: food allergy, intestinal microflora, intestinal immune system, oral tolerance

A review is based on recent experimental and clinical findings on the pathogenesis of food allergy and role of gut microflora in development of oral tolerance. The postnatal allergen challenge of the immature immune system may predispose an infant to develop the potentially harmful type 2 T-helper cell (Th2)-polarized memory. The «hygiene hypothesis» is based on an assumption that such sensitization is less likely to occur in the simultaneous presence of adequate microbial stimulus directing the immune responses toward the Th1 cytokine phenotype. Some studies indicate that the composition of gut microbiota differs in allergic and healthy infants. The last suggests an association between the composition of gut microbiota and development of allergic symptoms in infants that can consequently constitute a new treatment target.

В основу современных представлений о клеточных и молекулярных механизмах, лежащих в основе атопии, легли данные, полученные на мышах и впоследствии перенесенные на иммунную систему человека [3, 4]. Ключевое открытие состояло в обнаружении двух реципрокно поляризованных субпопуляций CD4⁺ (а затем и CD8⁺) Т-хелперных клеток (Th), которые после соответствующей дифференцировки обретали способность вырабатывать цитокины в одной или в другой комбинации. Данные популяции включают Th1-клетки, секрецирующие интерферон (ИФН)- γ фактор некроза опухоли (ФНО)- β , и интерлейкин (ИЛ)-2, которые определяют, прежде всего, реакции клеточного иммунитета, и Th2-клетки, секрецирующие ИЛ-4, ИЛ-5, ИЛ-9, запускающие гуморальный иммунитет. Высокая интенсивность продукции этих цитокинов в аллерген-специфических реакциях связана соответственно с активацией вырабатывающих IgE антитела В-клеток, а также эозинофилов и тканевых тучных клеток. Иммунологическая основа фенотипа, при котором аллергические реакции не развиваются, пока дискутируется и, по-видимому, характеризуется наличием зоны высокой и низкой толерантности. Тем не менее совершенно очевидно, что по отношению ко многим аллергенам ареактивность не является эквивалентом иммунологического игнорирования. Например, толерантность к такому ингаляционному аллергену, как клещ домашней пыли, часто встречается у пациентов без атопии, имеющих при этом низкий уровень цитокинов, характеризующих Th1-тип иммунного ответа [3, 4].

Следует отметить, что **гигиеническая гипотеза аллергии носит весьма схематичный характер** и в настоящее время результаты многих исследований указывают на то, что аллергический тип иммунного ответа не может быть полностью объяснен дисбалансом Th1- и Th2-иммунного ответа.

Так, например, есть данные, свидетельствующие, что у пациентов, имеющих дефект выработки ИЛ-12 и ИФН- γ , не отмечается высокой частоты аллергических болезней [5].

На экспериментальной модели бронхиальной астмы у мышей показано, что аллерген-специфические Th1-клетки не уменьшали проявлений Th2-модулированной астмы, а напротив, усиливали аллергическое воспаление [6]. На аналогичной модели, гиперреактивность дыхательных путей и воспаление было уменьшено под влиянием трансформирующего фактора роста β (ТФР- β), производимого Th3-клетками [7]. Подобные клетки обнаружены также у человека [8, 9].

Не укладываются в теорию Th1/Th2 дисбаланса и данные, полученные при обследовании детей и взрослых с глистными инвазиями. Известно, что иммунные ответ на паразитарную инвазию определен Th2-клетками. Однако, несмотря на акти-

вацию Th2 звена, иммунитет у данной категории детей не возрастает, а напротив, снижается частота аллергии [10–12].

Schrivener и соавт. [12] сравнивали частоту аллергических астматических симптомов, связанных с клещевой сенсибилизацией в популяции городских и сельских жителей Эфиопии. Показано, что, несмотря на наличие кожной гиперчувствительности к Dermatophagoides pteronyssinus, жители сельской местности развивали астматические симптомы значительно реже. Авторы связывают это с тем, что у них был обнаружен высокий уровень паразитов. Предполагается, что протективный эффект в плане развития астматических проявлений обусловлен противоспалительным цитокином ИЛ-10 [10–13].

Дальнейшие исследования показали, что индукция выработки ИЛ-10 у мышей при глистной инвазии способствовала снижению аллергического ответа на пищевые антигены [14]. Определенная роль в продукции ИЛ-10 принадлежит также регуляторным Т-клеткам – Tr1 [12, 13].

Все эти исследования говорят о том, что такие субпопуляции Т-клеток, как Th3 и Tr1 играют важную роль как в развитии аллергии, так и в формировании толерантности к энтерально поступающим антигенам [15, 16]. Также показано, что в равной степени комменсальная и патогенная флора активизирует не только Th1- и Th2-ответ, но и регуляторные Tr1-клетки, что вносит некоторые неясности в стройную гипотезу Th1 / Th2 дисбаланса, лежащую в основе гигиенической теории аллергии.

Современные исследования, посвященные взаимосвязям субпопуляций Т-клеток, позволяют расширить представления о механизмах формирования иммунологической толерантности или, напротив, аллергической реактивности,

В последние годы значительный интерес исследователей сфокусировался на **T-регуляторных клетках (Tr)**, которые, по-видимому, контролируют развитие аутоиммунных заболеваний, реакции отторжения транспланта и играют центральную роль в контроле проявлений астмы и аллергии. Эксперименты на животных показали, что Tr-клетки способны экспрессировать как ответ Th1, так и Th2 *in vitro*. *In vivo* аллерген-специфичные линии Tr-клеток защищали мышей от развития аллерген-индукционного ответа Th2, при этом в процесс вовлекаются Tr-клетки, секрецирующие ИЛ-10. Роль регуляторных клеток в развитии атопии подтверждается также рядом клинических исследований [17–20].

К настоящему времени охарактеризованы различные типы Tr-клеток, которые супрессируют иммунный ответ через клеточно-клеточные взаимодействия и/или продукцию супрессорных цитокинов. Так, антиген-специфичные Т-клетки класса Tr1 супрессировали пролиферацию CD4⁺ Т-клеток в ответ на стимуляцию антигеном [21].

Индукция Th3-клеток (Th2-подобных клеток) посредством перорального введения низких доз антигена была продемонстрирована в экспериментальной модели [8, 22]. Данные клетки, изолированные из мезентериальных лимфатических узлов и активированные антигеном, секретировали высокие уровни ТФР-β и некоторые количества ИЛ-4 и ИЛ-10.

В периоде внутриутробного развития эмбриональные лимфоциты человека смещаются в сторону Th2-профиля вследствие прайминга плацентарными цитокинами и гормонами и, возможно, путем трансплацентарной экспозиции аллергенов [23, 24]. Такой сдвиг в сторону Th-2 системы «мать–плод» во время беременности обеспечивает благоприятное течение внутриутробного периода.

Считается, что Т-клеточный ответ на аллергены возникает внутриутробно, при этом формирование специфических Т-клеток под действием ингаляционных и пищевых аллергенов предполагается на сроке более 22 нед. У человеческого эмбриона имеются В-клетки, готовые подвергся переключению на продукцию IgE с самых ранних стадий онтогенеза и способные к образованию эндогенного IgE после 20 нед внутриутробного развития. В постнатальном периоде при нормальном развитии событий – у детей, не склонных к атопии – происходит переключение с Th2-профиля на Th1, возможно, вследствие стимуляции иммунной системы различными компонентами инфекционных агентов, включая эндотоксины.

Под действием инфекционных агентов индуцируется Th1-тип иммунного ответа с доминированием ИФН-γ, который подавляет Th2-тип иммунного ответа *in vivo* и *in vitro*. Влияние экспозиции эндотоксина на дальнейшее развитие событий зависит от таких факторов, как время экспозиции эндотоксина, природа, доза и частота стимула и генетические вариации индивидуальной способности к ответу на эндотоксины, например, с помощью соответствующих поверхностных структур, таких как TLR (Toll-like receptors). В связи с этим также предполагается, что лица с атопией атопики проявляют недостаточную способность к ответу на эндотоксины, связанную с некоторыми функциональными особенностями своих TLR, что может быть результатом, например, изменений в соответствующей генной области. Предполагается, что такие факторы, как применение антибиотиков, сокращение размера семьи и рост санитарно-гигиенических мероприятий, ведущие к снижению бактериальной стимуляции, поддерживают развитие преобладания Th2-типа в иммунной системе [24–26].

Чрезвычайно важным для понимания механизмов развития атопии является вопрос, как осуществляется программирование двух противоположных типов аллерген-специфических клеток, производящих цитокины Th1 и Th2 в незрелой иммунной

системе. Анализ результатов многочисленных работ в данной области, в том числе экспериментальных исследований, показывает, что такое программирование начинается в раннем детском возрасте, когда незрелая иммунная система впервые контактирует с аллергенами окружающей среды [27]. Вопрос, когда это происходит впервые и когда сопровождается первым иммунологически продуктивным ответом, остается открытым.

Показано, что в пуповинной крови есть Т-клетки, которые участвуют в процессах пролиферации и/или вырабатывают цитокины при культивировании вместе с ингаляционными или пищевыми аллергенами [27, 28]. Более того, в исследованиях с клонированием этих аллерген-реактивных Т-клеток пуповины и последующим типированием клонов по ДНК было подтверждено, что источником реактивных клеток является плод [29]. Предполагают, что существует возможность трансплацентарного переноса аллергенов окружающей среды, которые могут обучать или запускать иммунную систему плода. Это было подтверждено в эксперименте *in vitro* путем демонстрации трансплацентарного прохождения аллергена в перфузионных моделях [30]. С другой стороны, существуют данные, демонстрирующие отсутствие корреляционных зависимостей контакта матери с бытовыми аллергенами и последующей сенсибилизацией ребенка [31]. В связи с этим предполагается, что реагирующие в этих культурах клетки не созревают до обычных CD45RO⁺Th-клеток памяти, а их роль может быть ограничена острой кратковременной реакцией выброса цитокинов при контакте с аллергеном в раннем детском возрасте. Тем не менее имеются доказательства того, что независимо от истинной природы этих ранних иммунных ответов, на протяжении первых 2 лет жизни происходят основные изменения, определяющие характер реакций Т-клеточной реакции на аллергены окружающей среды. В это время устанавливаются типы иммунных реакций, которые, по-видимому, определяют характер клинических фенотипов. Формируется определенный тип продукции цитокинов, либо по типу Th2-реакций, при которых впоследствии развивается клиническая симптоматика, либо в противоположный по характеру Th1-тип реакции – без клинической симптоматики [32].

Чрезвычайно интересным является тот факт, что формирование иммунного ответа в отношении пищевых и ингаляционных аллергенов имеет различный характер. Так, в отличие от ингаляционных аллергенов, выраженность реакций на пищевые аллергены (в частности, на яичный альбумин (OA)), как на уровне общей пролиферации в ответ на OA, так и в отношении распознавания Т-клетками большего числа OA-специфических эпитопов, обычно в грудном возрасте быстро снижается [33].

Этот тип регуляции реакций на пищевые аллергены обеспечивается так называемым механизмом «зоны высокой толерантности», предположительно реализуемым посредством сочетания деления клонов Т-клеток и индукцией анергии Т-клеток.

В противоположность этому развитие иммунного ответа на ингаляционные антигены протекает по так называемому типу «зоны низкой толерантности». К концу дошкольного периода результаты формирования этих двух классов регуляторных процессов становятся уже определенными, что и было установлено в результате исследований больших когорт новорожденных. В одно из таких исследований, проведенное в Австралии, было включено более 2500 детей. К 6 годам повышенная чувствительность на пищевые аллергены (по данным кожных прик-тестов) отмечалась лишь у небольшой группы детей. Положительные результаты прик-тестов к ингаляционным аллергенам были обнаружены почти у 40% детей [34]. При более подробном исследовании реакции на клещ домашней пыли было показано, что характер продукции цитокинов у этих детей носит классический смешанный тип: Th1/Th2 тип, характерный для большинства взрослых с атопией – снижение активности Th1 иммунитета, низкий уровень продукции ИФН- γ и ИЛ-10. У шестилетних пациентов выявлена обратная корреляционная зависимость между размером волдыря при постановке кожных проб с аллергеном клеша домашней пыли и ИЛ-10 [35]. По-видимому, формированием такой длительной сенсибилизации к аллергенам, в данном случае – ингаляционным, обусловлена склонность к развитию Th2-поляризованных иммунных реакций к этим агентам в грудном и/или раннем детском возрасте [36, 37]. Более того, риск развития этой формы аллерген-специфической памяти Т-клеток наиболее высок среди детей с наличием в семейном анамнезе случаев атопии, что указывает на значение генетической основы такого развития событий [34].

Действительно, показано, что при наличии предрасположенности к аллергии специфическое антенатальное состояние иммунитета, характеризующееся превалированием Th2-ответа, переходит в постнатальный период развития, и более того, оно еще более усиливается у детей с аллергией на пищевые аллергены. При этом отмечается уменьшенная способность к реализации реакции с продукцией цитокинов CD4 $^{+}$ Тh-клетками как Th1, так и Th2 фенотипа, причем дефицит наиболее выражен для Th1 цитокинов, что приводит к смещению их иммунной реакции [38]. Стоит также заметить, что такое смещение иммунных реакций среди детей с пищевой аллергией часто затрагивает и начальные этапы иммунных реакций на антигены вакцин [32, 37, 39–41]. Механизм постнатального персистирования сдвига в сторону Th2 пока остается до конца неясным и, вероятно, связан с вовлечением цело-

го ряда факторов. Во-первых, на уровне системы Т-клеток в период новорожденности есть механизм негативной регуляции гена, ответственного за синтез ИФН- γ [42]. Другой важный механизм может быть связан с вовлечением активности клеток врожденного иммунитета в особенности основных антиген-презентирующих клеток, представленных дендритными клетками. В моделях на животных и у человека показано, что в раннем постнатальном периоде возможность дендритных клеток экспрессировать сигналы Th1-стимулирующих цитокинов снижена, что, по-видимому, вносит свой вклад в повышение роли Th2 иммунитета в этом возрасте.

Третье направление, которое будет далее предметом более подробного рассмотрения, относится к способности некоторых пациентов реагировать на сигналы окружающей среды, отвечающие за стимуляцию постнатального созревания функции Th1, в частности, на воздействие микробных антигенов.

Таким образом, гигиеническая гипотеза в своей современной интерпретации сохраняет актуальность. В то время как истинные механизмы, определяющие защищающий эффект микробных агентов в отношении предрасположенности к развитию аллергии, еще необходимо выяснить, представляется весьма вероятным, что главным образом они реализуются в процессе становления иммунной системы. Первичной мишенью микробной стимуляции являются клетки, реализующие функции врожденного иммунитета, такие как дендритные клетки, для функционального созревания которых необходимы индуктивные сигналы через специфические рецепторы CD-14 и TLR-2. Эти клетки, в свою очередь, приобретают способность «инструктировать» незрелую систему Т-клеток для эффективного образования специфических эффекторных Th-клеток памяти CD4 $^{+}$ и CD8 $^{+}$, которые необходимы для реализации защитных иммунных реакций. Секретирующие цитокины регуляторных клеток поддерживают необходимый баланс между Т-клетками из различных субпопуляций, определяя, таким образом, иммунный гомеостаз в целом.

Роль микрофлоры желудочно-кишечного тракта в установлении баланса Th1 и Th2 и механизмах формирования толерантности к орально поступающим антигенам в настоящее время является предметом детального изучения.

Если гигиеническая гипотеза предполагает, что ведущая роль в поддержании «неаллергической» направленности иммунитета принадлежит инфекциям, то, согласно альтернативному предположению, главная роль микробной стимуляции для выработки резистентности к аллергической сенсибилизации принадлежит не патогенной, а естественной микробной флоре желудочно-кишечного тракта [43].

Согласно современным представлениям, нормальная кишечная flora играет значительно

большую роль как для созревания энтероцитов, так и для формирования направленности иммунного ответа, чем это предполагалось ранее. Кишечная микрофлора оказывает заметное влияние также на иммунную толерантность слизистой и на развитие системных иммунных реакций.

В начатых еще в 1960–1980 гг в исследований иммунного ответа животных, содержащихся в стерильных условиях, было установлено, что постнатальный контакт с микробными стимулами, особенно эубиотиками желудочно-кишечного тракта, необходим для запуска финальных стадий созревания иммунной компетентности, свойственной взрослым. Из экспериментальных исследований стало понятным, что экспрессия иммунитета и развитие толерантности к антигенам в раннем постнатальном периоде представляют собой последние стадии созревания с преимущественной поддержкой функции Th1-иммунных реакций для достижения необходимой устойчивости баланса Th1/Th2 [44].

В развитии иммунных реакций кишечника ключевое значение имеет эволюционно более древний врожденный иммунитет. Появляется все больше данных, подтверждающих, что обусловленные врожденным иммунитетом провоспалительные реакции в ответ на микроорганизмы, реализуемые, в первую очередь дендритными клетками, могут определять направление поляризации и последующих адаптивных иммунных реакций. Для развития оральной толерантности, по-видимому, необходима специфическая реакция со стороны нормальной кишечной микрофлоры, которая посредством макрофагов и дендритных клеток, создает условия для появления популяции регулирующих лимфоцитов.

Основную роль в определении поляризации реакции Т-клеток после презентации антигена играют дендритные клетки (ДК) [45]. Реакции Th1- или Th2-типа запускаются дендритными клетками из разных популяций. Дендритные клетки миелоидного ростка (ДК1), как правило, ориентируют реакции Т-клеток в направлении Th1 путем выброса ВК-12, в то время как клетки плазматического происхождения (ДК2) запускают Th2 реакции путем продукции ВК-10 [45]. Вместе с тем такая дихотомия не носит абсолютный характер, и контакт клеток этих типов с бактериями, по-видимому, имеет функциональное значение для окончательного профильтрования этих реакций. Белки, полученные из гельминтов, приводят к профилированию миелоидных клеток в ДК2, вызывая реакцию Th2-типа путем стимуляции продукции лиганда OX-40, тогда как контакт с бактериями и вирусами приводит к формированию стабильного фенотипа ДК1-клеток [46]. Ранний контакт с инфекционными агентами может иметь особенное значение для формирования и длительного поддержания приобретенного иммунитета.

Значительные успехи в понимании вклада врожденного иммунитета в развитие адаптивных реакций достигнуты в результате открытия семейства Toll-подобных рецепторов (TLR), каждый из которых распознает определенные компоненты бактерий, грибов или вирусов [47]. При этом показана экспрессия TLR-1, -2, -4, -5 и -8 у моноцитов (пре-ДК1 клетки), TLR-7 и 9 у плазматических предшественников ДК (пре-ДК2), TLR-1, -2 и -3 на незрелых ДК [48].

Благодаря такой специфичности, бактерии с пептидогликанами на поверхности, распознаваемые TLR-2, могут активировать именно пре-ДК1 и незрелые дендритные клетки, а не пре-ДК2. В противоположность этому, клетки, экспрессирующие LPS, распознаваемые TLR-4, могли бы активировать только ДК1, тогда как пре-ДК2 реагируют только на олигодезоксинуклеотиды бактериальной ДНК, содержащие деметилированные CpG фрагменты. Незрелые ДК реагируют или на пептидогликаны или на вирусную РНК [48]. Плазматарные ДК после начальной продукции интерферонов могут развиваться по ДК1 фенотипу или по ДК2 фенотипу. Способность дендритных клеток продуцировать ИЛ-12 является важным регулятором защитных Th1 реакций. При этом показано, что способность к продукции ИЛ-12 снижена у младенцев и детей раннего возраста.

Контроль реактивности Т-клеток в нормальном кишечнике

Несмотря на то что Th1- и Th2-клетки могут реципрокным образом подавлять активность друг друга, основная роль в установлении баланса между Th1- и Th2-клетками, а также в формировании толерантности отводится в настоящее время регуляторным клеткам, поскольку именно они определяют, будут или нет активироваться Т-клетки в процессе развития реакции в ответ на антиген [49, 50]. Большое значение в регуляторных реакциях имеют цитокины, в частности ТФР-β и ИЛ-10, которые подавляют активацию окружающих клеток путем «мониторинга толерантности» [49, 51, 52]. Также показано, что в индукции системной толерантности большое значение принадлежит контакту клеточных поверхностей, причем важную роль в этом играют регуляторные клетки популяции CD4⁺CD25⁺Tr [50]. Имеются также доказательства того, что клетки CD8⁺, так же, как и клетки CD4⁺, могут опосредовать системную толерантность, а в процессе контакта с энтероцитами образовывается регуляторная популяция CD8⁺CD28⁺ [53, 54].

Клетки популяции CD4⁺CD25⁺Tr подавляют реакции на пищевые антигены, однако в раннем возрасте могут возникать трудности при вовлечении этих клеток в качестве регуляторов иммунного ответа слизистой, поскольку большое число Т-клеток в раннем грудном возрасте не имеют определенного

фенотипа. Возможно, что эти клетки относятся к определенному ростку с большой продолжительностью жизни. Показано, что клетки CD8⁺ могут играть центральную роль в индукции иммунной толерантности у новорожденных в отличие от более старшего возраста, когда клетки основной популяции соответствуют CD4⁺. Имеются также доказательства того, что у детей, сенсибилизованных к пищевым аллергенам, в слизистой слишком мало лимфоцитов, продуцирующих ТФР-β [55–57].

Основные иммунологические механизмы, вовлекаемые в индукцию оральной толерантности, до настоящего времени не полностью объяснены, но недавние исследования позволяют предположить, что центральную роль играют антиген-презентирующие клетки, подобные эпителиальным клеткам кишечника и ДК. ДК, находящиеся в собственной пластинке (lamina propria) и Пейеровых бляшках, экспрессируют ИЛ-10 и ИЛ-4, которые способствуют формированию толерантности. Как показывают исследования, у мышей индукция толерантности может осуществляться различными механизмами: описано развитие толерантности при повторном введение низких доз антигенов белка, которая исходит из активации Тг-клеток, секрецирующих тормозящие цитокины (т. е. ТФР-β или ИЛ-10), или при однократном введении высоких доз антигенов белка, которая включает как клональную анергию, так и клональную делацию [52].

Считается, что анатомически структурированные лимфоидные образования, такие как Пейеровы бляшки, имеют важное значение в созревании экстратимусных лимфоцитов [18, 19]. Иммунная система слизистой, в отличие от циркулирующих иммунных клеток, содержит большое количество плазматических клеток, продуцирующих IgA. Пейеровы бляшки имеют особое значение для инициации иммунных реакций кишечника. Их предшественники обнаруживаются в кишечнике плода на 16-й нед антенатального развития; их дифференцировка на отдельные Т- и В-клетки происходит до 19-й нед [8]. Они хорошо развиты на 5-м мес внутриутробной жизни и продолжают развиваться и после рождения. В дополнение к Пейеровым бляшкам в образцах биоптатов тонкой кишки у детей грудного возраста часто обнаруживаются изолированные лимфоидные фолликулы, а гипертрофия этих фолликулов характерна для аллергической сенсибилизации [22].

Собственная пластинка кишечника младенца при рождении содержит небольшое количество лимфоидных клеток, в процессе созревания они появляются после Пейеровых бляшек или интраэпителиальных лимфоцитов [58, 59].

Контакты с бактериальными и пищевыми антигенами в грудном возрасте могут иметь особое значение для развития толерантности или сенсибилизации. Есть убедительные доказательства того, что патоло-

гически измененные реакции со стороны структурированной лимфоидной ткани слизистой в раннем возрасте могут на протяжении длительного времени оставаться клинически скрытыми до проявления иммунопатологических симптомов. Аналогичным образом при ранней сенсибилизации к ингаляционным антигенам клиническая симптоматика может появиться намного позже [51, 60]. То есть основа иммунопатологических заболеваний может быть заложена в первые дни и месяцы жизни ребенка.

Адекватный иммунологический ответ на пищевые антигены обеспечивается за счет особого состояния **пищевой (оральной) толерантности** – иммунологической ареактивности к антигену, с которым организм ранее контактировал при энтеральном пути введения. Оральная толерантность вырабатывается в результате комплексной иммунорегуляторной стратегии, используемой кишечником и ассоциированными с ним лимфоидными тканями для того, чтобы сделать периферическую иммунную систему нереактивной к непатогенным белкам, в первую очередь таким, как пища. Таким образом, это необходимый механизм, который поддерживает состояние активной ареактивности на аутоантигены и антигены пищи, тогда как продолжают реализовываться иммунные реакции против патогенов [61].

Индукция оральной толерантности различными антигенами регистрировалась в экспериментальных работах на животных. Результаты опытов на морских свинках впервые приведены в работе, в которой продемонстрировано, что анафилактическая реакция к овальбумину (OA) могла тормозиться предварительным пероральным введением OA этим животным [62]. Было показано, что индукция оральной толерантности зависит от возраста хозяина [51], дозы введенного антигена, природы антигена и микробного окружения. Считается, что ответственными за индукцию аллергии или оральной толерантности являются бактерии-комменсалы, которые колонизируют желудочно-кишечный тракт (ЖКТ). По-видимому, микробная стимуляция обеспечивает контррегуляторные сигналы, необходимые, чтобы преодолеть превалирование Th2-клеток лимфоидной ткани слизистой и предотвратить аллергическое заболевание [60].

Доза поступающего аллергена является фактором, влияющим на формирование толерантности, поскольку высокие дозы вызывают анергию Т-клеток, тогда как низкие дозы индуцируют продукцию ТФР-β присутствующими в Пейеровых бляшках клонами Т-клеток [59, 63]. Экспериментальные исследования показали, что всасывание антигена в очень больших дозах может вызывать в Пейеровых бляшках апоптоз Т-клеток [64].

В ряде исследований показано влияние возраста, в котором происходит воздействие антигена, на формирование оральной толерантности. В ис-

следованиях на мышах при введении малых доз у новорожденных грызунов довольно трудно добиться развития оральной толерантности, причем в отличие от животных более старшего возраста, в этих случаях может развиваться парадоксальная сенсибилизация [65]. У новорожденных кроликов пероральное введение антигена индуцировало толерантность или примирение, в зависимости от возраста, в котором антиген был введен впервые [66]. Начиная с 7-дневного возраста, пероральное введение антигена приводило к индукции оральной толерантности. Было показано, что у крыс пероральное введение антигена в 14-дневном возрасте вело к значительному снижению регуляции IgE-ответа на последующую провокацию с антигеном.

В недавних экспериментальных работах показано, что CD4⁺ CD25⁺ Т-клетки способны играть важную роль в индукции оральной толерантности [67–70]. Так, получены экспериментальные данные на животных [69], у которых истощали CD4⁺ CD25⁺ клетки, после чего индукция какой-либо толерантности была невозможна. Большой интерес представляют также результаты исследования, показавшие, что младенцы, сенсибилизованные к белкам коровьего молока, показывали повышение регуляции CD4⁺ CD25⁺ клеток к возрасту 2–3 лет [71]. Исследователи выявили повышение количества регуляторных Т-клеток у детей, которые «пересли» свою аллергию к коровьему молоку.

Вопрос, отличаются ли механизмы формирования пищевой толерантности от других форм периферической иммунной толерантности, пока остается неопределенным. Считается, что толерантность к кишечной флоре может быть выработана таким же способом, как и толерантность к пищевым антигенам [59, 63, 65, 72].

На животных было показано, что активная индукция толерантности к пищевым антигенам до рождения, посредством питания беременной матери, является эффективным средством первоначального предотвращения возникновения аллергии у плода. Некоторые авторы [66, 73, 74] продемонстрировали индукцию толерантности к соевому белку, бычьему сывороточному альбумину и белкам коровьего молока у плодов кроликов и морских свинок, кормление которых проводилось данными протеинами, соответственно. В недавних экспериментах супрессия IgE у кроликов показала, что оральная толерантность к белкам коровьего молока может передаваться от матери к плоду, и этот феномен можно также воспроизвести, используя гидролизаты белков коровьего молока [75].

Влияние факторов питания на развитие пищевой толерантности у детей широко обсуждается и подробно рассмотрено в нашем обзоре литературы [76]. Хорошо известна защитная роль грудного молока, которое содержит нутриенты (олигосахариды,

нуклеотиды, антиоксиданты, длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты, витамины С, А, β-каротин, цинк и др.), играющие важную роль в защите ЖКТ, активизации местного иммунного ответа, стимуляции роста бифидо- и лактобактерий [77]. Небольшие количества пищевых аллергенов в грудном молоке, разнообразие которых зависит от диеты матери, могут иметь важное значение в индукции оральной толерантности у младенцев. В связи с этим эффективность элиминационных диет в качестве профилактических мер в плане снижения риска аллергии в настоящее время продолжает дискутироваться. С одной стороны, экспериментальные данные, говорящие о том, что для индукции толерантности к пищевым белкам необходим контакт иммунной системы ребенка с пищевыми антигенами [66, 74, 75], ставят под сомнение правомерность элиминационных диет во время беременности.

В ряде экспериментальных исследований Fritsche, Pahud и коллег показано, что цельный белок коровьего молока в норме индуцирует толерантность, но при наличии предрасположенности к аллергии он также легко может привести к сенсибилизации организма [78]. Предполагается, что замена питания на основе цельного белка коровьего молока на смесь с высокогидролизованным белком не вызывает сенсибилизации, но также не способствует формированию толерантности к данному белку. Поэтому для профилактики аллергических состояний у детей в настоящее время разработаны смеси на основе частично гидролизованного молочного белка. Глубина гидролиза белка в продуктах данной группы достаточна, чтобы не вызвать сенсибилизации у здоровых детей, и в то же время они содержат достаточно олигопептидов для того, чтобы индуцировать пищевую толерантность. Примером продукта с умеренно гидролизованным белком и наличием клинических доказательств является смесь НАН ГА1,2 (Нестле). Изучение профилактического действия НАН ГА проводилось в 20 клинических исследованиях. Мета-анализ 15 наиболее важных работ, в которых участвовали новорожденные из семей с высоким риском развития аллергии, показал 50% снижение частоты развития аллергии у детей, получавших ЧС не только на первом году жизни, но и до возраста 3–5 лет [79, 80].

В современных клинических исследованиях для профилактики пищевой аллергии используется комплексный подход: назначение элиминационных диет материам в течение беременности и в период лактации в сочетании с грудным вскармливанием, упорядоченным введением прикорма, использованием смесей на основе гидролизата молочного белка и гипоаллергенными условиями быта. Показано, что выполнение данных рекомендаций [81–84] способствует максимальному предотвращению аллергии у младенцев.

Изучается влияние желудочно-кишечной микрофлоры на индукцию и сохранение оральной толерантности к пищевым антигенам. Так, показано, что пероральное введение ОА сопровождалось индукцией оральной толерантности у стерильных мышей, но сохранение толерантности было короче, чем у мышей с кишечной микрофлорой [85].

Вклад микрофлоры в развитие оральной толерантности зависит от используемого агента [86]. Хорошо известно, что бактериальные эндотоксины (например, холерный токсин) способны препятствовать формированию оральной толерантности к одновременно введенному пищевому антигену. В недавнем исследовании отмечено предотвращение развития оральной толерантности к ОА у мышей, инфицированных *Helicobacter felis* [87].

Большое значение для поддержания толерантности имеет **сохранение целостности эпителиального покрова**. Поступающий антиген поглощается энтероцитами, подвергается воздействию эндосом и презентируется в иммунной системе, как фактор, который генетически не ориентирован на то, чтобы вызывать сенсибилизацию [45, 85, 86]. Повышение проницаемости кишечного барьера приводит к массивному поступлению антигенов и к несостоятельности этих механизмов, что способствует развитию иммунной реакции. Созревание эпителия тонкой кишки модулируется многими факторами, включая компоненты грудного молока, которые могут влиять или сами, или путем вызванных ими изменений микрофлоры.

Окончательная стадия образования регуляторных лимфоцитов, по-видимому, связана с участием Th1 реакций, с фактором транскрипции NF-кВ, а также с реакциями недифференцированных иммунных клеток. И для пищевых антигенов, и для кишечной флоры подавление нормальных первичных реакций на естественную флору нарушает установление и поддержание иммунной толерантности [88].

Первоначальная колонизация кишечника может определять развитие иммунных реакций в более позднем возрасте. Начиная с периода новорожденности и в течение первых месяцев и лет жизни желудочно-кишечный тракт новорожденных колонизируется микроорганизмами, и через некоторое время формируется биоценоз взрослого типа, включающий около 500 видов различных микроорганизмов, общим количеством приблизительно 10^{14} , что в 10 раз больше, чем количество эукариотических клеток во взрослом организме [89].

Первоначальная колонизация кишечника является для иммунной системы событием, которое можно расценивать как одно из ключевых событий за всю жизнь. У ксенобионтных животных имеются нарушения в структуре крипт, восполнении эпителия и количестве внутриэпителиальных лимфоцитов [90–93]. Введение естественной флоры индуцирует

отчетливые иммунологические реакции, включающие расширение популяции внутриэпителиальных лимфоцитов с увеличением пролиферации клеток в криптах [94, 95]. В ворсинках кишki развивается выраженная реакция с индукцией многочисленных генов в энтероцитах и даже стимуляцией ангиогенеза [96]. Одним из важных изменений является индукция фукозилтрансфераз, которые вызывают изменения в процессах гликозилирования гликокаликса [97]. В то время как микрогетерогенность этих изменений в гликокаликсе остается неизученной, весьма вероятно, что именно эти изменения дают определенные преимущества для бактерий, первоначально заселяющих кишечник. Так, показано, что введение пробиотиков детям раннего возраста приводит к стабильной и устойчивой колонизации, тогда как их введение детям в возрасте старше одного года позволяет добиться только их временной экспрессии [98]. Изменения в первоначальной колонизации могут, таким образом, иметь последствия в весьма отдаленном периоде.

В наши дни в экономически развитом мире отмечаются изменения процесса первичной колонизации — имеет место снижение колонизации слизистой такими преобладавшими ранее видами, как *Bifidobacteria*, и нарушение взаимообмена микробами между матерью и плодом. У новорожденных, извлеченных путем операции кесарева сечения, часто отмечают стойкие изменения кишечной флоры, и у них выше частота развития аллергических заболеваний. Также неблагоприятным фактором для процесса первичной колонизации является неадекватное использование антибиотиков широкого спектра действия у новорожденных, что в наши дни, к сожалению, становится обычным явлением, а о длительных последствиях этого явления пока ничего неизвестно. Совершенно очевидно, что эти изменения могут играть определенную роль в нарушении процессов формирования толерантности слизистой [99, 100]. Напротив, естественное вскармливание дает важные преимущества для младенца, в число которых входит стимуляция иммунной системы и обеспечение нормальной кишечной флорой [101].

В настоящее время не подвергается сомнению то, что мать является первичным источником микробной колонизации своего ребенка, а иногда и его инфицирования [102–104]. Принципиальным является давно признанный факт – заселение различными микроорганизмами основных экологических ниш новорожденного ребенка начинается автоматически с момента прохождения его через родовые пути матери. Между тем появилась и другая точка зрения: нормальная микрофлора кишечника у плода формируется во второй половине беременности при транслокации бактерий матери вследствие проницаемости плацентарного барьера для микроорганизмов. В эксперименте исследовались

ткани желудочно-кишечного тракта и брыжеечных лимфатических узлов 6 плодов поросят и 2 плодов человека (22-недельного и 24-недельного сроков развития). У плодов поросят из просвета толстой кишки были выделены единичные бифидобактерии, в значительно больших количествах они высевались из тканей тонкой кишки и лимфатических узлов. Ткани и полости ЖКТ 22-недельного плода человека оказались стерильными. В то же время у 24-недельного плода единичные кишечные палочки и бифидобактерии были обнаружены в желудке, тонкой и толстой кишках [104].

Независимо от времени первичного заселения кишечника ребенка иммунная система и биоценоз матери и младенца по сути представляет собой взаимосвязанную систему. Огромный интерес представляют исследования, посвященные роли матери в развитии иммунитета у новорожденного ребенка [102, 105, 106]. Предполагается, что постоянно происходящая в организме беременной женщины гибель микроорганизмов, являющихся представителями ее биоценоза, сопровождается высвобождением соответствующих антигенов, часть их сорбируется и с плацентарным кровотоком попадает в вилочковую железу плода, где образуются предшественники Т-супрессорных клеток. После рождения «обученные» клетки мигрируют из тимуса в лимфоидную ткань кишечника, где происходит их окончательная дифференцировка в Т-супрессорные клетки, обеспечивающие толерантность к тем микроорганизмам, которые во внутриутробном периоде индуцировали у плода формирование клеток-предшественников – к микрофлоре матери [107]. По-видимому, неблагоприятные факторы, действующие в период сразу после рождения и нарушающие нормальное течение процесса первичной колонизации – позднее прикладывание к груди, раздельное пребывание ребенка и матери, назначение антибиотиков матери и ребенку, приводят к несоответствию иммунных сигналов от лимфоцитов материнского молока, специфичных для собственной флоры матери и попавших не от матери больничных штаммов, колонизировавших кишечник ребенка. Данное несоответствие может иметь важные последствия для становления иммунной системы ребенка.

Так, при исследовании способов содержания младенцев в Великобритании из когорты новорожденных 1970 г было показано, что у детей, которые в первую ночь находились не с матерью, частота развития в последующем атопических заболеваний была намного выше [108].

Для микрофлоры кишечника здоровых детей первого года жизни характерен высокий популяционный уровень (до 95% общего количества микроорганизмов толстой кишки) бифидобактерий. Бифидобактерии обладают высокой антагонистической активностью по отношению к патогенным микроорганизмам,

выделяют в процессе жизнедеятельности большое количество кислых продуктов, лизоцима, спиртов, что препятствует проникновению патогенов в верхние отделы ЖКТ и другие внутренние органы.

Бифидобактерии оказывают выраженное иммуностимулирующее действие на систему местного иммунитета кишечника, некоторые виды (*B. breve*) проявляют адьювантную активность и повышают продукцию антиген-специфических IgA [109]. В норме количество бифидобактерий у детей составляет 10^{10} – 10^{11} КОЕ/г, у взрослых – 10^9 – 10^{10} КОЕ/г. У детей, находящихся на естественном вскармливании, бифидобактерии представлены видами *B. bifidum* (биовар b) и *B. breve*, а у детей, находящихся на искусственном вскармливании, доминирующим видом является *B. longum*. У детей старше одного года бифидобактерии представлены *B. breve*, *B. acloescentis*, *B. longum*, *B. infantis*. У взрослых чаще выделяются виды *B. bifidum* биовара, *B. acloescentis*, *B. longum*.

Считается, что количественный и качественный уровни интестинальных лактобактерий, в большей степени зависят от контроля со стороны иммунной системы организма человека по сравнению с менее иммуногенными бифидобактериями. У здоровых детей, находящихся на грудном вскармливании, лактобактерии обнаруживаются в количестве 10^6 – 10^7 КОЕ/г. При искусственном вскармливании уровень этих микроорганизмов выше – 10^8 КОЕ/г.

Согласно недавним исследованиям, некоторые виды/штаммы рода *Lactobacillus* (*L. casei Shirota*) способны активировать клеточный иммунитет и подавлять продукцию IgE. Полагают, что для реализации данного эффекта необходима стимуляция Th1-направленного ответа, характерного для лиц, не имеющих атопии [110]. Разные виды лактобактерий демонстрируют существенные отличия в способности индуцировать секрецию цитокинов: *L. casei* служит мощным стимулятором продукции ИЛ-6, ИЛ-12, ФНО- α и экспрессирует маркеры созревания, тогда как *L. reuteri* является слабым индуктором ИЛ-12 и подавляет секрецию цитокинов и экспрессию маркеров созревания, вызванную другими видами лактобактерии. Полученные результаты позволяют предположить, что разные виды/штаммы лактобактерий могут оказывать различное действие на функционирование ДК и таким образом осуществлять регуляцию первоначальных этапов иммунного ответа [110].

В последнее время обнаружена тесная связь между интестинальной колонизацией бактероидами и созреванием локальной иммунной системы слизистой оболочки ЖКТ. Установлено, что бактероиды вида *B. fragilis* способны индуцировать развитие гуморального иммунного ответа – колонизация этими бактероидами сопровождалась повышением уровня IgA- и IgM-секретирующих клеток в периферической крови детей раннего возраста. Кроме того, недавно показано, что соматические мутации