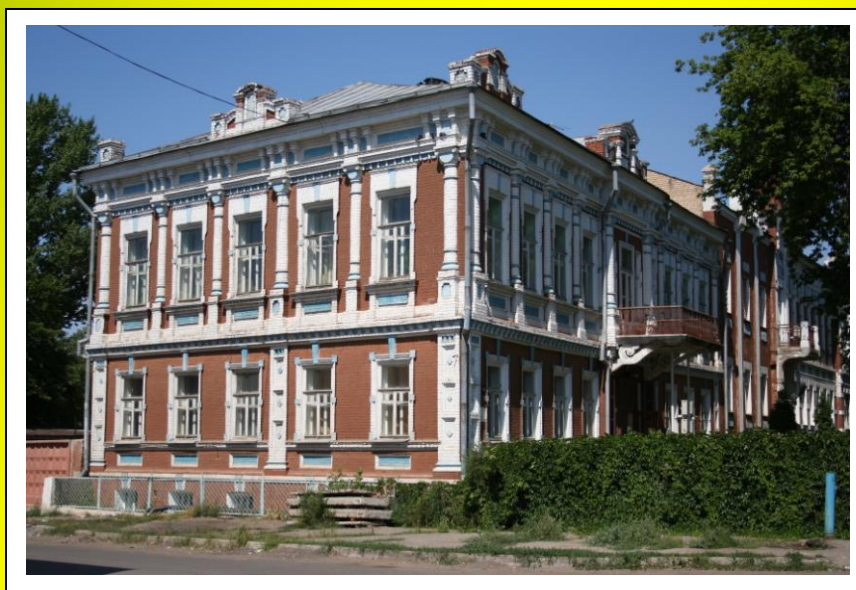


ISSN 2304-9081

Учредители:
Уральское отделение РАН
Оренбургский научный центр УрО РАН

Бюллетень
Оренбургского научного центра
УрО РАН
(электронный журнал)



2013 * № 3

On-line версия журнала на сайте
<http://www.elmag.uran.ru>

© В.М. Бондаренко, 2013

УДК 616-022.7

В.М. Бондаренко

МЕХАНИЗМЫ ТРАНСЛОКАЦИИ БАКТЕРИАЛЬНОЙ АУТОФЛОРЫ В РАЗВИТИИ ЭНДОГЕННОЙ ИНФЕКЦИИ

НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи, Москва, Россия

Представлена проблемная статья о механизмах транслокации микроорганизмов собственной микробиоты из экологической ниши во внутреннюю среду организма хозяина. Полученные данные привели к очевидному выводу об общности патогенеза многих заболеваний человека и значительно изменили наши представления о роли аутофлоры, обуславливающей развитие эндогенной инфекции. Симбионтные микроорганизмы, колонизирующие пристеночную зону слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, организованы в сообщества, получившие название биопленок. При дисбиотическом состоянии, нарушающем защитный транслокационный и иммунный барьеры слизистой оболочки, формируются новые ассоциативные микробиоценозы, обладающие патогенным потенциалом. Ассоцианты, объединенные в новые биопленки, способны вызвать развитие инфекционного процесса вплоть до метастазирования в различные органы и ткани. Дальнейшая судьба микроорганизмов аутофлоры, транслоцировавших во внутреннюю среду организма хозяина, тесно связана с функцией врожденного иммунитета и патогенным потенциалом инфекта.

Ключевые слова: желудочно-кишечный тракт, микробиота, слизистая оболочка, бактериальная транслокация, защитные барьеры, эндогенная инфекция.

Bondarenko V.M.

MECHANISMS OF A TRANSLOCATION OF BACTERIAL AUTHORFLORA IN DEVELOPMENT OF ENDOGENOUS INFECTIONS

Gamaleya Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Moscow, Russia

Problem article about the mechanisms of a translocation of owner author microflora from ecological niche to internal organs of macroorganism. The obtained data have led to an obvious conclusion about a generality pathogenesis of many infectious processes and have considerably changes our representations about a role of microbiotic authorflora, causing development endogenous infections. Symbiotic microorganisms colonizing a mucous membranes of human gastrointestinal tract are organized in the communities which have received the name of biofilms. At mrcrobiota dysbiotic conditions breaking protective translocation and immune barriers of a mucous membrane, are formed new associative microbiocenosis, possessing pathogenic potential. Associants united in new biofilms, are capable to cause development of infectious process up to metastasis in various human organs and tissues. The further destiny of microorganisms were translocated in the internal environment of host organism is closely connected with function of native immunity and pathogenic potential of infection agents.

Key words: gastro-intestinal tract, microbiota, mucous membrane, bacterial translocation, protective barriers, endogenous infection.

Успехи, достигнутые в последние два десятилетия в области генетики, молекулярной микробиологии и микроэкологии, расшифровка механизма развития воспалительных заболеваний, привели к очевидному выводу об общности патогенеза многих заболеваний человека и значительно изменили наши представления о роли аутофлоры, обуславливающей развитие эндогенной инфекции [1, 2]. При изучении природы токсического инфекционного процесса было показано, что это наиболее крайнее состояние больного организма, часто проявляющееся с высокими случаями летальности, несмотря на все усилия современной терапии [3, 4].

Общие понятия и термины. С позиции общей биологии нормальная аутофлора рассматривается как совокупность микробных биоценозов различных биотопов открытых полостей организма хозяина. Под биотопом или «местом жизни» (*от греч.: bióte – жизнь и tópos – место*) в микроэкологии принято считать участок слизистой оболочки, кожи или орган организма хозяина с однотипными условиями существования для заселяющих его микроорганизмов. Под биоценозом (*от греч. bióte – жизнь и koinós – общий*) подразумевают совокупность разных видов микроорганизмов, населяющих данный биотоп, характеризующихся определенными взаимоотношениями между собой, а также приспособленностью к данным условиям обитания [5-8]. Биотоп и биоценоз вместе образуют экосистему, в контексте данной статьи это экосистема желудочно-кишечного тракта. В микроэкологии существуют такие понятия, как биота и микробиота (*от греч. bióte – жизнь и micrós – малый*), экологическая ниша, локализация. Следует отметить, что все микроорганизмы, обитающие в том или ином биотопе, находятся между собой в сложных симбиотических взаимоотношениях, связанных с синтезом различных факторов адаптации и антагонистической активности в ассоциации с определенными трофическими цепями [7, 9-12]. При этом микроорганизмы каждого вида занимают в этой цепи определенное место, обозначаемое термином экологическая ниша, который отражает функциональную роль каждого вида в данной экосистеме. Заселение симбионтами определенных участков слизистых оболочек открытых полостей организма сопряжено с термином – локализация. Характеризуя микрофлору биотопа, часто используют термины: популяция и сообщество. Под популяцией имеют в виду совокупность особей одного вида, занимающих определенный биотоп и обладающих общим генофондом. Под сообществом подразумевают скопление нескольких популяций

различных видов микроорганизмов. Сообщества микроорганизмов образуют биоценоз определенного биотопа и вместе с организмом хозяина формируют постоянные или временные экосистемы. Внутри экосистем популяции и сообщества микроорганизмов образуют свои экологические ниши [5-7]. При этом симбионтные микроорганизмы, колонизирующие пристеночную зону слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, организованы в сообщества, получившие название биопленок. Под бактериальной биопленкой подразумевают микробное сообщество, в котором адсорбированные на поверхности и друг к другу бактериальные клетки заключены в матрицу внеклеточных полимерных субстанций, продуцируемых микроорганизмами в соответствии с уровнем развития популяции и условиями транскрипции генов. Формирование бактериальной биопленки способствует выживанию микроорганизмов в определенном биотопе организма хозяина и зависит от их регуляторной системы, обозначенной как QS (Quorum Sensing – чувство кворума) [8, 13].

Интересные данные недавно были получены при электронной микроскопии ультратонких срезов биопленки однородных и смешанных микробных сообществ бифидобактерий, лактобацилл, лактококков, энтерококков, стафилококков, псевдомонад, различных видов энтеробактерий и дрожжей рода *Candida*, выращенных на соответствующих плотных питательных средах. Выявлено, что бактерии защищены комплексом оригинальных поверхностных структур, объединяющих все клетки в единую систему, при этом эти же структуры обеспечивают контакт с внешней средой, как отдельных клеток, так и бактериального сообщества в целом. Следует отметить, что структура, находящаяся с наружной стороны биопленки - поверхностная пленка, одновременно выполняет и защитную, и объединяющую микробное сообщество функции. Основным элементом поверхностной пленки является трехслойная мембрана, ультратонкое строение которой соответствует универсальной плазматической мембране. Поверхностная пленка, наряду с трехслойной мембраной, включает дополнительные структуры в виде аморфных полисахаридных слоев, образующихся с внутренней или с внешней, а в некоторых случаях, и с обеих сторон одновременно. Выявлено экранирование бактериальных клеток в биопленке полисахаридными слоями межклеточного матрикса, заполняющими толщу компактного микробного сообщества [13].

Позитивная роль и патогенный потенциал симбионтной аутофлоры.

Позитивную роль микрофлоры кишечника трудно недооценить: регуляция газового состава кишечника и других полостей организма; морфокинетическое действие (у безмикробных животных снижена митотическая активность энтероцитов, скорость их миграции по микроворсинкам); продукция энзимов, участвующих в метаболизме белков, углеводов, липидов, нуклеиновых кислот; продукция биологически активных соединений (витамины, антибиотики, гормоны и др.); участие в водно-солевом обмене, в рециркуляции желчных кислот, холестерина и других макромолекул (кишечные микроорганизмы не только способны разрушать, модифицировать молекулу холестерина, но могут синтезировать данный стерин, а также вызывать деструкцию и трансформацию желчных кислот, стероидных гормонов); мутагенная/антимутагенная роль; детоксикация экзогенных и эндогенных субстратов и метаболитов (процесс детоксикации идет по нескольким направлениям: биотрансформация с образованием нетоксичных конечных продуктов; микробная трансформация, сопровождающаяся образованием метаболитов, подвергающихся быстрой деструкции в печени; изменение полярности соединений, приводящее к изменению скорости их экскреции в окружающую среду или транслокации из кишечника в кровяное русло); обеспечение колонизационной резистентности и участие в неспецифической стимуляции иммунокомпетентных клеток и тканей (адьювантно-активные соединения, имеющие в качестве действующего начала ЛПС и мурамилдипептид, образуются из нормальной микрофлоры кишечника человека под воздействием лизоцима и других литических агентов, постоянно присутствующих в просвете кишечника [6, 9, 10, 14-17]).

Известна и негативная роль кишечной микрофлоры: пищевые токсикоинфекции (отравление продуктами, обсемененными патогенными микроорганизмами и бактериальными токсинами), конкуренция с хозяином за питательные вещества при массивном росте бактерий, источник эндогенной инфекции и хранилище микробных генов, включая геномные «острова» патогенности [9, 18, 19]. Скорее всего развитие воспалительного процесса, вызванного факультативной дисбиозной аутофлорой, тесным образом связано с формированием биопленок, концентрация клеток возбудителя в которых достигает плотности 10^6 - 10^9 клеток/см², что в дальнейшем определяет развитие инфекции с образованного своего рода “плацдарма” атакующих организм

сгруппированных патогенов [1, 2, 9].

Данные последних лет свидетельствуют об определяющем значении иммуногенетического статуса макроорганизма, факторов окружающей среды и дисбиозной кишечной микрофлоры в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника, причем последней отводится важная этиологическая роль [1, 9, 16, 20-24]. Ранее на гнотобионтах было показано, что колиты не развиваются в стерильных условиях содержания животных; у человека воспалительные заболевания кишечника наблюдаются в биотопах с максимальной концентрацией микроорганизмов. Более того, терминальные отделы кишечника (подвздошная, слепая и прямая кишка) являются зонами относительного стаза, что создает условия для продолжительного контакта слизистой с кишечным содержимым. Повышенная проницаемость слизистой играет определяющую роль в поддержании состояния хронического воспаления вследствие генетической предрасположенности и/или в результате прямого контакта с бактериями и продуктами их жизнедеятельности. Основными факторами, способствующими развитию воспалительных заболеваний кишечника, являются отсутствие толерантности к симбиотической микрофлоре, несостоятельность барьерной функции кишечника, нарушение функции иммунорегуляторных клеток. Все они, тем не менее, взаимосвязаны и могут быть одновременно и причиной, и следствием [7, 9, 16, 17].

Барьерная функция кишечника. Эпителию слизистой оболочки принадлежит решающая роль в организации барьера между хозяином и окружающей средой. Этот барьер состоит из трех относительно автономных барьеров (физического, врожденного иммунного и адаптивного иммунного), защищающих организм от вторжения и системного распространения как патогенных, так и комменсальных микроорганизмов. Надо отметить, что эпителиальная поверхность слизистых оболочек характеризуется наличием фолликулярных образований, содержащих определенные специализированные клетки, названные М-клетками, которые из просвета полости постоянно захватывают микроорганизмы и представляют их дендритным клеткам, которые распознают поглощенное и, мигрируя в эффекторные участки иммунной системы, формируют иммунный ответ. Комменсальные микроорганизмы принимают активное участие в формировании структурно-функциональной организации слизистой и ее иммунной системы, при этом кишечный барьер обеспечивает комбинацию реактивных и защитных механизмов, которые

достигают определенного равновесия, препятствующего вторжению комменсальных микроорганизмов внутрь организма, и поэтому создают состояние постоянного (или «физиологического») воспаления. В отличие от комменсалов, энтеропатогенные возбудители активно инвазируют в эпителиоциты и интенсивно стимулируют врожденные механизмы защиты слизистой оболочки и вызывают развитие воспалительных процессов, часто – с разрушением эпителия.

Поврежденный кишечный эпителий может утрачивать барьерные функции с последующей транслокацией микроорганизмов и их токсинов во внутреннюю среду макроорганизма. Восстановление целостности эпителия осуществляется в результате ускоренного деления клеток крипты при участии стволовых клеток, активируемых сигнальными молекулами, в том числе метаболитами нормальной микрофлоры. Образующиеся эпителиальные клетки мигрируют вверх от основания кишечных крипт. Помимо физического барьера, эпителиальная поверхность в ассоциации с факторами врожденного иммунитета и комменсальными микроорганизмами формирует колонизационную резистентность, играющую ведущую роль в индукции и экспрессии адаптивной иммунной реакции слизистой оболочки. Физический барьер эпителиальной поверхности возникает также благодаря слою гликокаликса, который выделяется специальными клетками и покрывает апикальную мембрану эпителия. Толстый слой слизи, состоящий из различных муцинов, формирует дополнительную систему защиты, при этом бокаловидные клетки, продуцирующие муцин, присутствуют как в крипте, так и на ворсинчатом эпителии по всей длине тонкого и толстого кишечника, включая прямую кишку. Физические или химические факторы, а также инфекционные агенты могут индуцировать массивный выброс муцина бокаловидными клетками, причем количество и качество муциновых зерен зависят от характеристик индуктора. Основная функция слизистого слоя – формирование полупроницаемого защитного барьера, что позволяет кишечнику восстанавливаться после повреждения. Показано участие муцинов в адгезии бактерии к энтероцитам кишечника.

Симбионтные бактерии способны преодолевать этот защитный физический барьер, если они синтезируют муциназы и факторы адгезии и колонизации. Основное различие патогенных микроорганизмов от комменсальных заключается в том, что патогены, используя факторы инвазии, достигают апи-

кальной поверхности кишечного эпителия и даже собственной пластинки (*lamina propria*), вызывая нарушение барьерных функций слизистой оболочки.

Гомеостаз эпителия требует постоянного поддержания баланса между реактивностью и толерантностью к микроорганизмам просвета кишечника [25]. Разрушение этого баланса ведет к развитию воспаления кишечника. Регулирующую роль плотности бактериальных популяций микроорганизмов на поверхности слизистой оболочки кишечника играют антибактериальные пептиды и нейтрофилы хозяина. Основной класс таких пептидов – дефенсины, которые можно разделить на два семейства: α -дефенсины и β -дефенсины. Первые синтезируются клетками Панета, которые находятся в основном в тонкой кишке, вторые (β -дефенсины) синтезируются по всему желудочно-кишечному тракту, включая толстую кишку. Вероятно, им принадлежит важная регулирующая роль в контроле численности большинства популяций бактерий. У людей описан также антибактериальный пептид – кателицидин-CL37 (или CAMP), постоянно присутствующий в кишечном эпителии.

В поддержании барьерной функции эпителия слизистой оболочки участвуют и нейтрофилы, привлекаемые к месту инфекции, главным образом, в ответ на градиент СХС-хемокина лиганда 8 (IL-8), который синтезируется эпителиальными клетками в ответ на действие метаболитов микроорганизмов, колонизирующих эпителий. С базальной стороны эпителия по градиенту патогензависимых аттрактантов нейтрофилы могут проникать в просвет полости и проявлять свою антибактериальную функцию. Повышенная экспрессия антибактериальных пептидов, так же, как и привлечение воспалительных клеток, образует один из важнейших эшелонов защиты организма от проникновения микроорганизмов на уровне эпителия [10, 17].

В организации адаптивного иммунного ответа на поверхности слизистой оболочки эпителиальные клетки также принимают активное участие. Эта функция включает взаимодействие клеток эпителия с антигенпрезентирующими и другими лимфатическими клетками. В захвате из просвета полости антигенов (в том числе микроорганизмов) активное участие принимают включенные в эпителиальные фолликулы М-клетки, которые далее представляют захваченные иммуногены лимфоидным тканям слизистой оболочки, которые могут формировать на них иммунные реакции [11, 17, 22].

Отсутствие у М-клеток прикрывающего гликокаликса способствует захвату ими комменсальных бактерий и представление их дендритным клеткам

(DC), в которых небольшое количество бактерий может выживать и вызывать Т-клеточные независимые IgA реакции, объясняющие, как полагают, способность к регуляции количества эндогенных бактерий [10, 26]. Взаимодействия бактерий с лимфоидной тканью слизистой оболочки кишечника представлены ниже на схеме [10].

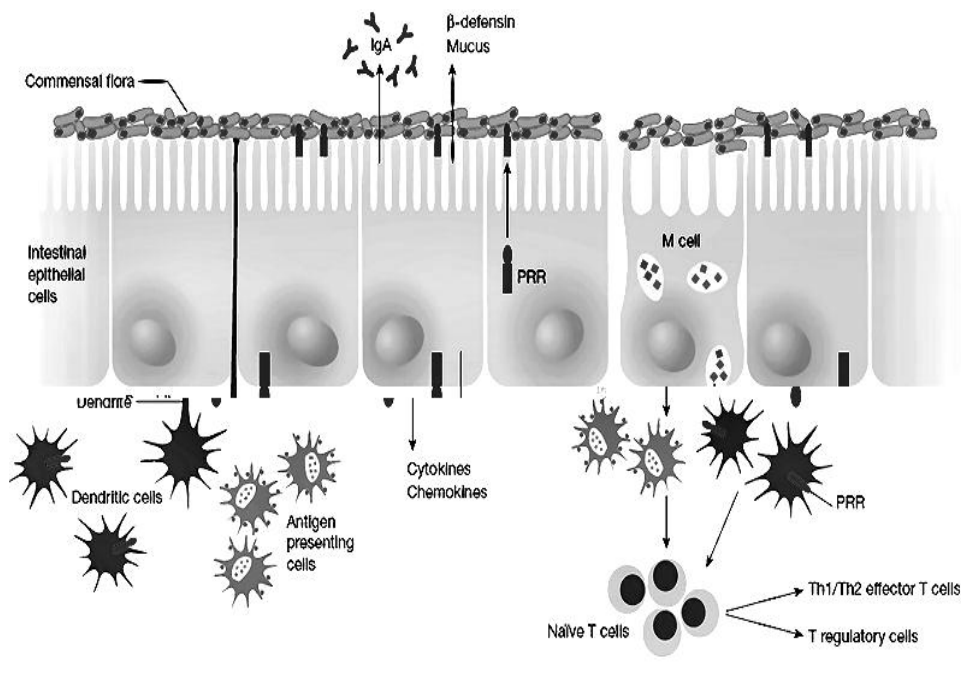


Схема. Взаимодействия бактерий с лимфоидной тканью слизистой оболочки кишечника (O'Hara, F. Shanahan, 2006 [10]).

Эффекторные механизмы слизистой оболочки включают ряд гуморальных (в частности, sIgA) и клеточных (В-клетки, Т-клетки и лимфоциты) факторов, ассоциированных с функцией лимфатической ткани кишечника. Полагают, что для предотвращения развития воспаления, а также чрезмерной реакции, если она возникает, важно, чтобы большая часть кишечной поверхности была защищена от плотного контакта с бактериями и продуктами их жизнедеятельности.

Таким образом, слизистая поверхность находится в постоянном состоянии низкого уровня воспаления, включая слизистую оболочку толстой кишки, испытывающую максимальное давление со стороны огромного количества комменсальных микроорганизмов, не содержащая, как правило, нейтрофилов, являющихся индикаторами кишечного воспаления. Можно полагать, что в условиях нормобиоценоза сигналы, генерируемые кишечной мик-

рофлорой, хотя и воспринимаются иммунокомпетентными клетками, ограничиваются ответной, слабо выраженной, воспалительной реакцией без клинического выражения.

Однако даже симбионтные представители нормальной микрофлоры могут обуславливать состояние бактериемии и аутоиммунных процессов различной локализации, развивающихся на фоне иммунодефицитного состояния и нарушенной барьерной функции кишечника, способствующих транслокации бактерий и их токсинов из просвета кишки в системный кровоток [1, 6, 9, 19]. Проникновению во внутреннюю среду организма хозяина могут способствовать энтеротоксины энтеробактерий, особенно в сочетании с термостабильным эндотоксином грамотрицательных бактерий, с термолабильными энтеротоксинами стафилококков и холероподобными токсинами [27, 28]. Что касается жизнеспособных клеток возбудителя, то именно гематогенный путь обеспечивает поступление транслоцировавших микроорганизмов в отдаленные ткани и органы с возможным развитием полиорганной патологии [1, 2, 6].

Механизмы развития воспалительных заболеваний кишечника.

Прежде чем перейти к рассмотрению возможных механизмов развития эндогенной инфекции, следует остановиться на причинах нарушения микробиоценоза кишечника, являющегося очагом инфекционного процесса. Одной из причин является избыточный рост бактерий, который может наблюдаться в различных отделах (биотопах) желудочно-кишечного тракта. В некоторых случаях наблюдается колонизация желудка и верхних отделов кишечника микроорганизмами вследствие нарушения кислотного барьера желудка. В большинстве случаев наблюдают синдром избыточного роста в тонкой кишке. При этом синдроме происходит колонизация грамотрицательными микроорганизмами тонкой кишки вследствие нарушения кишечного клиренса, причинами которого могут быть дефект перистальтики или анатомическая патология кишечника (осложнения хирургических вмешательств, дивертикулы, фистулы), что вызывает механическую задержку эвакуации и застой кишечного содержимого. Нарушение перистальтики связывают с патологией нервно-мышечной системы кишечника, включая миопатию и нейропатию, а также аутоиммунные, инфекционные, эндокринные и онкологические заболевания [14, 29]. Описанные изменения на организменном уровне могут привести не только к синдрому избыточного роста в тонкой кишке, но и к нарушению толерантности к резидентной аутофлоре, что влечет за собой необра-

тимые последствия на клеточном и молекулярном уровнях – воспаление слизистой, нарушение барьерной функции, транслокацию бактерий и эндотоксинов из просвета кишечника в лимфатические узлы и системный кровоток со смертельными осложнениями по типу острого панкреатита, перитонита или сепсиса [15, 30, 31].

Бактериальная транслокация. Полагают, что механизм толерантности к симбиотической микрофлоре кишечника в основном определяется толерантностью к эндотоксину грамотрицательных бактерий и/или липотейхоевым кислотам и пептидогликану грамположительных микроорганизмов. Этот феномен является наиболее значимым для формирования устойчивого микробиоценоза, и, в то же время, наименее изученным. В эксперименте на лабораторных животных толерантность к эндотоксину можно воспроизвести путем ежедневной инъекции нетоксичных доз ЛПС – в этом случае формируется ранняя, преходящая фаза толерантности. Поздняя фаза толерантности более продолжительная и наступает через 72 часа: она специфична для гомологичного эндотоксина, может быть индуцирована инъекцией бактерий или ЛПС и перенесена от иммунизированного животного к неиммунизированному с помощью сывороточной фракции. Эта поздняя толерантность основана на формировании антител к ЛПС грамотрицательных бактерий. При ежедневной наработке ЛПС бактериями, происходящей в кишечнике человека с момента его рождения, обе фазы толерантности существуют одновременно. Ранняя фаза толерантности не зависит от серологических механизмов иммунного ответа и является следствием клеточных механизмов. Первичная инъекция ЛПС провоцирует освобождение цитокинов. Эта реакция практически отсутствует при последующих инъекциях ЛПС чувствительным лабораторным животным и человеку. Установление толерантности характеризуется подавлением синтеза ФНО- α и ИЛ-1 – основных медиаторов патогенного провоспалительного действия эндотоксина [6, 12]. Кроме того на кишечных эпителиальных клетках человека показано, что хроническое воздействие ЛПС ингибирует продукцию ИЛ-8 – основного хемоаттрактанта, инициирующего воспалительную реакцию в ответ на стимуляцию ФНО и ИЛ-1, причем этот процесс происходит независимо от функции Toll-рецепторов, участвующих в распознавании эндотоксина [3, 6]. Тем не менее, ЛПС не влияет на другие воспалительные пути, функционирующие независимо от ИЛ-8, в частности на секрецию ИЛ-6 и последующую индукцию трансэпите-

лиальной миграции нейтрофилов в ответ на инвазию, например, сальмонеллами. На самом деле, кишечные эпителиальные клетки продуцируют ИЛ-6, но почти не синтезируют ИЛ-1 и ФНО- α . Кроме того преимущественное воздействие имеет трансформирующий фактор роста, обладающий выраженными толерогенными свойствами и способностью к регуляции продукции IgA, который вносит свой вклад в задержку развития классического воспаления [6]. Толерантность может быть преодолена увеличением количества ЛПС, вводимого или поступающего в кровоток из кишечника при избыточном росте грамотрицательных бактерий. Повышение уровня эндотоксинов в кровотоке может быть вызвано поступлением в организм гепатотропных ядов, препятствующих детоксикации ЛПС в печени, а также может быть связано с иммунодефицитным состоянием. Толерантность к аутомикрофлоре кишечника, эволюционно формировавшаяся миллионы лет, является частью естественного иммунитета млекопитающих. Она может быть индуцирована даже у адреналэктомированных животных, лишенных способности синтезировать кортикостероиды – сильнейшие ингибиторы провоспалительных цитокинов, и для ее преодоления необходим мощный стимул, а точнее, совокупное воздействие ряда патогенетических факторов.

Нарушение барьерной функция кишечника. Одним из наиболее значимых в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника и системных осложнений является состояние барьерной функции кишечника. От функциональной стабильности эпителиального слоя зависит подавление транслокации бактерий аутофлоры и их токсинов в лимфу и системный кровоток. В меньшей степени это касается патогенных бактерий, таких как шигеллы, сальмонеллы, листерии, энтероинвазивные кишечные палочки, которые способны проникать непосредственно в цитоплазму кишечных эпителиоцитов. На этом пути бактерии транспортируются в отдельных везикулах от апикальной к базолатеральной поверхности эпителиальных клеток и захватываются субэпителиальными макрофагами, которые обеспечивают включение иммунного ответа [3, 5, 6]. Однако некоторые виды микроорганизмов способны проникать через межклеточное пространство [32, 33]. Более того, если эпителий кишечника воспален и/или изъязвлен, то микроорганизмы и, тем более, продукты из жизнедеятельности, беспрепятственно пересекают эпителиальный барьер и достигают лимфоцитов собственной пластинки и, наконец, брызжеечных лимфоузлов. Дальнейшая их судьба зависит от состояния

иммунитета организма [11, 17]. В здоровом организме моментально включается иммуновоспалительный механизм, нацеленный на быструю элиминацию проникших патогенов при развитии фазы острого воспаления, с последующей столь же быстрой коррекцией воспаления – противовоспалением [3, 10].

На проницаемость эпителиального кишечного барьера влияет множество факторов: острая эндотоксемия, окислительный стресс, клеточная гипоксия, подавление метаболизма, увеличение кислотности, экспозиция NO (оксид азота), провоспалительные цитокины, бактериальные токсины, парентеральное питание, протеолитические ферменты, состояние клеток глии, массивная кровопотеря, термальное поражение и др. [6, 7, 34]. Воспалительные заболевания кишечника недаром называют болезнями проницаемости, так как характерное для них повышение проницаемости кишечника коррелирует со степенью поражения. Для того чтобы выяснить, является ли увеличение проницаемости первичным дефектом, или оно вызвано воспалением и повреждением слизистой, указанные параметры, а также секреция цитокинов была изучена у мышей, дефицитных по ИЛ-10. У животных, выращенных в стандартных условиях, уже в двухнедельном возрасте выявлялось повышение проницаемости кишечного барьера в подвздошной и толстой кишке, однако гистологические признаки воспаления при этом отсутствовали. Этот первичный дефект проницаемости был связан с повышенной секрецией провоспалительных цитокинов ИФ- γ и ФНО- α . Проницаемость барьера оставалась повышенной в процессе нарастания воспаления. У мышей-нокауты, выращенных в стерильных условиях, признаки воспаления отсутствовали, проницаемость оставалась в пределах нормы, как и уровень цитокинов.

Многочисленные исследования свидетельствуют о тяжелом иммунологическом дисбалансе при неспецифическом язвенном колите, болезни Крона, что проявлялось в усилении выработки провоспалительных цитокинов (ФНО- α , ИФ- γ , ИЛ-1, ИЛ-6, ИЛ-12), отсутствующих в условиях естественной толерантности, и снижении синтеза противовоспалительных цитокинов (ИЛ-4, ИЛ-10, ИЛ-11), приводящих в итоге к агрессивному иммунному ответу на нормальную кишечную микрофлору. Было предпринято несколько попыток обнаружить специфический микробный агент, вызывающий воспалительные заболевания кишечника, но безрезультатно. Анализ кишечной микрофлоры больных людей выявил различия ее состава по сравнению со здоровыми лицами. При болезни Крона отмечалось повышение количества бактерий пред-

ставителей родов *Bacteroides*, *Eubacterium* и *Peptostreptococcus* при значительном снижении *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* [9], а при язвенном колите отмечена увеличенная концентрация различных анаэробных бактерий [15, 16, 21]. Генетические факторы, несомненно, играют определяющую роль при энтеропатии. Есть данные, что предрасположенность к болезни Крона связана с фенотипом CaRD-15 и мутацией гена NOD-2, результатом которой является дефект синтеза ИЛ-10 мононуклеарами крови в ответ на стимуляцию Toll-рецепторов бактериальными иммуномодуляторами и клетками бактериоидов, что опосредует неконтролируемое воспаление [35].

Следует отметить чрезвычайно важный факт, который имеет отношение и к генетическим факторам, и к дефекту проницаемости. У здоровых лиц, имеющих родственные отношения первой степени с пациентами, страдающими болезнью Крона, выявлено нарушение кишечной проницаемости в 10-30% случаев. В этой же группе риска, характеризующейся повышенной проницаемостью барьера, в 100% случаев обнаружены признаки антигенной иммунной стимуляции, тогда как ни один из родственников с нормальной проницаемостью таковыми не обладал. Это означает, что у родственников первой степени с предсуществующим дефектом барьерной функции, в дальнейшем может развиваться болезнь Крона после экспозиции с определенными антигенами окружающей среды [17, 35].

Наиболее уязвимым звеном в обеспечении эпителиального кишечного барьера является состоятельность клеточных контактов. Это всецело энергозависимый процесс, который определяется структурно-функциональной стабильностью митохондрий, поставляющих энергию в форме АТФ при окислительном фосфорилировании. Препараты, разобщающие окислительное фосфорилирование в митохондриях, являются стрессовыми провоцирующими факторами, дестабилизирующими белки цитоскелета, участвующие в формировании контактов. В резекционных образцах тканей при болезни Крона, а также у лабораторных животных, подверженных метаболическому стрессу, выявлено нарушение митохондриальных структур, понижение уровня АТФ в воспаленных тканях больных с отсутствием гистологических признаков воспаления [15]. Не исключена возможность того, что дефект митохондрий предрасполагает индивидуума отвечать на резидентную симбиотическую микрофлору, как на угрожающий провоспалительный стимул.

В эксперименте на модели эпителиоидных клеток Т-84, подверженных

метаболическому стрессору динитрофенолу, показано, что непатогенные неинвазивные *E. coli* C25 вызывают нарушение проницаемости энтероцитов и индуцируют синтез ядерного фактора NF- κ B с последующей продукцией хемоаттрактанта ИЛ-8, что провоцирует развитие воспалительного ответа [36]. Непатогенный штамм комменсал *E. coli* C25 также индуцировал вакуолизацию и набухание митохондрий в клетках T-84, активацию ядерного фактора с последующим нарушением барьерной функции и проявлением бактериальной транслокации через клеточный монослой [33, 37]. Одним из медиаторов этих процессов является ФНО- α , который значительно усиливал транслокацию *E. coli* C25 через монослой клеток кишечного эпителия [38].

В развитии воспалительной реакции на микробные антигены задействованы различные типы иммунокомпетентных клеток слизистой кишечника: макрофаги, T- и B-лимфоциты, NK-клетки (естественные киллеры). NK-клетки и макрофаги являются первичными мишенями при бактериальной стимуляции. Им отводится ведущая роль в защите организма от кишечных микробных антигенов. Есть данные, что лактобациллы способны активировать моноциты/макрофаги с индукцией ФНО- α и ИЛ-12. Подобно ИФ- γ , ИЛ-12 обеспечивает природный антибактериальный иммунитет, способствуя созреванию эффекторных клеток в NK и CD8⁺ клетки, осуществляющие адаптивный иммунный ответ. Лактобациллы также могут активизировать NK-клетки периферической крови человека с индукцией ИФ- γ [15]. Участие NK-клеток в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника пока мало изучено, но его нельзя исключить по следующим причинам: во-первых, благодаря синтезу интерферона, нарушающего проницаемость кишечного барьера, и, во-вторых, вследствие их способности мигрировать в любые ткани и вызывать воспалительный ответ, изначально нацеленный на элиминацию возбудителя. Кроме того возможно развитие аутоагрессии с участием не только клеток моноцитарно/макрофагального ряда, но и NK-клеток. Их роль в механизме аутоиммунных поражений подтверждается многочисленными фактами роста числа и цитолитической активности этих клеток при системных заболеваниях соединительной и нервной тканей: ревматоидный артрит, системная красная волчанка, рассеянный склероз [17, 24]. Возможно, дальнейшие исследования, нацеленные на изучение роли NK-клеток при воспалительных заболеваниях кишечника и ряде других системных заболеваниях, помогут, наконец, выяснить истинный патогенез вышеупомянутых заболеваний и, со-

ответственно, определить наиболее действенные методы их лечения.

Как и почему развиваются хронические с торпидным клиническим течением воспалительные заболевания? Несмотря на обилие информации, ответ на эти основные вопросы остается неизвестным. С одной стороны, генетическая предрасположенность, нарушение иммуновоспалительной толерантности, несбалансированный ответ на собственные микробные антигены, с другой – нарушение энергообеспечения нормальных функций, в том числе и барьерной. Что первично: дефект проницаемости или воспаление? Нарушение проницаемости может индуцировать воспаление, но и продукция воспалительных медиаторов может усугубить дефект проницаемости. Повышение проницаемости является основной причиной массивной транслокации бактерий и их токсинов из просвета кишечника в лимфу и системный кровоток. При этом облегчается проникновение из просвета кишечника в организм практически любого из представителей аутомикрофлоры.

Следует обратить внимание на следующие основополагающие аксиомы: во-первых, продукция провоспалительных цитокинов при воспалительных заболеваниях кишечника повышена в отсутствие гистологических признаков воспаления; во-вторых, последнее не означает отсутствия воспаления на молекулярном уровне; в третьих, в норме эпителиальные клетки кишечника толерантны к резидентной микрофлоре, ЛПС грамотрицательных бактерий, липотейхоевой кислоте и пептидогликану грамположительных бактерий, то есть они не отвечают на соответствующую стимуляцию активацией провоспалительного каскада (индукцией NF-κB и последующим синтезом провоспалительных цитокинов); и в четвертых, на воспаление расходуется практически вся энергия клеток и организма. Изначально активированные иммунные клетки вследствие энергодефицита неспособны адекватно реагировать на последующий патогенный стимул. Это известный в науке факт: чтобы ответить, необходима энергия. Любая антигенная стимуляция вызывает поступление ионов Ca^{2+} в клетки из окружающих тканей, преимущественно из костной, в результате чего развивается остеопороз. Учитывая медленное, постепенное развитие воспалительных заболеваний кишечника, хроническое течение с выраженными обострениями, связанными со стрессом (эмоциональные и физические нагрузки), в этом случае, по-видимому, имеет место постепенное накопление количественных изменений, постоянно поддерживающих состояние воспаления, кульминацией чего является дефект

барьерной функции кишечника и иммунной системы, транслокация бактерий и продуктов их жизнедеятельности из кишечника в кровоток, что, в конце концов, приводит к полиорганной патологии [38-40].

Транслокацию бактерий из кишечника в кровоток у человека определить сложно, однако существуют косвенные свидетельства в пользу таковой. У экспериментальных животных нарушение кишечного барьера с последующей транслокацией может быть индуцировано различными патологическими состояниями, включая геморрагию, травму, термальное поражение, парентеральное питание, ишемию кишечника и закупорку желчных протоков, панкреатит, резекцию печени, эндотоксемию, радиационную и цитотоксическую терапию, воспаление. Более того, эндотоксин определяется в крови экспериментальных животных после различных стрессов – ишемия верхней брызжеечной артерии, термальное поражение, артериальная гипоксемия. Антисыворотка против эндотоксина повышает выживаемость животных при ишемии кишечника, геморрагическом шоке, облучении и термальном поражении [6]. Термальное поражение крыс, вызванное ожогом, индуцировало транслокацию бактерий и эндотоксина (уровень последнего в воротной вене повышался до 300 пг/мл при норме меньше 20), а также способствовало повышению чувствительности купфферовских клеток к ЛПС. Увеличение уровня аланин-трансаминазы у ожоговых животных свидетельствовало о поражении печени. В клетках печени крыс в 4 раза повышался уровень ФНО- α и в 2 раза – уровень катионов кальция. Деконтаминация кишечника антибиотиками предотвращала отмеченные нарушения и летальность, а поражение почек после ожога коррелировало с нарушением барьерной функции кишечника у крыс, эндотоксемией и бактериемией [6, 10, 39].

Транслокация бактерий из кишечника в кровоток может индуцировать воспаление и негативно воздействовать на защитные механизмы удаленных органов. Так, например, ишемия кишечника у крыс вызывала поражение легких. При этом также отмечалось нарушение кишечного барьера, увеличение количества бактерий, ЛПС и ФНО- α в крови. Предварительная антимикробная санация кишечника в значительной степени снижала исследуемые показатели [6]. Метронидазол и ципрофлоксацин показали свою эффективность в лечении воспаления толстой кишки [31]. Одним из известных примеров транслокации бактерий в брызжеечные лимфоузлы и перитонеальную полость у человека являются септические осложнения аппендицита. Инфекци-

онный некроз поджелудочной железы, вызванный кишечными бактериями, лежит в основе развития панкреатогенного сепсиса: при остром панкреатите отмечается значительное увеличение проницаемости кишечного барьера, что коррелирует с эндотоксемией [30].

Существует прямая связь между воспалением кишечника и артропатией, которая может быть индуцирована не только патогенными микроорганизмами, но и симбиотической факультативной нормофлорой, способной поддерживать хронический воспалительный процесс в условиях потери толерантности и нарушения кишечного барьера. Предполагается участие кишечной микрофлоры также в патогенезе системных заболеваний соединительной ткани, например, анкилозирующего спондилоартрита, при котором не удастся окончательно идентифицировать специфический микробный агент [23]. В развитии идиопатической болезни Паркинсона показано участие нервной системы кишечника и дорзальных ядер блуждающего нерва. Предполагают, что причиной этого заболевания является не центральная нервная система, а пока еще не идентифицированный возбудитель, способный проходить слизистый барьер желудочно-кишечного тракта и далее через постганглионарные кишечные нейроны и демиелинизированные волокна достигать ядер блуждающего нерва и ЦНС, поднимаясь выше по мозговому стволу в подкорковые ядра, и, наконец, в кору головного мозга. Нельзя также исключить и гематологический путь проникновения бактерий и токсинов в периферическую и центральную нервную систему, учитывая тот факт, что эндотоксин способен разрушать гематоэнцефалический барьер [31].

Наиболее тяжелая и трудно диагностируемая полиорганный патология может возникать в результате сочетанного воздействия различных видов микроорганизмов. Не только патогенные бактерии, вирусы, грибы и их токсины, но также компоненты микробов-комменсалов (например, пептидогликаны лактобацилл и сенной палочки), способны многократно усиливать токсичные эффекты эндотоксина, вызывая синергическое увеличение генерации кислородных радикалов и провоспалительных цитокинов со всеми вытекающими последствиями, вплоть до летального эффекта. Показано 1000-кратное усиление действия эндотоксина энтеробактерий при одновременном внутрибрюшинном введении в организм мышей стафилококкового энтеротоксина [28]. Выявлен и альтернативный диареегенный механизм действия эндотоксина грамотрицательных бактерий – дозозависимая экспрессия цитокинов и

молекул адгезии на эпителиоцитах в собственной пластинке тонкого кишечника сопровождается активацией нейтрофилов, макрофагов и эозинофилов с выходом лейкоцитов из сосудов и инфильтрацией ими кишечной стенки и развитием инфекционно-воспалительного типа диареи. Широко обсуждается участие ЛПС грамотрицательных бактерий в поддержании липидного дистресс-синдрома и прогрессировании атеросклероза [29, 41].

Недавно детально обсуждена проблема развития эндогенной оппортунистической инфекции [3]. Известно, что на каждом участке эпителиальных покровов имеется характерная для него микрофлора, к которой организм формирует местную толерантность. Стабильность симбиотической микрофлоры осуществляется с помощью клеток естественного и адаптивного иммунитета и эпителиальных клеток, которые активируются через образраспознающие рецепторы [26, 38, 40, 42]. В гомеостаз включены многообразные процессы, начиная с создания слизистого слоя на эпителии, регуляции реакций в эпителиальных клетках и субэпителиальной лимфоидной ткани, где синтезируются специфические молекулы IgA, которые, проходя через эпителий, присоединяют молекулу белка и превращаются в секреторные антитела, резистентные к разрушению ферментами. Активированные через образраспознающие рецепторы эпителиальные клетки Панета, продуцируют различные антимикробные соединения, главными из которых являются дефенсины. Миграция через эпителиальный слой нейтрофилов также опосредуется активацией эпителиальных клеток через образраспознающие рецепторы. Формирование местной толерантности к части нормальной микрофлоры является, несомненно, защитной реакцией организма, направленной на поддержание в нем стабильного микробиоценоза.

Установлено, что формирование местной толерантности происходит в первые месяцы жизни ребенка, при его начальном контакте с микрофлорой и продуктами питания, через так называемое первичное воспаление, захватывающее всю субэпителиальную лимфоидную ткань. Для развития местной толерантности необходимо многократное повторное введение малых доз антигена при этом в формировании местной толерантности важную роль играют супрессия образраспознающих рецепторов в ответ на контакт с микробом и регуляторные Т-лимфоциты, особенно CD3⁺, CD4⁺ и CD25⁺ клетки [3, 17]. Синергизм частично объясняет тяжелое клиническое течение при смешанных бактериальных инфекциях по сравнению с заболеванием, вызванным одним

видом возбудителя.

В заключение следует отметить, что расшифрованные механизмы микробной транслокации из просвета кишечника в системный кровоток свидетельствуют о широком распространении этого феномена. Однако дальнейшая судьба микроорганизмов, транслоцировавших во внутреннюю среду организма хозяина, тесно связана с функцией врожденного иммунитета и степенью патогенности или апатогенности инфекта.

Литература

1. Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий кишечника в полиорганной патологии человека. М.: Изд-во «Триада», 2007. 64 с.
2. Бондаренко В.М. Роль условно-патогенных бактерий при хронических воспалительных процессах различной локализации. М.: Изд-во «Триада», 2011, 88 с.
3. Лебедев К.А., Понякина И.Д. Иммунофизиология эндогенных инфекций (определяющая роль образующих рецепторов). Аллергол. иммунол. 2006. 2: 207-213.
4. Савельев В.С., Гельфанд Б.Р. Сепсис в начале XXI века. М.: «Литерра», 2006. 176 с.
5. Бондаренко В.М. Микрофлора человека: норма и патология. Наука в России. 2007. 1: 28-35.
6. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль транслокации кишечной бактериальной аутофлоры и ее токсических биомолекул в патологии человека. Эксперим. клин. гастроэнтерол. 2007. 5: 86-93.
7. Бухарин О.В. От персистенции к симбиозу микроорганизмов. Журн. микробиол. 2012. 4: 4-9.
8. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Добрица В.П. Атлас ультраструктуры микробиоты кишечника человека. Изд-во СПб.: ИИЦ ВМА. 2008. 102 с.
9. Бондаренко В.М., Мацулевич Т.В. Дисбактериоз кишечника как клинико-лабораторный синдром: современное состояние проблемы. М.: Изд-во «ГЭОТАР-медия», 2007. 304 с.
10. O'Hara, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. EMBO reports. 2006, 7: 688-693.
11. Sansonetti P. War and peace at mucosal surfaces. Immunology. 2004. 4: 953-964.
12. Verda E.F., Collins S.M. Microbial-gut interactions in health and disease. Immune responses. Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol. 2004. 18 (2): 271-285.
13. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М. Образование биопленок симбионтными представителями микробиоты кишечника как форма существования бактерий. Вестник СПбГУ. 2013. 11 (1): 179-186.
14. Парфенов А.И., Бондаренко В.М. Что нам дал вековой опыт познания симбионтной кишечной микрофлоры. Арх. пат. 2012. 2: 21-25.
15. Hooper L.V., Wong M.H., Thelin A. et al. Molecular analysis of commensal host-microbial relationship in the intestine. Science. 2001. 291 (5505): 881-884.
16. MacDonald T.T., Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. Science. 2005. 307 (5717): 1920-1925.
17. Pamer E.C. Immune responses to commensal and environmental microbes. Nat. Immunol. 2007, 8 (11): 1173-1178.
18. Бондаренко В.М. «Острова» патогенности бактерий. Журн. микробиол. 2001. 4: 67-74.
19. Бондаренко В.М., Петровская В.Г. Ранние этапы развития инфекционного процесса и двойственная роль нормальной микрофлоры. Вестник РАМН. 1997. 3: 7-10.
20. Husebye E. The pathogenesis of gastrointestinal bacterial overgrowth. Chemotherapy. 2005. 51 (Suppl. 1): 1-22.
21. Inoue S., Nakase H., Chiba T. Etiopathogenesis and aggravating factors in ulcerative colitis. Nippon Rinsho. 2005. 63 (5): 757-762.

22. Neutra M.R., Sansonetti P. In: Microbial pathogenesis and the intestinal epithelial cell (ed. Hecht G.A.). ASM Press. Washington DC. 2003, p. 23-42.
23. Reveille J.D., Arnett F.C. Spondyloarthritis: update on pathogenesis and management. *Am. J. Med.* 2005. 118 (6): 592-603.
24. Sartor R.B. Review article: role of the enteric microflora in the pathogenesis of intestinal inflammation and arthritis. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1997. 11 (Suppl. 3): 17-22.
25. Петров Л.Н., Вербицкая Н.Б., Добрица В.П. и др. Бактериальные пробиотики. Биотехнология, клиника, алгоритм выбора. СПб.: Изд-во ФГУП Гос. НИИ ОЧБ, 2008. 136 с.
26. Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Esmali-Varzaeh F. et al. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors for intestinal homeostasis. *Cell.* 2004. 118 (2): 229-241.
27. Рыбальченко О.В., Бондаренко В.М., Фальчук Е.Л. и др. Действие холерогена и протамина на плотные контакты энтероцитов и колоноцитов крыс. *Журн. микробиол.* 2012. 6: 3-7.
28. Рябиченко Е.В., Бондаренко В.М. Механизмы синергического летального действия ЛПС энтеробактерий и стафилококкового энтеротоксина. *Журн. микробиол.* 1998. 4: 80-85.
29. Бондаренко В.М., Гинцбург А.Л., Лиходед В.Г. Микробный фактор и врожденный иммунитет в патогенезе атеросклероза. Тверь: Изд-во «Триада», 2013, 96 с.
30. Ammori B.J. Role of the gut in the course of severe acute pancreatitis. *Pancreas.* 2003. 26 (2): 122-129.
31. Linskens R.K., Huijsdens X.W., Savelkoul P.H. et al. The bacterial flora in inflammatory bowel disease: current insights in pathogenesis and the influence of antibiotics and probiotics. *Scand. J. Gastroenterol.* 2001. 234 (Suppl.): 29-40.
32. Bruewer M., Luegering A., Kucharzik T. Proinflammatory cytokines disrupt epithelial barrier function by apoptosis-independent mechanisms. *Am. J. Physiol.* 2004. 286: G367-G376.
33. Clark E., Hoare C., Tanianis-Hughes J. Interferon gamma induces translocation of commensal *Escherichia coli* across gut epithelial cells via a lipid raft-mediated process. *Gastroenterology.* 2005. 128 (5): 1258-1267.
34. Nazli A., Yang P., Jury J. et al. Epithelia under metabolic stress perceive commensal bacteria as a threat. *J. Immunol.* 2003. 171: 6164-6172.
35. Halme L., Turunen U., Paavola-Sakki P. CARD15 frameshift mutation in patients with Crohn's disease is associated with immune dysregulation. *Scand. J. Gastroenterol.* 2004. 39 (12): 1243-1249.
36. Haller D., Blum S., Bode C. et al. Activation of human peripheral blood mononuclear cells by nonpathogenic bacteria in vitro: evidence of NK cells as primary targets. *Infect. Immun.* 2000. 68 (2): 2752-2759.
37. Zareie M., Riff J., Donato K. Novel effects of the prototype translocating *Escherichia coli*, strain C25 on intestinal epithelial structure and barrier function. *Cell Microbiol.* 2005. 7 (12): 1782-1797.
38. Ma T., Iwamoto G., Hoa N. TNF-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability requires NF-kappaB activation. *Am. J. Physiol.* 2004. 286: G367-G376.
39. Fink M., Mythen M. In: The role of gut-derived endotoxin in the pathogenesis of multiple organ dysfunction. (ed. H. Brade et al.). New York-Basel. 1999: 855-865.
40. Fukata M., Michelsen K.S., Eri R. Toll-like receptor-4 is required for intestinal response to epithelial injury and limiting bacterial translocation in a murine model of acute colitis. *Am. J. Physiol.* 2005. 288 (5): G1055-G1065.
41. Савельев В.С., Петухов В.А. Липидный дистресс-синдром. Руководство для врачей. М.: МАКС Пресс. 2010. 660 с.
42. Medzhitov R. Toll-like receptors and innate immunity. *Nat. Rev. Immunol.* 2001. 1 (2): 135-145.

Поступила 24.07.2013

(Контактная информация: **Бондаренко Виктор Михайлович** - д.м.н., профессор, заведующий лабораторией НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи; E-mail: bvmz@yandex.ru)