

Zaznělo na IX. kongrese českých a slovenských dětských gastroenterologů / Olomouc, 5.–7. října 2023



Vývoj mikrobiomu trávicího traktu a kvantitativní profil imunitních markerů

MUDr. Zuzana Zafarová

Podle přednášky prof. MUDr. Vojtěcha Thona, Ph.D.

Na kongresu českých a slovenských gastroenterologů, který proběhl v říjnu 2023 v Olomouci, prezentoval prof. Thon zcela nová data týkající se vývoje střevního mikrobiomu. Jedná se o výsledky populační české studie s využitím unikátní multiplexové metody, která ukázala změny zánětlivých proteinů ve stolici během prvních dnů života dítěte. Prof. Thon poukázal také na schopnost této metody v kombinaci s neinvazivním odběrem stolice rozlišit mezi neutrofilním a eosinofilním typem zánětu, což je důležité pro volbu následné terapie. Zaměřil se na význam slizniční imunity a připomněl, že expozice antibiotikům během porodu císařským řezem významně nepříznivě ovlivňuje budoucí střevní mikrobiom dítěte. Jak zdůraznil, v případě antibiotické dysregulace mohou být velkým přínosem probiotika.

Slizniční imunita

Slizniční bariéry jsou místem regulace imunitního systému na rozdíl od vnitřních orgánů, kde je nutné udržovat sterilitu. V rámci imunitního systému je třeba rozlišovat slizniční imunitu (imunitní systém asociovaný se sliznicemi) a systémovou imunitu (periferní lymfatické orgány). Slizniční imunitní systém nacházíme v gastrointestinálním traktu, dýchacích cestách, urogenitálním traktu, ale i na spojivkách, v slzných žlázách či ve žláze mléčné (1). Sliznice rozhodně nejsou sterilní prostředí. Na rozdíl od vnitřních orgánů, kde je třeba udržovat sterilitu, je na sliznicích úkolem imunitního systému regulace, tj. udržení zánětu v určité toleranci. Tento základní princip není často dobře chápán ani dodržován. Sliznice jsou významným místem vývoje imunitního systému. I přirozené protilátky (se zastoupením všech tříd imunoglobulinů – IgG, IgM, IgA) vznikají jako odpověď na mikrobiální osídlení sliznic od samého

začátku života (2). V prvních 24 měsících života jedince byl prokázán postupný vývoj protilátek proti α -galaktosylu (anti-Gal) všech izotypů (2). Již ve věku 1 roku dosahují u dětí poměrně hodnoty těchto protilátek hodnot odpovídajících dospělým (Tab. 1) (2).

Expozom

Dnes již dokážeme měřit mikrobiom, metabolom a proteom. Zánět je odpověď organismu na vnitřní nebo vnější stimuly, což je koncept expozomu. Expozom je soubor všech expozičních faktorů. Tyto faktory rozdělujeme do 3 skupin. 1) specifická externí expozice (životní styl, strava, kouření), 2) obecná externí expozice (životní prostředí, klimatické faktory) a 3) interní expozice (střevní mikroflóra, stres, metabolismus, zánětlivé procesy) (3). Zkoumáním expozomu se zabývá epigenomika, transkriptomika, lipidomika, glykomika, proteomika a metabolomika.

Tab. 1. Poměr anti-Gal protilátek u dětí v prvních 24 měsících života v porovnání s matkami (2)

Poměr anti-Gal protilátek k celkovému množství sérových imunoglobulinů (U/mg)			
Třída protilátek	IgM	IgA	IgG
Pupečnicková krev	0,8	0	3,1
Věk 6 měsíců	2,6	4,4	0,9
Věk 12 měsíců	20,1	16,6	1,0
Věk 24 měsíců	40,3	25,1	1,9
Matky	28,5	27,1	4,6

Česká multiplexová metoda stanovení zánětlivých proteinů

Český tým vyvinul novou minimálně invazivní metodu stanovení zánětlivých proteinů. Pomocí této nové multiplexové metody, která využívá hmotnostní spektrometrii, lze u dětí odlišit eosinofilní a neutrofilní zánět, a to ze suché kapky krve (systémová imunita) a ze stolice (slizniční imunita). Vyšetření je minimálně zatěžující. Jedna suchá kapka má objem 50 μ l, k uvedenému vyšetření stačí pouze 3 μ l (lze zís-



MUDr. Zuzana Zafarová
Praha
zafarova@seznam.cz

Cit. zkr: Pediatr. praxi. 2023;24(6):428-430
Článek přijat redakcí: 6. 11. 2023

INZERCE

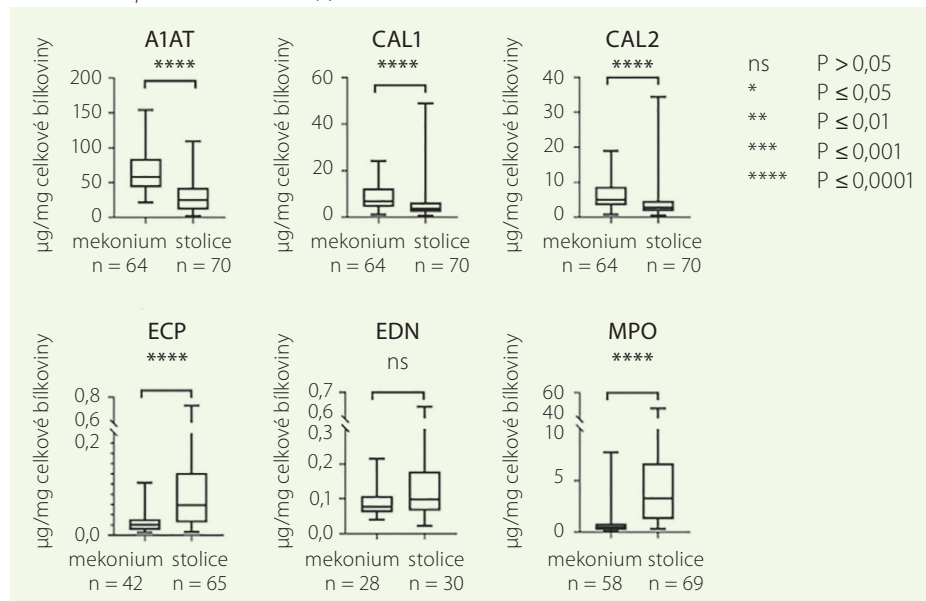
kat ze suché kapky krve razídlím). To je výrazná výhoda oproti klasickým metodám používáním v imunologii, jako je imunonefelometrie, k níž je potřebné větší množství krve. Vyšetření stolice je navíc zcela neinvazivní. Pomocí nové multiplexové metody (vhodné pro mezinárodní využití) lze kvantifikovat zánětlivé proteiny v mekoniu nebo stolici. Analyzované proteiny jsou myeloperoxidáza (MPO), kalprotektin (CAL, izotypy 1 a 2), eosinofilní kationický protein (ECP), neurotoxin odvozený z eozinofilů (EDN, ukazuje na alergický zánět, hypersenzitivitu 1. typu), alfa1-antitrypsin (A1AT, odráží zacelování a průchodnost střeva) a imunoglobuliny IgA (podtřídy A1 a A2). Tyto zánětlivé proteiny jsou markery, které umožňují kategorizovat potenciální zánětlivý stav a predikovat jeho progresi nebo lokalizaci.

Neutrofilní typ zánětu je charakterizován zvýšenou hladinou MPO a CAL, která ukazuje reakci na patogeny a autoantigeny, zatímco eosinofilní typ zánětu je provázen zvýšením ECP a EDN vyplavených z eozinofilů aktivovaných potravinovými alergeny (4). Vyšetření rovněž umožňuje posoudit intestinální permeabilitu a její vyvrácení. Zvýšení hladiny A1AT je totiž známkou narušení střevní bariéry. Pomocí tohoto vyšetření lze porovnat výskyt uvedených markerů ve smolce a v první stolici kojeného dítěte.

Změny zánětlivých proteinů ve stolici v prvních dnech života jedince

Unikátní výsledky populační studie z České republiky s využitím tohoto vyšetření

Obr. 1. Změny hladiny vybraných proteinů akutní fáze jako markerů zánětu v mekoniu a v první stolici dítěte během prvních dnů života (5)



ukazují změny uvedených proteinů v prvních dnech života dítěte. Zjištěn byl statisticky významný pokles A1AT (zacelování střevní sliznice), pokles CAL1 a CAL2, vzestup ECP a MPO (všechna $p < 0,0001$), (Obr. 1) (5). Profil těchto imunitních markerů v časně fázi života odráží narušení střevní homeostázy a mohl by být využitelný pro zachyt nespecifických střevních zánětů a potravinových alergií v presymptomatickém stadiu (5).

Význam odlišení neutrofilního a eosinofilního zánětu v praxi

Pomocí tohoto vyšetření je možné u dětského pacienta v porovnání se zdravými kontroly stanovit, zda se jedná o zánět eosinofil-

ní nebo neutrofilní. Od toho se odvíjí možnosti léčby. Lze využít již dlouhodobě používaná probiotika nebo prebiotika. Zpřesnění typu zánětu usnadňuje volbu terapie.

Probiotika jsou využitelná i v případě antibiotické dysregulace. Umožňují regulovat expozici včetně působení antibiotik. Česká studie z roku 2019 ukázala, že expozice antibiotikům během porodu císařským řezem významně ovlivňuje budoucí střevní mikrobiom dítěte, a to nezávisle na stravě v prvních měsících života (u plně kojených, částečně kojených i nekojených dětí). Ani plné kojení nedokáže doplnit depleci bakterií rodu *Bacteroides* (6). Tato česká práce je v souladu se závěry dalších publikovaných studií.

LITERATURA

1. Russell MW, Mestecky J. Mucosal immunity: The missing link in comprehending SARS-CoV-2 infection and transmission. *Front Immunol.* 2022;13:957107.
2. Hamanova M, Chmelikova M, Nentwich I, Thon V, Lokaj J. Anti-Gal IgM, IgA and IgG natural antibodies in childhood. *Immunol Lett.* 2015;164(1):40-43.
3. Vrijheid M. The exposome: a new paradigm to study

the impact of environment on health. *Thorax.* 2014;69(9):876-878.

4. Vidova V, Benesova E, Klanova J, Thon V, Spacil Z. Simultaneous quantitative profiling of clinically relevant immune markers in neonatal stool swabs to reveal inflammation. *Sci Rep.* 2021;11(1):10222.
5. Vidova V, Stuchlikova E, Vrbova M, Almasi M, Klanova J,

Thon V, Spacil Z. Multiplex Assay for Quantification of Acute Phase Proteins and Immunoglobulin A in Dried Blood Spots. *J Proteome Res.* 2019;18(1):380-391.

6. Pivrcova E, Kotaskova I, Thon V. Neonatal Diet and Gut Microbiome Development After C-Section During the First Three Months After Birth: A Systematic Review. *Front Nutr.* 2022;9:941549.