

Ипатова М.Г., Осипов Г.А., Хромова С.С. Значение микробного фактора в развитии воспалительных заболеваний кишечника у детей. Четырнадцатая российская гастроэнтерологическая неделя. Москва, 6-8 октября 2008г. Тезисы докладов.

1. Воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), к которым относятся Болезнь Крона (БК) и неспецифический язвенный колит (НЯК), остаются серьезной и нерешенной проблемой в современной детской гастроэнтерологии и колопроктологии. Несмотря на то, что по уровню заболеваемости ВЗК уступают другим гастроэнтерологическим заболеваниям, по тяжести течения, частоте осложнений и летальности они занимают одно из ведущих мест в структуре болезней желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) (И.Л. Халиф, 2006г.).

Клинические проявления и симптомы ВЗК у детей зависят от активности и длительности воспалительного процесса, уровня локализации в ЖКТ, глубины поражения кишки, а также от наличия экстраинтестинальных проявлений и осложнений (стриктуры или свищи).

2. В последнее десятилетие был достигнут значимый прогресс в изучении генетических, иммунологических основ, а также влияния факторов окружающей среды в патогенезе ВЗК. Генетическая предрасположенность и факторы внешней среды могут проявляться в виде аномалии барьерной функции кишки со снижением антигенной толерантности. Совокупность этих факторов приводит к нарушению эпителиального барьера в кишечнике с формированием и поддержанием хронического воспаления в пищеварительном тракте.

И хотя длительный поиск не выявил специфического инфекционного агента, уже накоплено достаточно доказательств о роли индигенной микрофлоры и ее продуктов в патогенезе ВЗК. Действительно, многочисленные исследования последних лет

свидетельствуют о значимости дисрегуляции иммунного ответа к эндогенным бактериям желудочно-кишечного тракта. Вопрос влияния индигенной микрофлоры на поддержание хронического воспаления в кишечнике при ВЗК изучен недостаточно, особенно в педиатрии. Работы по изучению иммунореактивности к индигенной микрофлоре у детей немногочисленны. Следовательно, изучение этих вопросов важно не только для понимания патогенеза ВЗК, но и для оценки активности воспаления и решения о дальнейшей тактике терапии при данной патологии.

3. На основании многочисленных исследований, свидетельствующих о важной роли дисрегуляции иммунного ответа к индигенной микрофлоре желудочно-кишечного тракта, а также нарушении барьерной функции кишки, мы решили детектировать компоненты микробных клеток в крови, а также изучить иммунную реактивность к лактобациллам и бифидобактериям у детей с болезнью Крона и неспецифическим язвенным колитом.

4 Дизайн исследования

Нами было обследовано 40 детей в возрасте от 4 лет до 17 лет 10 мес.

Средний возраст обследованных детей с ВЗК составлял $12,2 \pm 3,97$ лет. Все исследуемые группы были репрезентативны и сопоставимы по возрасту и полу.

I группа (n-20) – Неспецифический язвенный колит

II группа (n-14) – Болезнь Крона

III группа (n-16) – условно здоровые дети

Этапы исследования

I этап- анализ спектра микроорганизмов в крови и биоптатах слизистой оболочки толстой кишки методом ГХ-МС

II этап- оценка иммунологической реактивности посредством ИФА с определением антител класса IgG к лактобациллам и бифидобактериям в сыворотке крови

5. На сегодняшний день данные о кишечной микрофлоре у пациентов ВЗК неоднозначны. Это обусловлено тем, что традиционные методы выделения микроорганизмов в культуре дают неполную картину состава микрофлоры кишечника вследствие того, что одни виды бактерий, обитающих в ЖКТ, лучше поддаются культивированию, чем другие. В результате искажается состав кишечной микрофлоры, что приводит к недооценке роли отдельных микроорганизмов и целых бактериальных групп в развитии здоровых детей и при патологических процессах. Поэтому в нашем исследовании мы использовали метод масс-спектрометрии с хроматографией (ГХ-МС). Суть метода заключается в определении микроколичеств органических веществ в сложных субстратах. Он основан на измерении концентрации микробных жирных кислот, альдегидов и стеролов, что позволяет вычислить состав микробиоты, т.к. содержание ЖК в клетках микробов данного вида одинаково и специфично. Концентрация ЖК пропорциональна численности данного вида микроорганизмов

6. Основной фон микробных маркеров в крови образует преобладающая пристеночная микробиота кишечника. Существует гомеостаз микробных маркеров в крови в норме. Отклонения от него определяют характер воспаления в органах и на слизистых оболочках или изменение состава микробиоты кишечника

7. При исследовании микробиоты кишечника методом масс-спектрометрии нами было выявлено многократное увеличение основных представителей микрофлоры по сравнению с контрольной группой: клостридий в 15 - 20 раз, эубактерий до 40 раз, бифидобактерий в 30-40 раз, лактобацилл – в сотни раз, пропионобактерии в среднем в 20 раз, а также энтерококков, фузобактерий, родококков, стафилококков и других.

8. На данном слайде показано, что по сравнению с контрольной группой отмечается изменение суммарной численности микроорганизмов в сторону увеличения.

9. При увеличении численности колонизации в толстой кишке у данных пациентов выявляется дефицит колонизации в тощей кишке таких представителей, как лакто-, бифидо-, пропионо- и зубактерий.

10. При изучении иммунореактивности было выявлено двукратное увеличение антител к бифидобактериям и трехкратное к лактобациллам по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, в нашем исследовании также было показано, что у детей с ВЗК отмечается образование антител к представителям нормальной микрофлоры - лактобациллам и бифидобактериям. Высокий уровень IgG-антител к лактобациллам и бифидобактериям более характерен для детей с НЯК. Повышенный уровень IgG-антител к лакто- и бифидобактериям чаще встречается при НЯК в активный период, при распространенных формах (панколит), у лиц с высокой клинической и эндоскопической активностью.

Таким образом, результаты нашего исследования показали высокое значение пристеночной микрофлоры в развитии и течении ВЗК у детей и их высокую иммунологическую роль в персистенции воспалительного процесса в стенке кишки

11. Выводы

- У детей при ВЗК отмечен избыточный рост большинства родов и видов микроорганизмов толстой кишки
- Наибольшее увеличение численности выявлено для клостридий, зубактерий, стрептококков, пропионобактерий, лактобацилл и бифидобактерий
- Низкий уровень метаболитов лактобацилл, бифидобактерий, зубактерий, пропионобактерий в крови указывают на дефицит колонизации тощей кишки
- Дети с ВЗК имеют повышенный уровень АТ к представителям индигенной микрофлоры, обладающие маловыраженной иммуногенностью