

Општи подаци и протокол истраживања

Назив:

Утицај *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* на појаву атопије код деце узраста до 2 године.

Сажетак

Атопија је подгрупа алергијских хиперсензитивности која се дефинише као генетска предиспозиција за продукцију *IgE* имуноглобулина у одговору на излагање алергену. Концепт "алергијског марша" описује генезу астме од одојачког периода када настаје атопијски дерматитис/екцем, алергија на храну и визинг, док се касније алергија проширује и на инхалаторне алергене, те се развија астма. Повезаношћу између настанка атопије и учесталости инфекција у најранијем узрасту бави се "хипотеза хигијене", која објашњава повећање инциденције атопијских болести животом у добрим хигијенским условима, без инфекција. Различите групе микроорганизама из намирница и орофекали микроорганизми могу имати различите ефекте по ризик за настанак атопије. У оквиру данске студије праћен је утицај бактеријских патогена на појаву атопије. Показано је да комбинована серопозитивност на *C. difficile*, *Campylobacter jejuni* и *Yersiniu enterocolitic*-и утиче на повећану појаву атопије, док се *Hepatitis A*, *Helicobacter pylori* и *Toksoplasma gondi*, као патогени лоше хигијене повезују са ниском преваленцом атопије. У земљама у развоју са *Helicobacter pylori* колонизовано је више од 50% деце, док је *Campylobacter* најчешћа бактерија изолована узорковањем намирница у развијеним земљама и сматра се најчешћим узрочником акутних дијареја код људи у свим узрастима, а нарочито код деце 0-4 године. У нашој земљи не постоје епидемиолошке студије о учесталости *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* инфекције код деце узраста до 2 године. Врло се мало зна о патогенези ових инфекција, као и развоју последичног протективног имунитета. Обзиром на убиквитарност ових бактерија неопходна су даља истраживања њиховог значаја на развој атопије у раном детињству.

Циљ истраживања

Циљ овог рада је да се истражи утицај *Campylobacter jejuni* и *Helicobacter pylori* на појаву атопије код деце узраста до 2 године.

Актуелност истраживања

Атопија је подгрупа алергијских хиперсензитивности која се дефинише као генетска предиспозиција за продукцију *IgE* имуноглобулина у одговору на излагање алергену, док појава специфичних *IgE* антитела лежи у основи развијања клиничког поремећаја (1). Концепт "алергијског марша" описује генезу астме од одојачког периода када настаје атопијски дерматитис/екцем, алергија на храну и визинг, док се касније алергија проширује и на инхалаторне алергене, те се развија астма (2).

Атопијске болести као што су атопијски дерматитис, алергијски ринитис и астма током последњих деценија имају повећану преваленцу, која се у дечијем узрасту креће од 25 до 35% (3). Више од половине свих случајева астме почиње пре 3. године живота, а 80% пре 6. године (1). Степен повећања атопијских обољења не може се објаснити само променама у геному (4).

Повезаношћу између настанка атопије и учесталости инфекција у најранијем узрасту бави се "хипотеза хигијене", која објашњава повећање инциденције атопијских болести, животом у добрим хигијенским условима, без инфекција (5). Иницијално имунолошко објашњење је недостатак микробиолошких антигена који изазвају усмеравање из *Th2* цитокинског профила ка *Th1* типу, што за последицу има доминацију *Th2* ћелијског одговора (5). Иако су социо-епидемиолошки индикатори броја инфекција указивали на обрнуту повезаност са атопијом (6), имунопатогенетске студије о повезаности између вирусних и бактеријских инфекција и алергија биле су мање конзистентне (7). Различите групе микроорганизама из намирница и орофекали микроорганизми могу имати различите ефекте на настанак атопије (8). У оквиру данске студије праћен је утицај бактеријских патогена на појаву атопије. Показано је да комбинована серопозитивност на *C. difficile*, *Campylobacter jejuni* и *Yersinia enterocolitica*-у утиче на повећану појаву атопије, док се *Hepatitis A*, *Helicobacter pylori* и *Toxoplasma gondii*, као патогени лоше хигијене повезују са ниском преваленцом атопије (8). Постоје и

мишљења да атопија штити дете нарочито у најранијем узрасту од настанка гастроинтестиналних инфекција (9).

Због свега наведеног актуелна је препорука да се прати повезаност сензибилизације и цревних инфекција током прве две године живота, а у контексту развоја алергије (9).

Helicobacter pylori инфекција је препозната као светски здравствени проблем. Са њом је колонизовано више од 50% деце у земљама у развоју, док је у развијеним земљама то случај код 10% деце (10). Колонизација са *Helicobacter pylori* је асимтоматска и дешава се у најранијем детињству (11), који је и критични период за настанак алергијског имунолошког одговора.

Постоје епидемиолошке студије које показују смањење преваленце *Helicobacter pylori* инфекције код деце, што се повезује са побољашњем социоекономског статуса (12). Обзиром да се повећање преваленце атопијских болести заснива такође на побољшању услова живота, ови подаци указују на инверзни однос између *Helicobacter pylori* инфекције и атопије (8,13).

Campylobacter је најчешћа бактерија изолована узорковањем намирница у развијеним земљама и сматра се најчешћим узрочником акутних дијареја код људи у свим узрастима, а нарочито код деце 0-4 године (14). У земљама у развоју здрава деца и одрасли су у свом окружењу константно изложени антигенима *Campylobacter jejuni*, што за последицу има појаву серумских антитела веома рано у животу, а утврђени су и блажи клинички облици болести у односу на развијене земље (15). Врло се мало зна о патогенези кампилобактериозе, развоју последичног протективног имунитета у току инфекције, као и утицаја ове бактерије на појаву атопије.

У нашој земљи не постоје епидемиолошке студије о учесталости *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* инфекције код деце узраста до 2 године, а њихова детекција је лимитирана и недоступна. Обзиром на учесталост ових инфекција, као и на њихов утицај на развој имунолошког капацитета, неопходна су даља истраживања значаја ових убиквитарних бактерија на развој атопије у раном детињству.

Предмет и опис истраживања:

A. Задаци истраживања:

- 1) Извршити анкетаирање родитеља и преглед деце узраста до 2 године у слепој контролисаној студији.
- 2) Утврдити постојање сензибилизације на уобичајене алергене у испитиваним групама деце.
- 3) Спровести серолошко тестирање на *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* у испитиваној популацији.
- 4) Утврдити значај фактора ризика на појаву сероконверзије на *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* код деце узраста до 2 године
- 5) Утврдити значај *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* на појаву атопије код деце узраста до 2 године

Ц. Методологија.

Пацијенти

Испитивањем ће у слепој контролисаној студији бити обухваћено 150 деце узраста до 2 године која у току једне године дођу на систематски педијатријски преглед.

Општи протокол:

Деца ће се уз сагласност родитеља укључивати у студију приликом систематског педијатријског прегледа, непосредно пре вакцинације или ревакцинације у тренутку потпуног здравља детета. Након анкетаирања родитеља и увида у медицинску документацију (педијатријски картон) узимаће се по 2 мл пуне крви. Крв ће се после 60 мин. центрифугирати, а серум складиштити на $-75\text{ }^{\circ}\text{C}$, до тренутка анализирања.

Анкетирање

Анкетни упитник израђен у свху овог истраживања обухватаће податке о факторима ризика за настанак атопије, као и анамнестичке податке о појави "*allergy like*" симптома. Анкетаирање родитеља и додатно прикупљање података из педијатријских картона вршиће едуковани педијатар.

Утврђивање сензибилизације

Концентрације укупних *IgE* и специфичних *IgE (Phadiatop infant)* одредићемо *in vitro FIA* методом на *Immucap-100* апарату.

Утврђивање сероконверзије на Helicobacter pylori

Концентрација *sIgM*, *sIgA* и *sIgG* на *Helicobacter pylori* одређивана је у узорцима серума *ELISA* методом (Serion ELISA classic, Institut Virion\Serion GmbH -Würzburg , Germany)

Утврђивање сероконверзије на Campylobacter jejuni

Концентрација *sIgM*, *sIgA* и *sIgG* на *Campylobacter jejuni* одређивана је у узорцима серума *ELISA* методом (Serion ELISA classic, Institut Virion\Serion GmbH -Würzburg , Germany)

Статистичка обрада:

Анализа података и утврђивање повезаности фактора ризика и сероконверзије на *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* на појаву атопије вршиће се програмским пакетом *SPSS*.

Ц. Очекивани резултати:

Резултати овог истраживања представљаће прве епидемиолошке податке о учесталости *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* инфекција код деце узраста до 2 године. Сходно подацима из литературе који се односе на утицај инфекција на појаву атопије, можемо претпоставити да ће *Helicobacter pylori* и *Campylobacter jejuni* имати утицаја на појаву атопије.

Значај истраживања

Вртоглави пораст оболелих од астме у задњих 20 година уочен је у популацији деце, тако да се у неким земљама проценат оболеле школске деце од астме креће и до 40%. Једном стечена алергијска болест у детињству одржава се и у одраслом животном добу, што има значајног утицаја на радну способност појединца и здравствени систем у опште.

Helicobacter pylori и *Campylobacter jejuni* инфекције су велики проблем јавног здравља са комплексном епидемиологијом, екстензивним резервоарима и вишеструким факторима

ризика. Први епидемиолошки подаци о овим инфекцијама у нашој земљи омогућиће утврђивање њиховог правог јавно-здравственог значаја. Одређивање њиховог утицаја на појаву атопије омогућиће израду оптималног превентивног програма за алергијске болести у најранијем узрасту.

Временски оквир

Сходно величини студијског узорка предвиђено је да ова студија траје 6 месеци.

Литература

1. Hamelmann E, Herz U, Holt A et al. New Visions for basic research and primary prevention of pediatric allergy: An iPAK summary and future trends. *Pediatr Allergy Immunol* 2008; 19 (Suppl. 19): 4-16.
2. ISSAC Steering Committee: World variations in the prevalence of asthma symptoms : The International Study of Asthma and Allergies in Childhood (ISAAC) *European respiratory journal* 12: 315-335.
3. Patino CM, Martinez FD. Interactions between Genes and Environment in the Development of Asthma *Allergy* 2001;56:279-86.
4. Baker BS. The role of microorganisms in atopic dermatitis. *Clin Exp Immunol* 2006;144:1-9.
5. von Mutius E. Environmental factors influencing the development and progression of pediatric asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2002;109:S525-S532.)
6. Bjorksten B. Effects of intestinal microflora and the environment on the development of asthma and allergy. *Springer Semin Immunopathol* 2004;25:257-270..
7. Linneberg A, Ostergaard C, Tvede M et al. IgG antibodies against microorganisms and atopic disease in Danish adults: the Copenhagen Allergy Study. *J Allergy Clin Immunol* 2003;111(4):847-53.
8. Black PN. Does atopy protect against enteric infections? *Allergy* 2005; 60 (1): 30-34.
9. Romero-Gallo J, Perez-Perez GI, Novick RP, et al. Responses to *Helicobacter pylori* whole cell and CagA antigens amongst Ladakh patients undergoing endoscopy. *Clin Diag Lab Immunol* 2002;9:1313-7.
10. Malaty HM. Epidemiology of *Helicobacter pylori* infection. *Best Pract Res Cl Ga* 2007; 21(2):205-214.

11. Tkachenko, Mikhail A; Zhannat et al. Dramatic Changes in the Prevalence of Helicobacter pylori Infection During Childhood: A 10-year Follow-up Study in Russia. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 2007;45(4):428-432.
12. Herbarth O, Bauer M, Fritz GJ, et al. Helicobacter pylori colonisation and eczema. *J Epidemiol Community Health* 2007;61:638–40.
13. Westrell T, Ciampa N, Boelaert F et al. Zoonotic infections in Europe in 2007: a summary of the EFSA-ECDC annual report. *Euro Surveill*. 2009;22;14(3). pii: 19100.
14. Coker A. Human Campylobacteriosis in Developing Countries. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(3):237-243.