

DOI: 10.15690/vramn564

Г.И. Подопригора^{1,2}, Л.И. Кафарская¹, Н.А. Байнов¹, А.Н. Шкопоров¹

¹ Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова, Москва, Российская Федерация

² НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии, Москва, Российская Федерация

Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты

Бактериальная транслокация (БТ) из кишечника представляет патологическое и физиологическое явление. БТ наблюдается в процессе установления аутохтонной кишечной микробиоты и микробиома хозяина при взаимодействии с комменсалами, сопровождая естественный иммуногенез, и при патологии (например, иммунодефицитах), представляя этиопатогенетическое звено инфекционного процесса и септических осложнений. Эволюционно выработанные механизмы взаимодействия хозяина и микробиоты, взаимно противоположной направленности, обусловлены инвазионными свойствами микроорганизмов и противостоящими им защитно-барьерными механизмами хозяина. Колонизационная резистентность хозяина, контактирующего с экзогенной микробиотой, обеспечивается комплексом конституциональных и адаптивных механизмов с ведущим участием комменсальной микробиоты. БТ в результате дисфункции барьеров контролируется механизмами самоочищения с вовлечением миелоидной клеточной фагоцитарной системы и опсопинов. Возникающая на слизистых оболочках динамично развивающаяся клеточно-гуморальная реакция на молекулярные микробные паттерны инициирует рецепторно-сигнальные и каскадные реакции, вектор и результат которых определяются перекрестным взаимодействием генома и микробиома хозяина. Рассмотрена ультраструктура энтероцитарных барьеров, взаимодействующих с микробиотой (симбиоты и патобиоты), в обеспечении адапционно-гомеостатической реактивности хозяина. Обоснованы исследования микроциркуляторного звена в патогенезе ишемических тканевых повреждений и воспаления, повышающих проницаемость кишечного барьера и БТ, а также механизмов очищения от бактерий и апоптотических клеток. Воспалительные и другие заболевания, напрямую связанные с барьерными нарушениями кишечника, обоснованно считаются болезнями кишечного барьера. Материнская микробиота влияет на формирование врожденного иммунитета и микробиоты новорожденного, в том числе путем БТ кишечных комменсалов с грудным молоком. Перспективны комплексные микробиологические, иммунологические, патофизиологические и другие исследования с использованием адекватных биомоделей, включая гнотобиотов.

Ключевые слова: микробиота, энтероцит, кишечный барьер, гнотобиология.

(Для цитирования: Подопригора Г.И., Кафарская Л.И., Байнов Н.А., Шкопоров А.Н. Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты. *Вестник РАМН*. 2015; 70 (6): 640–650. Doi: 10.15690/vramn564)

G.I. Podoprighora^{1,2}, L.I. Kafarskaya¹, N.A. Bainov¹, A.N. Shkoporov¹

¹ The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russian Federation

² Institute of Cytochemistry and Molecular Pharmacology, Moscow, Russian Federation

Bacterial Translocation from Intestine: Microbiological, Immunological and Pathophysiological Aspects

Bacterial translocation (BT) is both pathology and physiology phenomenon. In healthy newborns it accompanies the process of establishing the autochthonous intestinal microbiota and the host microbiome. In immunodeficiency it can be an aethio-pathogenetic link and a manifestation of infection or septic complications. The host colonization resistance to exogenous microbial colonizers is provided by gastrointestinal microbiota in concert with complex constitutional and adaptive defense mechanisms. BT may be result of barrier dysfunction and self-purification mechanisms involving the host myeloid cell phagocytic system and opsonins. Dynamic cell humoral response to microbial molecular patterns that occurs on the mucous membranes initiates receptor signaling pathways and cascade of reactions. Their vector and results are largely determined by cross-reactivity between microbiome and the host genome. Enterocyte barriers interacting with microbiota play leading role in providing adaptive, homeostatic and stress host reactivity. Microcirculatory ischemic tissue alterations and inflammatory reactions increase the intestinal barrier permeability and BT. These processes as well as mechanisms for apoptotic cells and bacteria clearance are justified to be of prospective research interest. The inflammatory and related diseases caused by alteration and dysfunction of the intestinal barrier are reasonably considered as diseases of single origin. Maternal microbiota affects the formation of the innate immune system and the microbiota of the newborn, including intestinal commensal translocation during lactation. Deeper understanding of intestinal barrier mechanisms needs complex microbiological, immunological, pathophysiological, etc. investigations using adequate biomodels, including gnotobiotic animals.

Key words: microbiota, enterocyte, intestinal barrier, gnotobiology.

(For citation: Podoprighora G.I., Kafarskaya L.I., Bainov N.A., Shkoporov A.N. Bacterial Translocation from Intestine: Microbiological, Immunological and Pathophysiological Aspects. *Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences*. 2015; 70 (6): 640–650. Doi: 10.15690/vramn564)

Возможности транслокации кишечных микроорганизмов

Проницаемость желудочно-кишечного тракта для микроорганизмов становится актуальным предметом исследований в связи с возрастающим вниманием к многофункциональной роли микробиома хозяина, формируемого в процессе взаимодействия с внешней и внутренней микробиотой, в частности с актуальностью проблемы сепсиса и септических осложнений.

Кишечный барьер (КБ) — сложная многокомпонентная система: ее основу составляет однослойный эпителий, железистые элементы которого продуцируют слизь; гликокаликс представляет сложное макромолекулярное образование, состоящее из протеогликанов, гликопротеинов и гликолипидов, эволюционно сложившееся в процессе адаптации и взаимодействия клеток кишечного тракта эукариотических организмов с внешней средой и выполняющее важные регуляторно-сигнальные, транспортные, пищевые и другие функции. Структуру КБ составляет также ряд клеточных компонентов и молекул, относящихся к иммунной, сосудистой и другим системам, анатомически и функционально связанных с желудочно-кишечным трактом, из них важнейшими являются иммуноциты и их продукты — иммуноглобулины и антитела (в том числе секреторные), антимикробные пептиды, цитокины и пр. Отдельным самостоятельным компонентом барьера являются комменсальные бактерии, активно взаимодействующие с другими представителями микробиоты и соматическими клетками хозяина, а суммарный микробиом через взаимодействие с соматическим геномом оказывает огромное влияние на состояние здоровья и патологию хозяина.

Нарушения в барьере и составляющих его компонентах, включая вовлеченные клеточно-гуморальные факторы, приводят к бактериальной транслокации (БТ) кишечных бактерий во внутреннюю среду организма хозяина, что может сопровождаться развитием сепсиса и септических осложнений, а также воспалительных и других заболеваний недостаточности кишечного барьера [1].

БТ представляет не только патогенетическое звено инфекционного процесса, но наблюдается и в естественных условиях микробного заселения мукозных поверхностей желудочно-кишечного и других трактов новорожденных, что было установлено Россли еще в 1922 г. и названо «физиологической бактериемией». Трансмуральная миграция кишечных бактерий уже тогда привлекала внимание исследователей [2], однако наличие у обычных животных естественной микробной контаминации создавало определенные методические трудности. Новые возможности появились с развитием гнотобиологии [3], изучением безмикробных и других категорий микробиологически контролируемых животных (гнотобиотов) и взаимодействия организма хозяина с известными микроорганизмами или их комбинациями. При подселении или ассоциации безмикробных животных с известными кишечными микроорганизмами, включая представителей комменсальной микробиоты, у гнотобиотов отмечалось проникновение микроорганизмов через кишечный барьер, что сопровождалось транзитной бактериемией. Этот процесс получил название бактериальной транслокации [4]. Ранее эти явления у гнотобиотов наблюдались и нами [5].

С середины 60-х гг. прошлого века в России начались технологические разработки получения и исследования безмикробных животных. Гнотобиологические модели, включающие безмикробных, моноассоциированных и другие категории, контролируемые по микробному фак-

тору, в сравнении с традиционными лабораторными животными помогают оценить влияние микробиотического фактора на развитие неспецифической резистентности и врожденный иммунитет хозяина.

Связь этих реакций с микробной флорой впервые была показана И.И. Мечниковым и получила развитие в работах его последователей. С развитием учения о фагоцитозе придается всевозрастающее значение клеточным фагоцитарным и воспалительным реакциям при взаимодействии хозяина с микроорганизмами в механизмах защитных реакций. Один из важных механизмов, лежащих в основе защитной реакции естественно контаминированных (конвенциональных) животных, рассмотрен в концепции барьерфиксирующей функции лимфоидной ткани организма [6]. В связи с этим изучение роли микробного фактора в неспецифических защитных реакциях врожденного иммунитета, включая барьерную функцию макроорганизма, на основе сравнительных исследований с использованием гнотобиологических моделей (безмикробные, моноассоциированные и другие категории) представляло несомненный интерес. Нами одними из первых были последовательно изучены вопросы особенностей фагоцитарной активности лейкоцитов и воспаления у безмикробных животных [5].

В настоящее время известно, что БТ через стенку кишечника происходит при таких тяжелых патологических процессах, как воспаление, ожоги, травмы, хирургические вмешательства, дисбиотические, иммунодепрессивные и стрессовые состояния, лучевые поражения и другие заболевания, сопровождаемые ослаблением врожденного иммунитета и резистентности организма. Снижение эффективности КБ, возникающее при дисфункции или дефектах эпителиальных клеток (энтероцитов), плотных межклеточных соединений (Tight Junction) и других морфофункциональных компонентов барьера, приводит к проникновению микроорганизмов в лимфатическую систему и кровоток. Считается, что дисфункция КБ сопровождается БТ, при которой бактерии и их продукты (эндотоксины и др.) из просвета кишечника через систему воротной вены с большей частью венозной крови от кишечника поступают в печень — первый на пути орган, в который поступают не только всасываемые питательные вещества, а также кишечные бактерии и молекулярные паттерны патогенов (Pathogen Associated Molecular Patterns, PAMP). Именно поэтому хроническая экспозиция печени к PAMP связывается с прогрессией заболевания и инфекционными осложнениями при развитии цирроза [7]. Однако необходимо учитывать и лимфогенный путь БТ из кишечника, при котором первым органом на пути транслоцируемых продуктов из кишечника становятся легкие, что объясняет их вовлеченность в синдром полиорганной недостаточности, связанной с дисфункцией КБ [8].

Повышение проницаемости кишечного барьера также патогенетически связано с развитием гипертермии и температурной реакцией хозяина в результате проникновения из кишечника и воздействия продуктов микробного происхождения типа липополисахаридов. В отсутствие бактериальной контаминации у безмикробных гнотобиотов в отличие от конвенциональных мышей и мини-свиней отмечено снижение температурной реакции на стандартный пирогенный препарат [5]. Среди факторов, способствующих укреплению КБ, отмечаются продукты как микробного, так и немикробного происхождения. Так, в условиях нарушения барьерных свойств кишечника под влиянием стрессового воздействия профилактическое применение пробиотиков оказывало протективный

эффект [9]. Способность повышать резистентность КБ к БТ выявлена у глютамина, вводимого перорально [10, 11].

Учитывая огромные масштабы кишечной (10^{14}) микробной колонизации, а также суммарного микробного генома (микробиома) кишечника, превышающего в 150 раз соматический геном человека, неизмеримо возрастает значение биоинформатики, системной биологии и компьютерного моделирования в изучении взаимодействия кишечных микроорганизмов с хозяином. Растущему признанию важности микрофлоры способствовали наблюдения бактериофагов, представляющих вирусы прокариот, заражающих бактерии или археи, в их обмене генами в микробиоте кишечника, с высокой специфичностью и частотой влияющих на активность представителей микробиоты, что подчеркивает роль подобного «биологического драйвера» при формировании состава кишечной микробиоты [12]. Взятые вместе эти инновационные исследовательские технологии, а также компьютерные модели и методы системной биологии, позволяют оценить значение установленных и новых информационных сетей, имеющих решающее значение в гомеостазе в кишечнике и здоровье человека. Потребуется дальнейшие усилия для проверки и подтверждения прогнозов на основе рабочих гипотез. Системно-биологический анализ в сочетании с метаомиком подходом активно используются для изучения и характеристики микробиома человека [13, 14].

Кишечный барьер при взаимодействии хозяина с микробиотой

Функция, препятствующая проникновению кишечных микроорганизмов во внутреннюю среду организма хозяина, обеспечивается комплексом барьерно-защитных приспособлений, включающих физико-механические, химические и биологические механизмы, выработанные и развивающиеся в условиях сосуществования с окружающими микробиотическими факторами среды и формирования собственной микробиоты, в первую очередь кишечной, и микробиома в целом [15]. Принято считать, что большая часть барьерно-защитных механизмов относится к врожденному иммунитету в отличие от адаптивного, развивающегося в процессе инфицирования возбудителями конкретных инфекционных заболеваний.

Подчеркивается важность периода беременности для транслокации бактерий и микробных молекулярных паттернов (ММП) в возможной эпигенетической иммунорегуляции у эмбрионов. Особое значение может иметь еще малоизученное явление иммунорегулируемого эпигенетического импринтинга в результате БТ и воздействия ММП на эмбрион в течение беременности, потенциально обеспечивающих будущее потомство первичным микробиомом [16]. Согласно этому предположению, первоначальный контакт плода с ММП в матке обеспечивает примирование иммунной системы и эпителия к последующей ответной реакции на патогены и комменсалы и проявлениям врожденного иммунитета.

Исследования с безмикробными и моноассоциируемыми гнотобиотами показали значение нормофлоры и отдельных комменсальных представителей кишечной микробиоты в развитии иммунной системы в целом, а также позволили выявить адаптивный характер врожденного иммунитета, в том числе и неспецифических защитных реакций. Особое значение гнотобиологические модели сыграли в раскрытии закономерностей формирования иммунитета слизистых оболочек (мукозного иммуните-

та), топографически наиболее тесно контактирующих с микробными контаминантами, а также последствий микробной колонизации и механизмов БТ [5, 17, 18]. Нашими систематическими исследованиями показана важная интегральная роль микробиоты, а также отдельных ее представителей (в том числе пробиотиков) в комплексе адапционно-защитных механизмов и реакций врожденного иммунитета — как клеточных, так и гуморальных. В настоящем обзоре с морфофункциональных, бактериологических и патофизиологических позиций характеризуются барьерные механизмы и БТ в процессе взаимодействия микробиоты с хозяином.

Энтероцитарный барьер и плотные межклеточные соединения

В контакте микроорганизмов с кишечником млекопитающих последовательно участвуют основные поверхностные элементы эпителиального КБ, представленные постоянно образуемой слизью (Mucus), гликокаликсом (полисахаридным, гликопротеиновым и гликолипидным молекулярным комплексом, выполняющим важную рецепторно-транспортную роль) эпителиальных клеток, расположенных в один слой и скрепленных плотными межклеточными соединениями (ПМС) в местах наиболее тесного контакта. Эти структуры функционируют в условиях постоянной регенерации. ПМС образуются между апикальными и боковыми мембранами соседних энтероцитов, ограничивая поступление воды, солей и клеток из просвета кишечника во внутреннюю среду. Особенности морфологии ПМС стали понятнее с развитием электронной микроскопии, а в последнее время исследователем заинтересовало их макромолекулярное строение [19].

ПМС образуются прилегающими мембранами соседних эпителиальных клеток, ультраструктура которых представлена сетью микрофибрилл, расположенных вдоль всей длины, опоясывающей верхние боковые границы прилегающих эпителиальных клеток. В результате между тремя вертикальными полосками фибриллярной сетки во внеклеточном пространстве формируется трубчатая ультраструктура в виде длинного узкого канала (~1 мкм в длину и 10 нм в диаметре), которая, уменьшая свободную диффузию растворенных веществ, обеспечивает достаточные барьерные свойства эпителиальных тканей [20]. Описанные модели ПМС допускают би- и триклеточные контакты. В молекулярной организации ПМС принимают участие мембранные белки, среди которых выделяются так называемые трицеллюлин, ангулин, клаудины, соединительные адгезивные молекулы, окклюдины и связанные макромолекулы на внутриклеточных плаках ZO-1, ZO-2, ZO-3, AF-6, цингулин, 7Н6.

Особую роль ПМС играют в проницаемости КБ и развитии ряда связанных патологических состояний, таких как воспалительные заболевания толстой кишки, а также внекишечные заболевания, включая диабет 1-го типа, пищевую аллергию, аутоиммунные болезни. Разрывы ПМС происходят и при других заболеваниях и травматических повреждениях, что сопровождается БТ, способствующей системному воспалительному ответу [19]. Продолжительный апоптоз энтероцитов при лучевой или ожоговой травме приводит к разрывам ПМС и последующей БТ в мезентериальные лимфатические узлы, развитию сепсиса и гибели пострадавших [21]. Такие повреждения кишечного барьера возникают при воспалении, сопровождающемся микроциркуляторными нарушениями и ишемическими поражениями. Ультраструктурная картина

воспалительных изменений у гнотобиотических морских свинок наблюдалась нами при введении в петлю тонкой кишки энтеропатогенной кишечной палочки *Escherichia coli* 055 [22]. Этапы взаимодействия и БТ микроорганизмов *Candida albicans*, *E. coli* и эндотоксина с клеточными структурами КБ, включая микроворсинки, плазматическую мембрану и погружение в цитоплазму энтероцитов, прослежены с применением световой, трансмиссионной и сканирующей микроскопии в изолированной петле тонкой кишки у крыс и морских свинок [23]. Особенности взаимодействия этих микроорганизмов с энтероцитами заключались в погружении микробов в цитоплазму энтероцитов отличным от классического фагоцитоза способом. Интернированные микроорганизмы проникали через нарушенную плазматическую мембрану микроворсинок (щеточная кайма) в цитоплазму энтероцитов, но не были окружены плазматической мембраной, типичной для фагосом, и не отмечалось дегрануляции лизосом. В то же время межклеточного проникновения микроорганизмов через энтероцитарный барьер с раздвижением ПМС не наблюдалось. Одновременно отмечалась межэнтероцитарная миграция макрофагов. Прохождение микробных транслокаторов через базальную мембрану было быстрым и редко отслеживаемым процессом. Отмечалось явление экстрюзии микроорганизмов через разрывы в базальной мембране с образованием микроабсцессов в собственной пластине. Здесь микроорганизмы фагоцитировались макрофагами, а также находились в свободном виде в лимфатических и кровеносных сосудах, в которых наблюдали явления окклюзии. Транслокация эндотоксина происходила через энтероциты с последующей диффузией через собственную пластину и мышечную стенку кишки между миоцитами [23].

В антибактериальной резистентности кишечного барьера важную роль играет мукозный иммунитет хозяина с участием организованной лимфоидной ткани, связанной с кишечником (Gut Associated Lymphoid Tissue, GALT), и секреторных иммуноглобулинов (Immunoglobulin, Ig) класса А или М и механизмов оральной толерантности, способных модулировать или подавлять микробную колонизацию и пенетрацию потенциально опасных антигенов и патогенов [5, 17, 19]. У нокаутированных мышей в отсутствие секреторных IgА и IgМ-антител отмечено снижение эпителиальной барьерной функции и повышенное поступление антигенов пищевого и микробного (комменсалы) происхождения, что приводило к реакциям гиперчувствительности и системной анафилаксии [17]. Включающиеся механизмы супрессии с помощью регуляторных Т клеток (Treg) у таких животных исключают периферические реакции гиперчувствительности на антигены и аллергены пищевого и микробного происхождения. Антигенные пробы доставляются дендритными антигенпредставляющими клетками мукозы, ответственными за принятие иммунной системой решения в отношении судьбы антигенов и за связь между врожденным и адаптивным иммунитетом. Сенсорная функция мукозы реализуется с помощью рецепторных структур, обеспечивающих распознавание консервативных ММП.

Ответная реакция организма на слизистых оболочках проявляется механизмами колонизационной резистентности, обеспечивающей первую линию защиты от микробных патогенов. Принципиальная структура и схема взаимосвязи развития колонизационной резистентности, включающей клеточные и гуморальные факторы, под воздействием микробного пускового фактора (формирование индигенной микробиоты) при одновременном участии нейроэндокринной регуляции была предложена

нами на основе систематических исследований безмикробных и других категорий гнотобиотических животных различных видов [5]. Суммарный потенциал колонизационной резистентности складывается из реакций местного иммунитета и комплекса неспецифических антимикробных защитных и элиминирующих факторов и механизмов хозяина, включающих рН среды, бактерицидные пептиды, перистальтическую моторику, фагоцитарную и антимикробную активность макрофагов, клеток Панета и тучных клеток, секреторных иммуноглобулинов, цитокинов, таких как фактор некроза опухоли, интерфероны и другие клеточные агенты, в развитии которых микробиотический показатель играет важную роль. В запуске каскада реакций, сопровождающих воспалительную реактивность, ключевую роль играют клеточно-рецептурные структуры, и в первую очередь толл-подобные рецепторы (Toll-Like Receptors, TLR), из которых TLR4 принадлежит особая роль в функционировании ПМС [24]. TLR4 за счет непосредственного вовлечения в серотонинергическую нейротрансмиссию участвует в обеспечении центральных и периферических механизмов адаптации и устойчивости хозяина к стрессовому воздействию с участием иммунной, нервной и эндокринной систем. Их дисфункция сопровождается нейроэндокринными нарушениями, приводящими к тяжелой депрессии. Полагают, что дисфункция этих рецепторных структур вовлечена в патогенез депрессивных расстройств, вызванных эндогенными стрессовыми сигналами, что рекомендуется учитывать при фармакотерапии депрессивных состояний [25].

Барьерно-фиксирующая функция лимфоидной ткани и миелоидная фагоцитарная система

Систематически изученные барьерные свойства комплекса эпителиально-лимфоидных клеточных структур кишечника предложено объединить в единую барьерно-фиксирующую функцию лимфоидных тканей и органов [6]. По современным представлениям, эта функция обеспечивается поверхностными и глубокими лимфоидными структурами, включая слизистые оболочки, связанные с ними лимфоидные клетки, ткани и органы, а также фиксированные и циркулирующие фагоциты. При этом отмечается ее тесная связь с фагоцитарной структурой, включая систему мононуклеарных фагоцитов (СМФ) (ретикулоэндотелиальная система по старой терминологии, позднее ориентированная преимущественно на мононуклеарные фагоциты), с возрастающим вниманием и к полинуклеарным фагоцитам, что позволяет рассматривать их в комплексе как миелоидную фагоцитарную систему. Гнотобиологические модели проясняют роль микробиоты в постнатальном развитии этого сложного врожденного клеточного механизма защиты организма от инфекции.

Согласно методике В.М. Бермана, состояние барьерно-фиксирующей способности лимфоидной ткани экспериментально оценивается по возникновению и уровням бактериемии в различные интервалы времени после перорального или внутрикожного введения патогенных бактерий. Критерием эффективности такой защиты является показатель минимальной агрессивной дозы бактерий, представляющий наименьшее количество патогенных микроорганизмов, единичные представители которых обнаруживаются в крови уже спустя 30 мин после введения в кровоток (внутрисердечно или внутри-

венно). Например, при введении патогенных бактерий *E. coli* 055 гнотобиотическим и обычным морским свинкам и крысам в определенной для них минимальной агрессивной дозе у обычных животных возникала лишь незначительная транзиторная бактериемия, в то время как у гнотобиотических отмечалась массивная бактериемия и развивался сепсис, приводящий к гибели животных [5]. При бактериологическом исследовании гомогенатов региональных лимфатических узлов в первые 30 мин после инокуляции большие количества бактерий определялись у обычных животных, что может отражать повышенную фиксирующую способность региональной лимфоидной ткани последних. У гнотобиотов также отмечалась сниженная фиксирующая способность более глубоких барьерных систем, включая селезенку, печень и другие органы, вовлеченные в СМФ. Повышенное число бактерий, определяемое через 24 ч в селезенке и лимфатических узлах у гнотобиотов, объясняется размножением бактерий в условиях пониженной бактерицидно-фагоцитарной активности СМФ.

Электронно-микроскопические исследования показали, что на фоне выраженных нарушений микроциркуляции у гнотобиотических животных под воздействием бактерий *E. coli* 055 имеют место резкие нарушения целостности энтероцитарного барьера, играющие важную роль в БТ. Энтероцитарный барьер у обычных животных отличался значительно большей резистентностью как за счет клеточных компонентов, так и гуморальных факторов местного иммунитета, в которых важную роль играют IgA и копроантитела. Доказательство важности этих факторов получено при введении бактерий *E. coli* 055 с соответствующими антителами. При одновременном введении в петлю тонкой кишки бактерий *E. coli* 055 и соответствующей антисыворотки отмечалось покрытие микроворсинок слоем иммуноглобулинов, в то время как нарушений межэнтероцитарных контактов не наблюдалось. Сравнительные эксперименты на гнотобиотических и обычных животных показали, что барьерно-фиксирующая функция лимфоэпителиальных тканей носит адаптивный характер, и в ее формировании важнейшую роль играет микробиотический фактор [5].

Физиологические проявления воспаления и бактериемии в процессе микробной колонизации кишечника

В слизистой оболочке кишечника у обычных животных, контаминированных естественным путем, отмечается повышенная клеточная активность, проявляющаяся числом митозов. Наряду с другими изменениями (микроциркуляторными, цитохимическими и др.) этот процесс может рассматриваться как проявление мягкой воспалительной реакции, защитной в своей основе, возникающей в ответ на микробное воздействие в кишечнике. Нахождение граней между физиологическими и патологическими воспалительными реакциями в тканевых структурах, контактирующих с естественным микробиотическим окружением, несомненно, будет предметом дальнейших исследований в экспериментальной и теоретической патологии. Очевидно, что общепринятое понятие нормы требует углубленного методологического анализа с учетом постоянного динамического взаимодействия организма хозяина с пусковыми факторами среды, важнейшим компонентом которых являются микробиотические: их также можно рассматривать в качестве экспозом (сумма факторов среды как экзогенных, так и

эндогенных), с воздействием которых организм хозяина сталкивается на протяжении жизненного цикла [26]. В этом отношении гнотобиотические модели обеспечивают уникальный биологический инструмент и дополнительный контроль в изучении сложной цепи взаимодействия про- и эукариотических организмов.

Физиологические явления комменсальной БТ и бактериемии совпадают по времени с повышенной проницаемостью кишечного тракта новорожденных и сопровождаются развитием мукозного воспаления. Необходимо отметить общебиологическое значение БТ, которое не является простым пассивным процессом, а предусматривает активный микробный забор (Sampling) с участием фагоцитирующих клеток и опсонических гуморальных факторов (комплемента, антитела и др.). В механизмах мукозного иммунитета и взаимодействия с кишечными бактериями и лимфоидную ткань, ассоциированную со слизистой оболочкой кишечника, в частности с Пейеровыми фолликулами, особую роль играют так называемые М клетки [27, 28]. Их способность к эндоцитозу кишечных бактерий повышается при участии гликопротеина 2, играющего определенную опсонизирующую роль и стимулирующего мукозный иммунный ответ [29, 30].

Одновременно в поддержании микроэкологического гомеостаза и обеспечении колонизационной резистентности на мукозных поверхностях кишечника важную роль выполняют клетки Панета, располагающиеся в кишечных криптах. Благодаря синтезируемым антимикробным пептидам и другим соединениям, основным из которых является лизоцим, а также ряда сигнальных молекул, они контролируют количество и состав микроорганизмов в криптах тонкой кишки и защищают стволовые клетки кишечника от микробных патогенов [31–33].

Актуальность вопросов БТ в практическом отношении особенно возросла в связи с ростом внимания к проблеме сепсиса у новорожденных, особенно в условиях недоношенности и связанных с этим дефектов иммунной защиты и кишечных барьерных механизмов. Роль БТ из кишечника в патологическом аспекте рассматривается также в концепции механизмов и источников системных инфекций и осложнений в виде сепсиса и дисфункции множественных органов (ДМО) у больных разного возраста. Это наблюдается при массивных хирургических вмешательствах. Развитие ДМО объясняется повреждением тканей кишечника, системным распространением, влиянием немикробных факторов тканевой природы [8, 34], которые проникают в кровообращение через лимфатическую систему кишечника. Понимание патофизиологических особенностей этого процесса помогает выработке правильной стратегии терапии ДМО. В этиопатогенезе ДМО и синдрома острого респираторного дистресса необходимо учитывать лимфогенное распространение небактериальных токсических факторов тканевой природы кишечного происхождения, что объясняет гипотезу о кишечно-лимфогенном патогенезе ДМО [8]. По этой причине, согласно закономерностям кровотока, лимфа, оттекающая из кишечника, минуя печень, через грудной проток и подключичную вену первоначально попадает в сердце и легкие, которые являются первыми отдаленными органами, подверженными воздействию мезентериальной лимфы. Именно поэтому первыми органами, в которых развивается недостаточность, являются легкие.

О роли кишечника и повышении его проницаемости как источника миграции таких бактерий, как *E. coli*, с последующим развитием эндотоксинемии и эндотоксического шока сообщали еще в середине прошлого века

[2, 35]. Позже, с углублением представлений о синдроме полиорганной недостаточности ведущее значение в патогенезе синдрома стали придавать роли кишечника и нарушению его барьерной функции [36]. Механизмами нарушения барьерной способности слизистой оболочки кишечника при шоке рассматриваются гипоксические процессы в органе, обеспечивающие транслокацию бактерий и эндотоксинов с последующим развитием синдрома полиорганной недостаточности.

Благодаря исследованиям в области молекулярной биологии клеточных рецепторов в последние годы возрастает внимание к анализу рецепторно-сигнальных путей ответных реакций организма хозяина, в частности рецепторов распознавания ММП, среди которых выделяются TLR, NOD (Nucleotide-Binding Oligomerization Domain), вовлеченные в генез функциональных нарушений энтероцитарного барьера. Показано, что TLR9, распознающие ДНК патогенных бактерий, расположенные на апикальных поверхностях ворсинок толстой кишки у обычных мышей, у безмикробных животных отсутствуют. Повышение экспрессии TLR9 имеет значение для развития воспаления под воздействием ДНК патогенных бактерий [37].

ММП, высвобождающиеся в процессе воспаления при фагоцитозе, активируют цитозольные рецепторы распознавания патогенов и различные TLR, что в значительной степени предопределяет направление последующих сигналов. Накопление этих продуктов в инфламмосомах вызывает обострение воспалительного ответа и смерть воспалительных клеток [38]. Важное значение придается активации TLR4 под влиянием бактериального эндотоксина, сопровождающего БТ, приводящего к системному сепсису. В этой связи возможность ограничения сигнальной активности TLR4 в кишечнике рассматривается как потенциальная терапевтическая мишень для предотвращения некротизирующего заболевания кишечника, в частности у недоношенных новорожденных [39]. Рецепторы инфламмосом, распознающие молекулярные паттерны, ассоциированные с патогенами, запускают каскадный антиинфекционный протективный механизм, включающий ответную активацию интерлейкинов 1 β и 18, каспазы 1 и 11, пироптоз (провоспалительный и литический способ клеточной смерти) [40].

Сдвиги в составе кишечной микробиоты могут влиять на метаболизм хозяина и приводить к заболеваниям, включая ожирение. Повышенная чувствительность к кишечным патогенам наблюдается при дефиците лептина у мышей. Главный механизм влияния хозяина на кишечный микробиом обеспечивается клетками Панета, секретирующими антимикробные пептиды. Установлена сигнальная роль лептиновых рецепторов энтероцитов, контролируемых кишечным микробиомом независимо от потребляемой пищи [41].

В экспериментах на мышах FVB/N под влиянием *Lactobacillus rhamnosus* GG (LGG) и *Bifidobacterium longum* отмечен некоторый протективный эффект лакто- и бифидобактерий в отношении развития сепсиса после перевязки слепой кишки, что проявлялось снижением показателей бактериемии, маркеров апоптоза в колоноцитах и смертностью [42]. Протективный эффект пробиотиков в отношении развития сепсиса и некротизирующего колита у новорожденных группы риска объясняется также конкурентным исключением потенциальных патогенов.

В защитных механизмах наиболее распространенных пробиотиков, таких как *Lactobacillus* и *Bifidobacterium*, подчеркивается роль вырабатываемых ими кислот (молочной, уксусной и пропионовой), обеспечивающих под-

держание низких уровней pH в определенных отделах желудочно-кишечного тракта, что подавляет рост различных патогенных бактерий и способствует восстановлению микробиологического баланса в кишечной микробиоте. Определенная ингибирующая и регулирующая роль бифидобактерий по отношению к другим представителям микрофлоры, таким как кишечная палочка, проявлялась в условиях диассоциации гнотобиотических мышей с бифидобактериями и кишечной палочкой [43]. Показано, что смесь молочнокислых пробиотиков предотвращала нарушение эпителиального барьера, вызываемого липополисахаридами, стрессом и другими факторами, и укрепляла ПМС [44]. Кроме того, в процессе реакции на микробные продукты в организме хозяина происходило усиление мукозного IgA-ответа и системного иммунитета [45].

В то же время, учитывая возможные побочные эффекты пробиотикотерапии в виде бактериемии, фунгемии и сепсиса, регулярное применение пробиотиков при тяжелых клинических ситуациях, сопряженных с развитием септических осложнений, в целом не рекомендуется [46]. По мнению Американской академии педиатрии, убедительных доказательств в необходимости повседневного профилактического применения пробиотиков для всех новорожденных до сих пор нет, но ожидаемые результаты проводимой мультицентровой оценки безопасности и эффективности живых микроорганизмов для предотвращения нозокомиального сепсиса у критически недоношенных новорожденных вызывают интерес [45].

Микроциркуляторные нарушения при ишемии и воспалении

Важнейшим начальным патогенетическим звеном развития воспаления являются нарушения микроциркуляции крови, приводящие к ишемизации тканей и органов, чередуемой с реперфузией. Последующее развитие воспаления связано с каскадом био- и цитохимических реакций, участием цитокинов и других факторов воспаления, таких как цитозольный адаптерный белок MyD88, каспазы, инфламмосомы. Патогенетическая значимость MyD88 подтверждена тем, что у мышей, дефицитных по этому фактору, при ишемических/реперфузионных нарушениях в кишечнике или легких снижались проявления воспаления, что также связывалось с торможением выработки фактора некроза опухоли и интерлейкина 1 β , при этом выживаемость животных повышалась [47]. Сигнальные процессы, реализуемые через клеточно-специфическую молекулу MyD88, одновременно приводят к индукции, хемотаксису и накоплению нейтрофилов, что указывает на центральную роль этого сигнального белка, а также на возможность его использования в качестве терапевтической мишени [48].

Нарушения микроциркуляции в очагах воспаления в кишечнике, выражающиеся чередованием ишемизации и реперфузии тканей, приводят к повреждению поверхностных эпителиальных клеток, в результате чего с ними связываются натуральные антитела, и активизируется система комплемента. Это приводит к активации, хемотаксису и эмиграции воспалительных клеток, таких как нейтрофилы, макрофаги, лимфоциты в пораженном кишечнике, что в свою очередь усиливает нарушения, вызванные ишемическо-реперфузионными воздействиями. В этих условиях устранение кишечной микробиоты с помощью антибиотиков оказывает определенный терапевтический эффект: уменьшается лимфоидная ткань, снижаются от-

ложения иммуноглобулинов и комплемента, ослабляется воспаление и повышается целостность КБ [49]. Обосновываются необходимость дальнейших исследований механизмов регуляции комменсальной микробиоты и воспалительного ответа при ишемическо-реперфузионном повреждении кишечника, а также поиски методов терапевтической манипуляции кишечной микробиотой с помощью пробиотиков, антибиотиков и др., что позволит улучшить прогноз критически больных с ишемическими повреждениями кишечника.

При стойкой вазоконстрикции в сосудах кишечника могут развиваться гипоксические явления в слизистой оболочке и морфологические повреждения в первую очередь ворсинок кишечника, которые особенно чувствительны к снижению кровотока и/или гипоксии. При септическом шоке и подобных ситуациях имеется высокая вероятность нарушения микроциркуляции и развития гипоксии слизистой оболочки кишечника. В свою очередь, вещества, образуемые вследствие септического повреждения, и возникающая выраженная эндотоксемия могут по принципу порочного круга дополнительно вызывать в кишечнике локальные нарушения микроциркуляции, усиливать гипоксические повреждения слизистой оболочки и понижать ее барьерную способность.

В клинических условиях выраженное нарушение проницаемости кишечника наблюдается в результате тяжелой ожоговой травмы, геморрагического шока, других тяжелых травматических повреждений. Считается, что БТ из кишечника идет преимущественно в направлении мезентериальных лимфатических узлов, в связи с чем результаты посевов крови часто бывают негативными. Отчасти этим, а также ранним применением антибиотиков объясняется отсутствие убедительных доказательств корреляции септических осложнений и БТ. В то же время распространением бактериальных транслокатов по лимфатической системе и грудному протоку через венозную кровь системы полых вен объясняется возможность первичного поражения легких транслоцируемыми из кишечника бактериями, минуя систему воротной вены и печень [34]. Патогенез тканевых повреждений с последующей БТ описывается как феномен двойного удара [50], при котором шок различной природы выступает как подготовительный удар, а сопровождающая его тканевая ишемия модулирует последующий воспалительный ответ организма на воздействие бактерий или эндотоксинов.

Считается, что клинически выявляемая БТ и изменение интестинальной проницаемости являются независимыми процессами. Кишечные бактерии или эндотоксины могут индуцировать или усиливать развитие системного воспалительного каскада, не достигая портального кровотока. Корреляция между выживаемостью и степенью БТ в большей степени определяется по силе воспалительных изменений. В то же время имеются клинические доказательства взаимосвязи БТ и сепсиса. Так, связь БТ с развитием септических проявлений, вызванных микроорганизмами *Klebsiella oxytoca*, наблюдалась как осложнение неоперабельного аппендицита даже у иммунокомпетентных детей [51].

Гнотобиологические модели в изучении проблем транслокации

Принято считать, что для преодоления КБ популяция микроорганизмов должна достигать 10^9 , однако это не является общим правилом, так как проницаемость, помимо агрессивных свойств микроорганизмов, зависит и от

сопутствующих факторов, включая состояние организма хозяина и его защитных систем, изменяющихся с возрастом, а также других факторов, определяющих так называемую колонизационную резистентность. В экспериментах с участием В.Н. Андреева на молодых безмикробных морских свинках установлено, что БТ имеет место как в раннем периоде после рождения, так и в отношении представителей нормальной кишечной микрофлоры, включающих *Bacillus subtilis*, *Bacillus mesentericus*, *Staphylococcus albus* и *Streptococcus faecalis* [5]. Показана различная степень проницаемости кишечника в зависимости от скорости размножения изучаемых микроорганизмов. Уже спустя одни сут после моноассоциации количество микроорганизмов на 1 г фекалий для разных видов микроорганизмов составляло, соответственно, 10^2 – 10^6 для *B. subtilis*, 10^7 для *B. mesentericus*, 10^7 – 10^8 для *S. albus*, 10^9 для *S. faecalis*. При этом транслокация и незначительные уровни бактериемии (10^2 – 10^3) определялись при моноассоциациях со всеми указанными микроорганизмами, популяция которых в кишечнике в условиях моноассоциации превышала 10^6 , кроме *B. subtilis*, которые появлялись лишь на 2-е сут. Присутствие этих микроорганизмов в первую очередь отмечалось в региональных (мезентериальных) лимфатических узлах, а позднее и в селезенке. Таким образом, эти микроорганизмы способны проникать из кишечника в региональные и более глубокие барьерные органы СМФ, что имеет физиологический смысл, обеспечивая иммунобиологическую адаптацию макроорганизма к микробной среде и развитие натурального иммунитета. Снижение барьерно-фиксирующей функции лимфоидной ткани у гнотобиотов обуславливает развитие прогрессирующей бактериемии при парентеральном или пероральном введении энтеропатогенных бактерий *E. coli*. При этом различия в транслокации патогенных бактерий заключались в выраженном повреждении межэнтероцитарных соединений и межэпителиальном проникновении бактерий из кишечника гнотобиотов, в то время как у обычных животных отмечалось внутриэпителиальное проникновение бактерий, вовлекающее механизмы эндоцитоза [22].

Повышенная транслокация патогенных бактерий в случае массивной бактериальной колонизации кишечника сопряжена с развитием воспаления, важным патогенетическим звеном которого являются микроциркуляторные нарушения. Выраженные изменения микроциркуляции возникают в различных барьерных системах у гнотобиотов в ответ на микробное воздействие, что было наглядно продемонстрировано при сравнительном электронно-микроскопическом исследовании состояния энтероцитарного барьера в кишечнике и аэрогематического — в легких у гнотобиотических и обычных животных [5, 22]. При этом показана протективная роль иммуноглобулинов, выполняющих в том числе и функцию опсоинов при эндоцитозе микробных клеток энтероцитами. Для уточнения роли микроциркуляторных нарушений в повышении проницаемости кишечника для патогенных бактерий типа *E. coli* 055 были проведены эксперименты с введением бактерий в изолированную петлю кишечника у безмикробных морских свинок [5]. Одной группе животных в изолированный отрезок тонкой кишки вводили суспензию бактерий *E. coli* 055, второй — бактерии после предварительной опсонизации соответствующей антисывороткой. Животным третьей группы вводили типичный медиатор воспаления — 0,1% раствор гистамина. В последующих электронно-микроскопических исследованиях препаратов тонкой кишки установлено, что спустя 3 ч после введения бактерий *E. coli* 055 у гнотобиотов имели место резкие микроциркуля-

торные и гемореологические нарушения. Эти изменения проявлялись резким (в 2–3 раза) расширением сосудов, утончением их стенок, локальными нарушениями мембран эндотелиальных клеток, повышением проницаемости сосудов, явлениями отека и деструкции энтероцитов с признаками гемостаза в капиллярах. Аналогичные изменения наблюдались и после введения гистамина, за исключением резкого расширения сосудов у гнотобиотов. При опсонизации бактерий антисывороткой патологических изменений в ультраструктуре энтероцитов и нарушений микроциркуляции в кишечнике гнотобиотов не наблюдалось. Вводимые иммуноглобулины хорошо адсорбировались на поверхности микроворсинок энтероцитов и фиксировали тела кишечных палочек [22]. Основываясь на данных комплексных бактериологических, гистологических, биомикроскопических и электронно-микроскопических исследований, механизмы нарушения проницаемости энтероцитарного барьера для энтеропатогенных микроорганизмов типа *E. coli* 055 представляются в виде сложной цепной реакции. Она начинается с воздействия бактерий и энтеротоксинов на сосуды прямо или опосредованно через дегрануляцию тучных клеток и высвобождение вазоактивных веществ типа гистамина, вызывающих микроциркуляторные и гемореологические нарушения. Повышение проницаемости сопровождается выходом жидкости из просвета сосудов, что в свою очередь приводит к нарушению межклеточных контактов и целостности кишечного барьера. Это указывает на важную роль состояния реактивности микрососудов в местных и системных адаптационных реакциях организма на микробное воздействие со стороны кишечника.

Учитывая важную роль микроциркуляторного кровообращения в формировании адаптационно-защитных, в частности воспалительных, реакций на воздействие микроорганизмов на слизистых оболочках, в том числе в кишечнике, интерес представляет изучение особенностей реактивности и проницаемости микрососудов у безмикробных животных к таким медиаторам воспаления, как гистамин и адреналин. В биомикроскопических исследованиях показаны особенности микроциркуляции, реактивности и проницаемости микрососудов брыжейки безмикробных и конвенциональных крыс линии *Wistar* на эти вазоактивные препараты [5, 52, 53]. На модели острых нарушений микроциркуляции под влиянием аппликации на брыжейке кишечника одного из типичных медиаторов воспаления гистамина у обычных крыс в микрососудах наблюдалось замедление кровотока вплоть до развития явлений стаза, что проявлялось типичной реакцией «просветления» микрососудов. У крыс-гнотобиотов для достижения подобной реакции требовалось повышение дозы гистамина примерно в 10 раз. Аналогичные реакции были выявлены и на адреналин, дозу которого для воспроизведения типичного для обычного животного эффекта «стаза» необходимо было увеличивать в 3–5 раз. Таким образом, показаны пониженная чувствительность микрососудов брыжейки кишечника животных в отсутствие микробной флоры на вазоактивные вещества и повышенная проницаемость микрососудов на фоне снижения их реактивности.

Перспективные направления исследований

Явления транслокации кишечной микробиоты, в том числе и представителей комменсальных микроорганизмов, наблюдаются как в случае различных нарушений

барьерной функции (например, при иммунодефицитных состояниях), так и в физиологических условиях, что может сопровождать процессы естественного иммуногенеза. Отдельным важным, но еще малоизученным процессом транслокации комменсальных кишечных микроорганизмов наряду с иммунными факторами молозива и материнского молока являются связь кишечника с молочными железами материнского организма и осуществление последующей передачи их новорожденному. В последние годы стало известно, что большинство бифидобактерий, колонизирующих кишечник новорожденных, представлены материнскими штаммами бифидобактерий, присутствующих в грудном молоке. Было показано, что преобладающими видами бифидобактерий были *B. longum* (77% случаев), *B. bifidum* (26%), *B. catenulatum* (15%) и *B. breve*. При этом концентрация бифидобактерий в мл грудного молока достигала $1,4 \times 10^3$, концентрация бифидобактерий в 1 л молока — $7,5 \times 10^5$ [54]. Дополнительными исследованиями показана генетическая связь материнской кишечной бифидофлоры с аналогичной системой новорожденного, причем пробиотики, используемые матерью, значительного влияния на эту связь не оказывали [55]. Секвенирование и анализ геномов бифидобактерий позволили обнаружить гены, детерминирующие продукцию ферментов, расщепляющих олигосахариды грудного молока, что обеспечивало их жизнеспособность в естественной молочной среде. Именно поэтому выделяемые штаммы являются хорошими кандидатами пробиотиков [56].

Механизмы транслокации и появления кишечных симбионтов в молочных железах, активизируемые во время беременности и лактации, еще не до конца ясны, однако биологическая целесообразность этого явления очевидна. В период лактации происходит перенос клеток фагоцитов из лимфоидной ткани, ассоциированной с кишечником, к грудным железам через лимфатические и периферические кровеносные сосуды. Показано, что бактериальная транслокация представляет уникальное физиологическое событие, нарастающее с течением беременности и лактации. Это обеспечивает иммунный импринтинг новорожденных с помощью фагоцитов — носителей комменсальных бактерий матери — и их молекулярных паттернов, содержащихся в грудном молоке [57].

Из кишечника через материнские молочные железы транслокация некоторых симбионтов, в частности бифидобактерий и лактобацилл, способствует установлению бифидофлоры и кисломолочной кишечной микробиоты, а также развитию иммунной системы новорожденного, что важно для понимания возможностей иммунологической модуляции и коррекции в терапевтических и профилактических целях. В качестве векторов-транспортеров таких транслокатов служат дендритные и другие клетки СМФ. Дендритные клетки могут пенетрировать через эпителий толстой кишки, захватывать комменсальные бактерии, которые при этом могут сохранять жизнеспособность в течение нескольких дней. В эксперименте на лабораторных животных было показано, что миграция дендритных клеток ограничивалась преимущественно мезентеральными лимфатическими узлами. Известно, что при беременности и лактации повышается экспрессия MadCAM-1 (Mucosal Addressin Cell Adhesion Molecule 1), представляющего собой молекулы адгезии лимфоидных образований на слизистых оболочках, в том числе в протоках молочных желез, что привлекает иммунные клетки, происходящие из лимфоидных тканей кишечника. В этих механизмах помимо адресина-1 играет роль и молекула-1 адгезии ангиоцитов VCAM-1 (Vascular

Cell Adhesion Molecule-1), а также хемокин мукозного эпителия CCL28 [58]. Во время беременности и лактации активизируются циркуляция иммунных клеток и их проникновение в молочную железу. Этот процесс может быть связан с механизмами хоминг-эффекта и распространения иммунокомпетентных клеток в процессе формирования мукозной иммунной системы и лимфоидной ткани слизистых оболочек новорожденного, что требует дальнейшего изучения.

Повышенное внимание исследователей к углубленному изучению барьерных структур и механизмов проницаемости кишечника для микроорганизмов привлечено в связи с пониманием и признанием важной роли микробиоты, и особенно комменсальных представителей микроэкологической среды как одних из основных детерминант иммунных реакций организма [53]. Эти вопросы напрямую связаны с КБ, его проницаемостью для микроорганизмов и их продуктов, и также требуют углубленных комплексных исследований как с профилактической, так и лечебной точки зрения [59]. Для их успешного осуществления необходимы новые комплексные подходы с использованием новейших методов микробиологии, иммунологии, патологии, биохимии и др. Среди перспективных направлений отмечаются исследования молекулярно-клеточных и рецепторно-сигнальных путей и механизмов в процессах микробной колонизации кишечника и взаимодействия специализированных клеточных структур энтероцитарного барьера с ММП, запускающих каскадные механизмы воспалительных и других ответных реакций организма.

В числе ранних проявлений воспаления отмечаются микроциркуляторные реакции и их нарушения, проявляющиеся чередованием ишемии и реперфузии и приводящие к гипоксии и тканевым повреждениям. Эти процессы тесно связаны с нарушениями проницаемости и образованием дефектов в КБ, способствующими БТ и развитию локальных и системных воспалительных реакций, размеры и специфика которых определяется многими факторами — как организма хозяина, так и микробиоты. Важным патогенетическим звеном при этом является повышенный апоптоз и замедленное очищение макроорганизма от апоптотических клеток

кишечника, что усиливает воспаление и замедляет репаративные процессы [60]. В естественном клиренсе от них играет существенную роль молочного-эпидермальный ростовой фактор 8 (MFG-E8). В экспериментах на модели ишемии кишечника у мышей, сопровождающейся развитием воспалительной реакции, введение рекомбинантного MFG-E8 показало значительное повышение клиренса от апоптотических клеток, уменьшение БТ в региональные лимфоузлы, снижение нейтрофильной инфильтрации и ускорение регенеративных процессов [60]. Большой интерес представляют дальнейшие изучения микроциркуляторных нарушений тканей кишечника как основной причины ишемических нарушений, способствующей развитию воспалительных реакций. Биомикроскопическими исследованиями микроциркуляторных изменений в брыжейке кишечника крыс, вызванных гистамином, одним из типичных медиаторов воспаления экспериментально показана потенциальная профилактическая и лечебная перспективность глицина и, возможно, других натуральных метаболитов при нарушениях микроциркуляции [52].

В изучении влияния микробиоты на формирование и активность врожденного иммунитета организма хозяина, в том числе барьерные способности кишечника и другие аспекты взаимодействия (включая возможность транслокации материнских кишечных комменсалов с грудным молоком новорожденному), перспективны комплексные микробиологические, иммунологические, патофизиологические и другие исследования с использованием адекватных биомоделей, включая гнотобиотов.

Источник финансирования

Проведенное исследование осуществлено на личные средства авторов.

Конфликт интересов

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие конфликта интересов, о котором необходимо сообщить.

ЛИТЕРАТУРА

- Jager S, Stange EF, Wehkamp J. Inflammatory bowel disease: an impaired barrier disease. *Langenbecks Arch Surg.* 2013;398(1):1–12. doi: 10.1007/s00423-012-1030-9
- Schweinburg FB, Seligman AM, Fine J. Transmural migration of intestinal bacteria; a study based on the use of radioactive *Escherichia coli*. *N Engl J Med.* 1950;242(19):747-751. doi: 10.1056/NEJM195005112421903.
- Luckey T. Germ-free life and gnotobiology, *Acad. Press, New York, London.* 1963.252 с.
- Berg R. Factors influencing the translocation of bacteria from the gastrointestinal tract. *Recent advances in germfree research, Editors: Sasaki, S., Ozawa, A., and Hashimoto, K., Tokai University Press, Tokyo.* 1981. P.411–418.
- Подопригора ГИ. Медицинская гнотобиология. М.: МИА. 2003. 272 с.
- Берман ВМ. Барьерфиксирующая функция организма в явлениях инфекции и иммунитета. В кн.: Вопросы возрастной иммунологии. Под ред. В.М. Бермана. Л. 1947. С. 7–50.
- Wang L, Llorente C, Hartmann P, Yang AM, Chen P, Schnabl B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. *J Immunol Methods.* 2015;421:44–53. doi: 10.1016/j.jim.2014.12.015.
- Deitch EA. Gut-origin sepsis: evolution of a concept. *Surgeon.* 2012;10(6):350–356. doi: 10.1016/j.surge.2012.03.003.
- Da Silva S, Robbe-Masselot C, Ait-Belgnaoui A, Mancuso A, Mercade-Loubiere M, Salvador-Cartier C, et al. Stress disrupts intestinal mucus barrier in rats via mucin O-glycosylation shift: prevention by a probiotic treatment. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2014;307(4):G420–429. doi: 10.1152/ajpgi.00290.2013.
- Zuhl MN, Lanphere KR, Kravitz L, Mermier CM, Schneider S, Dokladny K, et al. Effects of oral glutamine supplementation on exercise-induced gastrointestinal permeability and tight junction protein expression. *J Appl Physiol (1985).* 2014;116(2):183–191. doi: 10.1152/jappphysiol.00646.2013.
- Soares AD, Costa KA, Wanner SP, Santos RG, Fernandes SO, Martins FS, et al. Dietary glutamine prevents the loss of intestinal barrier function and attenuates the increase in core body temperature induced by acute heat exposure. *Br J Nutr.* 2014;112(10):1601–1610. doi: 10.1017/S0007114514002608.
- Mills S, Shanahan F, Stanton C, Hill C, Coffey A, Ross RP. Movers and shakers: influence of bacteriophages in shaping the mammalian gut microbiota. *Gut Microbes.* 2013;4(1):4–16. doi: 10.4161/gmic.22371.

13. Lepage P, Leclerc MC, Joossens M, Mondot S, Blottiere HM, Raes J, et al. A metagenomic insight into our gut's microbiome. *Gut*. 2013;62(1):146–158. doi: 10.1136/gutjnl-2011-301805.
14. Thomas LV, Ockhuizen T, Suzuki K. Exploring the influence of the gut microbiota and probiotics on health: a symposium report. *Br J Nutr*. 2014;112 Suppl 1:S1–18. doi: 10.1017/S0007114514001275.
15. Falk PG, Hooper LV, Midtvedt T, Gordon JI. Creating and maintaining the gastrointestinal ecosystem: what we know and need to know from gnotobiology. *Microbiol Mol Biol Rev*. 1998;62(4):1157–1170. PMC98942.
16. Abrahamsson TR, Wu RY, Jenmalm MC. Gut microbiota and allergy: the importance of the pregnancy period. *Pediatr Res*. 2015;77(1–2):214–219. doi: 10.1038/pr.2014.165.
17. Brandtzaeg P. Homeostatic impact of indigenous microbiota and secretory immunity. *Benef Microbes*. 2010;1(3):211–227. doi: 10.3920/BM2010.0009.
18. Tlaskalova-Hogenova H, Stepankova R, Kozakova H, Hudcovic T, Vannucci L, Tuckova L, et al. The role of gut microbiota (commensal bacteria) and the mucosal barrier in the pathogenesis of inflammatory and autoimmune diseases and cancer: contribution of germ-free and gnotobiotic animal models of human diseases. *Cell Mol Immunol*. 2011;8(2):110–120. doi: 10.1038/cmi.2010.67.
19. Assimakopoulos SF, Papageorgiou I, Charonis A. Enterocytes' tight junctions: From molecules to diseases. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2011;2(6):123–137. doi: 10.4291/wjgp.v2.i6.123.
20. Furuse M, Izumi Y, Oda Y, Higashi T, Iwamoto N. Molecular organization of tricellular tight junctions. *Tissue Barriers*. 2014;2:e28960. doi: 10.4161/tisb.28960.
21. Carter SR, Zahs A, Palmer JL, Wang L, Ramirez L, Gamelli RL, et al. Intestinal barrier disruption as a cause of mortality in combined radiation and burn injury. *Shock*. 2013;40(4):281–289. doi: 10.1097/SHK.0b013e3182a2c5b5.
22. Чернух АМ, Подопривога ГИ, Кранчев АК. Изучение путей проникновения бактерий *E. coli* 055 через стенку кишечника у гнотобиотических и обычных животных. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины*. 1978;86(6):654–657.
23. Alexander JW, Boyce ST, Babcock GF, Gianotti L, Peck MD, Dunn DL, et al. The process of microbial translocation. *Ann Surg*. 1990;212(4):496–510; discussion 511–492. PMC1358286.
24. Liaunardy-Jopeace A, Gay NJ. Molecular and cellular regulation of toll-like receptor-4 activity induced by lipopolysaccharide ligands. *Front Immunol*. 2014;5:473. doi: 10.3389/fimmu.2014.00473.
25. Liu J, Buisman-Pijlman F, Hutchinson MR. Toll-like receptor 4: innate immune regulator of neuroimmune and neuroendocrine interactions in stress and major depressive disorder. *Front Neurosci*. 2014;8:309. doi: 10.3389/fnins.2014.00309.
26. Bogdanos DP, Smyk DS, Invernizzi P, Rigopoulou EI, Blank M, Pouria S, et al. Infectome: a platform to trace infectious triggers of autoimmunity. *Autoimmun Rev*. 2013;12(7):726–740. doi: 10.1016/j.autrev.2012.12.005.
27. Owen RL, Apple RT, Bhalla DK. Morphometric and cytochemical analysis of lysosomes in rat Peyer's patch follicle epithelium: their reduction in volume fraction and acid phosphatase content in M cells compared to adjacent enterocytes. *Anat Rec*. 1986;216(4):521–527. doi: 10.1002/ar.1092160409.
28. Gebert A, Fassbender S, Werner K, Weissferdt A. The Development of M Cells in Peyer's Patches Is Restricted to Specialized Dome-Associated Crypts. *The American Journal of Pathology*. 1999;154(5):1573–1582. doi: 10.1016/s0002-9440(10)65410-7.
29. Hase K, Kawano K, Nochi T, Pontes GS, Fukuda S, Ebisawa M, et al. Uptake through glycoprotein 2 of FimH(+) bacteria by M cells initiates mucosal immune response. *Nature*. 2009;462(7270):226–230. doi: 10.1038/nature08529.
30. Ohno H, Hase K. Glycoprotein 2 (GP2): grabbing the FimH bacteria into M cells for mucosal immunity. *Gut Microbes*. 2010;1(6):407–410. doi: 10.4161/gmic.1.6.14078.
31. Быков ВЛ. Клетки Панета: история открытия, структурные и функциональные характеристики и роль в поддержании гомеостаза в тонком кишечнике. *Морфология*. 2014;145(1):67–80.
32. Chassaing B, Kumar M, Baker MT, Singh V, Vijay-Kumar M. Mammalian gut immunity. *Biomed J*. 2014;37(5):246–258. doi: 10.4103/2319-4170.130922.
33. Saxena M, Yeretssian G. NOD-Like Receptors: Master Regulators of Inflammation and Cancer. *Front Immunol*. 2014;5:327. doi: 10.3389/fimmu.2014.00327.
34. Deitch EA. Gut lymph and lymphatics: a source of factors leading to organ injury and dysfunction. *Ann N Y Acad Sci*. 2010;1207 Suppl 1:E103–111. doi: 10.1111/j.1749-6632.2010.05713.x.
35. Evans WE, Darin JC. Effect of enterectomy in endotoxin shock. *Surgery*. 1966;60(5):1026–1029.
36. Carrico CJ, Meakins JL, Marshall JC, Fry D, Maier RV. Multiple-organ-failure syndrome. *Arch Surg*. 1986;121(2):196–208.
37. Ewaschuk JB, Backer JL, Churchill TA, Obermeier F, Krause DO, Madsen KL. Surface expression of Toll-like receptor 9 is upregulated on intestinal epithelial cells in response to pathogenic bacterial DNA. *Infect Immun*. 2007;75(5):2572–2579. doi: 10.1128/IAI.01662-06.
38. Moretti J, Blander JM. Insights into phagocytosis-coupled activation of pattern recognition receptors and inflammasomes. *Curr Opin Immunol*. 2014;26:100–110. doi: 10.1016/j.coi.2013.11.003.
39. Hackam DJ, Good M, Sodhi CP. Mechanisms of gut barrier failure in the pathogenesis of necrotizing enterocolitis: Toll-like receptors throw the switch. *Semin Pediatr Surg*. 2013;22(2):76–82. doi: 10.1053/j.sempedsurg.2013.01.003.
40. Lamkanfi M, Dixit VM. Mechanisms and functions of inflammasomes. *Cell*. 2014;157(5):1013–1022. doi: 10.1016/j.cell.2014.04.007.
41. Rajala MW, Patterson CM, Opp JS, Foltin SK, Young VB, Myers MG, Jr. Leptin acts independently of food intake to modulate gut microbial composition in male mice. *Endocrinology*. 2014;155(3):748–757. doi: 10.1210/en.2013-1085.
42. Khailova L, Frank DN, Dominguez JA, Wischmeyer PE. Probiotic administration reduces mortality and improves intestinal epithelial homeostasis in experimental sepsis. *Anesthesiology*. 2013;119(1):166–177. doi: 10.1097/ALN.0b013e318291c2fc.
43. Podoprigora G, Comunian L, Pimentel E, Moura L, Cara D, Nicoli J, et al. Stimulatory effect of Bifidobacteria on the host mononuclear phagocyte system using gnotobiotic animal models. *Anaerobe*. 1999;5(3):509–512.
44. Nebot-Vivinus M, Harkat C, Bziouche H, Cartier C, Plichon-Dainese R, Moussa L, et al. Multispecies probiotic protects gut barrier function in experimental models. *World J Gastroenterol*. 2014;20(22):6832–6843. doi: 10.3748/wjg.v20.i22.6832.
45. Nair V, Soraisham AS. Probiotics and prebiotics: role in prevention of nosocomial sepsis in preterm infants. *Int J Pediatr*. 2013;2013:874726. doi: 10.1155/2013/874726.
46. Theodorakopoulou M, Perros E, Giamarellos-Bourboulis EJ, Dimopoulos G. Controversies in the management of the critically ill: the role of probiotics. *Int J Antimicrob Agents*. 2013;42 (Suppl):S41–44. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2013.04.010.
47. Victoni T, Coelho FR, Soares AL, de Freitas A, Secher T, Guabiraba R, et al. Local and remote tissue injury upon intestinal ischemia and reperfusion depends on the TLR/MyD88 signaling pathway. *Med Microbiol Immunol*. 2010;199(1):35–42. doi: 10.1007/s00430-009-0134-5.
48. Muhlbauer M, Perez-Chanona E, Jobin C. Epithelial cell-specific MyD88 signaling mediates ischemia/reperfusion-induced intestinal injury independent of microbial status. *Inflamm Bowel Dis*. 2013;19(13):2857–2866. doi: 10.1097/01.MIB.0000435445.96933.37.
49. Yoshiya K, Lapchak PH, Thai TH, Kannan L, Rani P, Dalle Lucca JJ, et al. Depletion of gut commensal bacteria attenuates intestinal ischemia/reperfusion injury. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2011;301(6):G1020–1030. doi: 10.1152/ajpgi.00239.2011.

50. Deitch EA. Multiple organ failure. Pathophysiology and potential future therapy. *Ann Surg.* 1992;216(2):117–134. PMC1242583.
51. Gortani G, Gregori M, Giannotta A, Barbi E. A «shocking» appendicitis. *Pediatr Emerg Care.* 2013;29(2):233–234. doi: 10.1097/PEC.0b013e318280d80c.
52. Подопригора ГИ, Нарциссов ЯР. Влияние глицина на микроциркуляцию в сосудах брыжейки крыс. *Бюллетень экспериментальной биологии и медицины.* 2009;147:279–283.
53. Belkaid Y, Hand TW. Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell.* 2014;157(1):121–141. doi: 10.1016/j.cell.2014.03.011.
54. Gronlund MM, Gueimonde M, Laitinen K, Kociubinski G, Gronroos T, Salminen S, et al. Maternal breast-milk and intestinal bifidobacteria guide the compositional development of the Bifidobacterium microbiota in infants at risk of allergic disease. *Clin Exp Allergy.* 2007;37(12):1764–1772. doi: 10.1111/j.1365-2222.2007.02849.x.
55. Gronlund MM, Grzeskowiak L, Isolauri E, Salminen S. Influence of mother’s intestinal microbiota on gut colonization in the infant. *Gut Microbes.* 2011;2(4):227–233. doi: 10.4161/gmic.2.4.16799.
56. Fernandez L, Langa S, Martin V, Maldonado A, Jimenez E, Martin R, et al. The human milk microbiota: origin and potential roles in health and disease. *Pharmacol Res.* 2013;69(1):1–10. doi: 10.1016/j.phrs.2012.09.001.
57. Donnet-Hughes A, Perez PF, Dore J, Leclerc M, Levenez F, Benyacoub J, et al. Potential role of the intestinal microbiota of the mother in neonatal immune education. *Proc Nutr Soc.* 2010;69(3):407–415. doi: 10.1017/S0029665110001898.
58. Boumahrou N, Chevaleyre C, Berri M, Martin P, Bellier S, Salmon H. An increase in milk IgA correlates with both pIgR expression and IgA plasma cell accumulation in the lactating mammary gland of PRM/Alf mice. *J Reprod Immunol.* 2012;96(1–2):25–33. doi: 10.1016/j.jri.2012.08.001.
59. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, Ockhuizen T, Schulzke JD, Serino M, et al. Intestinal permeability — a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol.* 2014;14:189. doi: 10.1186/s12876-014-0189-7.
60. Wu R, Dong W, Wang Z, Jacob A, Cui T, Wang P. Enhancing apoptotic cell clearance mitigates bacterial translocation and promotes tissue repair after gut ischemia-reperfusion injury. *Int J Mol Med.* 2012;30(3):593–598. doi: 10.3892/ijmm.2012.1044.

КОНТАКТНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Подопригора Геннадий Игнатьевич, доктор медицинских наук, профессор кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова, директор НИИ цитохимии и молекулярной фармакологии
Адрес: 115404, Москва, ул. 6-я Радиальная, д. 24, стр. 14, **тел.:** +7 (495) 327-49-87, **e-mail:** gipodoprigora@yandex.ru

Кафарская Людмила Ивановна, доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Адрес: 115404, Москва, ул. 6-я Радиальная, д. 24, стр. 14, **тел.:** +7 (495) 327-49-87, **e-mail:** likmed@mail.ru

Байнов Николай Алексеевич, кандидат медицинских наук, доцент кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Адрес: 115404, Москва, ул. 6-я Радиальная, д. 24, стр. 14, **тел.:** +7 (495) 327-49-87, **e-mail:** e-mail: vonib@mail.ru

Шкопоров Андрей Николаевич, кандидат медицинских наук, старший научный сотрудник кафедры микробиологии и вирусологии РНИМУ им. Н.И. Пирогова
Адрес: 115404, Москва, ул. 6-я Радиальная, д. 24, стр. 14, **тел.:** +7 (495) 327-49-87, **e-mail:** a.shkoporov@gmail.com