

МЕХАНИЗМЫ ФОРМИРОВАНИЯ ТОЛЕРАНТНОСТИ К МИКРОФЛОРЕ В БАРЬЕРНЫХ СИСТЕМАХ КИШЕЧНИКА: ОСОБЕННОСТИ ИММУННОГО РЕАГИРОВАНИЯ В ПЕРВОЙ БАРЬЕРНОЙ СИСТЕМЕ

© 2020 г. М. М. Зиганшина^{a, *}, Е. О. Халтурина^{a, b, **}, Е. С. Зыкова^{b, ***},
П. С. Обухова^{a, c, ****}, Г. Т. Сухих^{a, *****}

^aНациональный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии
им. акад. В.И. Кулакова Минздрава России, Москва, 117997 Россия

^bПервый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) Минздрава России,
Москва, 119435 Россия

^cИнститут биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова
РАН, Москва, 142290 Россия

*e-mail: mmz@mail.ru

**e-mail: jane_k@inbox.ru

***e-mail: zykova.e.s@yandex.ru

****e-mail: anruma@yandex.ru

*****e-mail: g_sukhikh@oparina4.ru

Поступила в редакцию 02.04.2020 г.

После доработки 10.05.2020 г.

Принята к публикации 20.06.2020 г.

Толерантность к индигенной микрофлоре кишечника обеспечивается за счет функционирования эволюционно отработанных механизмов иммунитета, которые позволяют сосуществовать генетически различным видам на принципах симбиоза. Несмотря на многолетнюю историю изучения феномена толерантности к представителям нормальной микрофлоры кишечника, механизмы развития иммунопатологии более исследованы, чем механизмы формирования кишечного гомеостаза. В обзоре представлены данные о факторах, участвующих в развитии и поддержании толерантности в зоне первой барьерной системы — зоне непосредственного контакта индигенной микрофлоры с кишечным эпителием. Внимание акцентировано на особенностях секретов эпителиальных клеток кишечника, их рецепторного аппарата, в том числе, составе гликокаликса кишечного эпителия и роли этих факторов в развитии толерантности к нормобиоте.

Ключевые слова: иммунологическая толерантность, барьерные системы кишечника, микрофлора кишечника, эпителий кишечника, М-клетки, гликокаликс кишечного эпителия, α 1,2-фукогликаны, углевод-белковое взаимодействие

DOI: 10.31857/S0301179820040074

ВВЕДЕНИЕ

Взаимоотношения в сообществе макроорганизм–микробиота имеют древнюю историю, жизненно важны для обеих частей этой системы и представляют собой научный и практический ин-

терес. За последние годы стремительно увеличивается количество работ по изучению плейтропного влияния микробиома (симбионты и комменсалы) в контексте здоровья и заболеваний человека, позволяя рассматривать микробиом как сложную экосистему, в которой огромное ко-

Сокращения — PAMP — патоген-ассоциированный молекулярный паттерн, образ патогенности PRRs — рецепторы распознавания образов, DAMP — патоген-ассоциированный молекулярный паттерн, связанный с образом опасности, MALT — лимфоидная ткань слизистых оболочек, GALT — ассоциированная с кишечником лимфоидная ткань, MUC2 — высокогликозилированный муцин 2 типа, TFF3- фактор трилистника 3, RELM β — резистин-подобная молекула- β , REGIII γ — регенерирующий островковый белок III γ , Lypd8 — Lyp6/PLAUR домен, EGF — эпидермальный фактор роста, sPLA2 — секреторные фосфолипазы A2, pIgR — рецептор полимерного иммуноглобулина, SCFA — жирные кислоты с короткой цепью, ГАМК — гамма-аминомасляная кислота, LPS — липополисахарид, LTA — липотейхоевая кислота, BAFF — фактор активации В-клеток, IL — интерлейкин, TGF β — трансформирующий фактор роста- β , TSLP — тимусный стромальный лимфопоэтин, TLR — Толл-подобные рецепторы, IFN — интерферон, TNF — фактор некроза опухолей, Th — Т-хелперы, Treg — Т-регуляторные клетки, Vreg — В-регуляторные клетки, PGRPs — пептидогликан-распознающие гликопротеины.

личество микроорганизмов постоянно взаимодействует друг с другом, а также с клетками, органами и системами макроорганизма, используя эволюционно закрепленные коммуникативные механизмы. Многие современные исследователи рассматривают микрофлору как экстракорпоральный орган, как основу для нормального функционирования всех органов и систем организма. С возрождением и углублением понятия “биопленка”, введенного впервые И.И. Мечниковым, возрождается и взгляд на микрофлору, как на основу здоровья человека.

Микрофлора организма человека чрезвычайно разнообразна и колонизирует все имеющиеся биотопы. Общая численность микробов, населяющих организм человека, во много раз превышает численность его собственных клеток и составляет $\sim 10^{15}$. Однако наибольшее количество микроорганизмов обитает в желудочно-кишечном тракте (ЖКТ) (60% от общего количества микробов) и представлено более чем 500 видами микробов, общая масса которых колеблется от 2 до 5 кг. Наиболее населенными являются нижние отделы тонкого кишечника и толстый кишечник.

Совокупность микроорганизмов кишечника здорового человека составляет индигенную или нормальную микрофлору кишечника, которая находится в состоянии симбиотических взаимодействий (форма взаимодействий между организмами, при котором хотя бы один из них получает пользу) с организмом хозяина. Принято считать, что представители индигенной микрофлоры являются комменсалами (термин, часто встречающийся в научной литературе, означающий, что связь между двумя организмами разных видов выгодна для одного из них, но не влияет на другого), однако исследования последних лет свидетельствуют, что между хозяином и представителями нормофлоры устанавливается мутуализм (связь, взаимовыгодная для обоих организмов) [33, 40]. В данном обзоре для обозначения представителей нормальной микрофлоры мы используем более широкий термин “симбионты”, поскольку комменсализм и мутуализм — являются частным случаем симбиотических взаимоотношений, но оба типа связи (не ограничиваясь комменсализмом) могут присутствовать во взаимоотношениях хозяин—микроорганизм.

Симбионты несут множество антигенов, которые являются чужеродными для человека, однако не вызывают иммунный ответ, направленный на их элиминацию. К настоящему времени накоплено значительное количество данных, свидетельствующих о том, что иммунная система хозяина дифференцирует чужеродные антигены симбионтов и патогенов, но реагирует на них по-разному: формированием толерантности — в первом, и раз-

витием эффекторных реакций элиминации — во втором случае [4, 29, 54].

С позиции основных постулатов иммунологии, чужеродный антиген, представляющий собой патоген-ассоциированный молекулярный паттерн (“PAMP”), распознается клетками врожденного иммунитета, и вызывает последующую специфическую активацию лимфоцитов, их пролиферацию с формированием антиген-специфических клонов Т- и В-клеток, активизирует реакции антителообразования. Основываясь на этих принципах, чужеродный антиген всегда распознается и элиминируется. Иммунологическое объяснение феномена “холобионта” — феномена сосуществования как единого целого организма-хозяина и целого сообщества микроорганизмов [56] присутствует в теории опасности/повреждения (danger/injury theory), согласно которой эффекторные механизмы иммунного ответа на “чужое” развиваются в условиях повреждения/клеточного стресса, при их распознавании совместно с неоантигенами или образами опасности (“DAMP” — danger associated molecular pattern), которые образуются при гибели и/или повреждении клетки, или воздействии стрессорных факторов [31]. В норме в микроокружении симбионтов повреждающие стимулы не генерируются, формируется толерогенный фенотип, на чужеродный антиген развивается иммунологическая толерантность [32]. Кроме того, микробиота является хранилищем микробных генов, обмениваясь генетическим материалом с клетками хозяина. В результате этого микробиота приобретает рецепторы и другие антигены, присущие хозяину и делающие ее “своей” для иммунной системы макроорганизма. Эпителиальные ткани в результате такого обмена приобретают бактериальные антигены.

Установлено, что формирование толерантности к симбионтам является комплексным процессом, в котором участвует множество клеточных и гуморальных факторов, образующие несколько барьерных систем в слизистой кишечника. Во взаимодействии факторов внутри и между барьерами обеспечивает функционирование регуляторных механизмов, поддерживающих гомеостаз в кишечнике [44].

1. БАРЬЕРНЫЕ СИСТЕМЫ КИШЕЧНИКА

Первая барьерная система образована различными типами эпителиальных клеток, которые отделяют просвет кишечника от субэпителиального слоя (MALT — mucosa associated lymphoid tissue). Эпителиальные клетки слизистой кишечника гетерогенны. Эпителий ворсин представлен клетками нескольких типов, которые имеют толстый слой гликокаликса и покрыты слизью, содержащей различные муцины. Слой клеток, покрываю-

ших Пейеровы бляшки, образует связанный с фолликулом эпителий, и содержит в своем составе высокоспециализированные М-клетки, которые имеют редуцированный гликокаликс и лишены слизи. Бактериальные антигены контактируют с кишечным эпителием, и интерфейсом для взаимодействий между ними является гликокаликс бактериальной и эпителиальной клетки, в зоне которого осуществляются начальные контакты. На первой барьерной линии находится также часть внутриэпителиальных лимфоцитов, представленных разными типами иммунных клеток с преобладанием Т-лимфоцитов и В1-лимфоцитов. Они осуществляют защиту на первой линии контакта с бактериями, формируя эффектор-ные сайты [23, 39]. В зоне первой барьерной линии также находятся тучные клетки — долгоживущие гранулированные иммунные клетки, способные адаптировать свой фенотип и функцию к микроокружению, в котором они находятся. Основная масса тучных клеток локализована в слизистых оболочках. В кишечнике они преимущественно локализованы в пластинке слизистой и в подслизистой оболочке [3].

Второй барьерной системой является лимфоидная ткань, ассоциированная с кишечником, состоящая из Пейеровых бляшек, лимфоидных фолликулов, брыжеечных лимфоузлов и лимфатических сосудов (GALT — gut-associated lymphoid tissue). Внутриэпителиальные лимфоциты, находящиеся на первой линии и распределенные по эпителию и в *lamina propria* кишечника, относятся ко второй барьерной системе. Контакт с антигенами осуществляется на первой линии, а также посредством транспортных М-клеток, захватывающих антиген и доставляющих его из первой во вторую барьерную систему [1].

2. ФАКТОРЫ, СПОСОБСТВУЮЩИЕ ФОРМИРОВАНИЮ ТОЛЕРАНТНОСТИ В ЗОНЕ ПЕРВОЙ БАРЬЕРНОЙ СИСТЕМЫ КИШЕЧНИКА

Эпителиальные клетки кишечника, их секреторные продукты и транспорт IgA

Эпителиальные клетки кишечника формируют физический и биохимический барьер, на котором осуществляются контакты с индигенной микрофлорой. За счет секреторной активности ряда эпителиальных клеток осуществляется синтез и секреция муцинов, регуляторных белков и антимикробных пептидов (дефензинов и пр.). Наиболее значимые секреторные продукты, оказывающие протективное, регуляторное и бактерицидное действие: высокогликозилированный муцин MUC2, фактор трилистника 3 (TFF3), резистин-подобная молекула- β (RELM β), регенерирующий островковый белок III γ (REGIII γ),

Lyp6/PLAUR домен 8 (Lypd8), эпидермальный фактор роста (EGF), прото-онкогенные белки Wnt 3, дельта-подобный лиганд Notch сигнального пути (Dll4) и антимикробные пептиды — дефензины, кателицидины, секреторные фосфолипазы A2 (sPLA2) и лизоцим [24]. У мышей линии *Muc2*^{-/-} с генетически детерминированным дефицитом MUC2 наблюдается спонтанное развитие колита и предрасположенность к колоректальному раку, что свидетельствует о регуляторной и протективной роли MUC2 в отношении кишечного эпителия [63]. Фактор TFF3 обеспечивает структурную стабилизацию муцинового слоя, восстановление эпителия, защиту от апоптоза, а белок RELM β — стимуляцию секреции MUC2, регуляцию реакций макрофагов и Т-клеток при развитии воспаления. Антимикробные пептиды нарушают целостность клеточной мембраны или изменяют метаболические пути бактериальной клетки, что приводит к ее гибели. Комплексное воздействие секреторных продуктов кишечных эпителиальных клеток реализуется в отборе бактерий и значительном сокращении количества живых бактерий, которые, в создавшемся микроокружении, способны взаимодействовать с кишечным эпителием и иммунными клетками хозяина [24].

Также, одним из способов регуляции видового разнообразия пристеночных симбионтов и защиты от патогенов является способность эпителиальных клеток кишечника транспортировать секреторные IgA через эпителиальный барьер к апикальной мембране и далее в просвет кишечника посредством взаимодействия с рецепторами полимерных иммуноглобулинов (pIgR), которые локализованы на базолатеральной поверхности [47]. Основное количество транспортируемого таким образом IgA находится в связанном с антигенами симбионтов состоянии [58, 62]. Установлено, что часть общего пула IgA, транспортируемого эпителием, имеет в своем составе низкоаффинные полиреактивные IgA, синтезируемые В1-клетками Т-независимым способом, и высокоаффинные IgA специфичные антитела, синтезируемые В2-клетками Т-зависимым способом [17, 59]. Было показано, что IgA, генерируемые в результате Т-зависимого и Т-независимого синтеза, связываются с разными видами симбионтов. В частности, полиреактивные IgA связываются с широким спектром бактериальных антигенов и оказывают селективный гомеостатический нейтрализующий эффект, который определяет отсутствие воспалительной реакции на пристеночные симбионты, а высокоаффинные IgA связывают более узкий репертуар антигенов, которые ассоциированы с условно-патогенной флорой [12, 30]. В соответствии с этим, представленность высоко-/низкоаффинных антител у конкретного индивидуума определяет состав и представлен-

ность симбионтов в кишечнике, что свидетельствует о регуляторном влиянии IgA на численность и состав микробиоты. Исследователями Kubinak и Round был предложен термин “антитело-опосредованная иммуноселекция”, которым обозначают процесс естественного отбора симбионтов внутри организма хозяина, опосредованный влиянием антител хозяина на приспособление микроорганизмов к выживанию в барьерных системах кишечника и его влиянии на экологию и эволюцию микроорганизмов. У генетически близкородственных особей формируется персональный репертуар антител, который определяет иммуноселекцию и создание уникального микробного сообщества в кишечнике у конкретного индивидуума [30].

Регуляторные метаболиты симбиотических бактерий

Кроме секретов эпителиальных клеток кишечника, гомеостаз эпителиального барьера также поддерживается метаболитами симбиотических бактерий, которые стимулируют эпителиальные клетки и регулируют их функции. К регуляторным метаболитам относятся лактат, жирные кислоты с короткой цепью (SCFA): ацетат, пропионат и бутират, а также гамма-аминомасляная кислота (ГАМК). Доказаны системные функции микробиоты, которые осуществляются путем реализации дистанционных и внутриклеточных взаимодействий. Дистанционные взаимодействия поддерживаются за счет обмена метаболитами (сигнальными молекулами микробиотического происхождения). ГАМК – антистрессорный медиатор, продуцируется в больших количествах бактериальной микрофлорой, особенно бифидобактериями, образует единый пул с эндогенной фракцией ГАМК и непосредственно воздействует на нервные окончания в желудочно-кишечном тракте, стимулируя также эпителиальные клетки кишечника, которые высвобождают молекулы, модулирующие нейротрансдукцию в энтеральной нервной системе, оказывая влияние на мозг и поведение макроорганизма [2]. Также, установлено, что *Bifidobacterium longum*, облигатный анаэроб, производит ацетат, который защищает эпителий от апоптоза, вызванного токсином O157 [19]. Ацетат регулирует дифференцировку бокаловидных клеток, синтез ими муцинов и декорирование О-цепей MUC2 терминальной сиаловой кислотой. Установлено, что в кишечном эпителии стерильных мышей выявлена сниженная экспрессия целого спектра гликозилтрансфераз, ответственных за биосинтез О-гликанов муцина MUC2, в частности *Fut2*. С этим фактом связан биосинтез укороченных О-гликанов в составе углеводных цепей MUC2, что ассоциируется с отсутствием симбиотических бакте-

рий, которые используют определенные гликаны в качестве питательных субстратов и сайтов прикрепления к эпителию [5]. Важное значение для эпителиального гомеостаза кишечника имеет бутират, продуцируемый *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Faecalibacterium prausnitzii* и рядом других симбиотических бактерий. Функция бутирата заключается в регуляции пролиферации эпителиальных (в т.ч. стволовых) клеток кишечника, через воздействие на регуляторные гены и транскрипционные факторы [24].

Рецепторный аппарат эпителиальных клеток кишечника как инструмент иммунного надзора над симбионтами и патогенами

Способность эпителиальных клеток кишечника выполнять барьерную функцию первой линии контакта с представителями микрофлоры (бактерии, вирусы, грибы, простейшие и пр.) и преобразовывать полученные антигенные сигналы в иммунорегуляторные взаимодействия или иммунный ответ на чужеродные антигены обусловливается их рецепторным аппаратом, а именно рецепторами распознавания образов патогенности и/или образов опасности (PRRs). Эпителиальные клетки кишечника экспрессируют широкий репертуар PRRs, которые относятся преимущественно к рецепторам проведения сигнала и принадлежат семействам Толл-подобных рецепторов, *Toll-like-receptor*, TLR (TLR1-TLR5, TLR9-TLR11), RIG-I-подобных рецепторов, *RIG-I-like receptors*, RLR (RIG-1, MDA5) и NOD-подобных рецепторов, *Nod-like-receptor*, NLR (NOD1, NOD2). Их подробный репертуар, а также адаптерные белки описаны в публикации [47]. Микробные лиганды или паттерны (PAMPs), распознаваемые PRRs, не являются уникальными, и присутствуют как у патогенов, так и у симбионтов. Однако в случае патогенов, взаимодействие молекулярных паттернов с PRRs ведет к развитию эффекторных реакций распознавания с последующей элиминацией патогена. В ситуации с симбионтами – роль PRRs заключается в запуске репаративных процессов и поддержании гомеостаза эпителиального барьера, что было продемонстрировано у *TLR2*^{-/-}, *TLR4*^{-/-} и *MyD88*^{-/-} дефицитных мышей, которые получали сочетанную антибиотикотерапию в модели экспериментального колита, индуцированного введением натрия декстран сульфата. Отсутствие у мышей микрофлоры сопровождалось высокой летальностью, но введение мышам лигандов TLRs – LPS (липополисахарида) и LTA (липотейхоевой кислоты) активировало экспрессию TLRs и вызывало стабилизацию эпителиального барьера и повышало выживаемость мышей [50].

Несмотря на схожесть структуры молекулярных паттернов симбионтов и патогенов, эпители-

альные клетки кишечника способны их дифференцировать. Предположительно, один из механизмов, используемый для этого, основан на селективной экспрессии TLRs на апикальной и базолатеральной мембране клетки. Например, инициация сигналов через поверхностный или эндосомальный TLR9 на апикальной поверхности эпителиальных клеток кишечника способствует ингибированию передачи сигналов по NF-κB пути, но передача сигналов от TLRs на базолатеральной поверхности, напротив, способствует активации NF-κB сигнального пути [47].

Показано, что TLRs-основанный сигналинг активирует защитные механизмы, основанные на экспрессии белков теплового шока, лигандов рецептора эпидермального фактора роста, активации экспрессии и синтеза TFF3, что оказывает цитопротективный эффект, вызывает активацию репаративных реакций и повышает устойчивость клеток к апоптозу [9, 49, 50]. Аналогичным путем активируется синтез муцинов и антимикробных пептидов, что усиливает барьерную функцию эпителия. Также, синтезируется спектр иммунорегуляторных молекул, воздействующих на иммунные клетки второй барьерной системы (лиганд, индуцирующий пролиферацию (APRIL), фактор активации В-клеток (BAFF), IL-25, ретиноевая кислота, трансформирующий фактор роста-β (TGFβ) и тимусный стромальный лимфопоэтин (TSLP)) [47]. Протективные эффекты TLRs- и NOD1- и NOD2-опосредуемых сигнальных путей, иницируемые лигандами симбионтов, также осуществляются через белки семейства IκB (IKK1 IKK2, NEMO), которые выполняют негативную регуляцию передачи сигнала по NF-κB-сигнальному пути [25, 42].

Таким образом, лиганд-рецепторные взаимодействия между PRRs на поверхности клеток кишечного эпителия и клеток врожденного иммунитета с молекулярными паттернами симбионтов в норме осуществляют регуляторные реакции, которые поддерживают толерантность к симбионтам. Кроме этого, состояние толерантности также зависит от надмембранного комплекса (гликокаликса), который образован N- и O-цепями гликопротеинов и углеводной частью протеогликанов и гликолипидов клеточной мембраны и ассоциированными с ними свободными гликанами.

α1,2-фукогликаны гликокаликса кишечного эпителия

Исследования последних лет позволили установить, что результат взаимодействия с представителями бактериальной флоры на первой барьерной линии во многом определяется составом гликокаликса кишечного эпителия. В частности, в *in vitro* модели клеток кишечного эпителия (линия клеток Caco-2) было установлено, что диф-

ференцировка эпителиальных клеток кишечника сопровождается изменением их углеводного фенотипа. Высокодифференцированные клетки характеризуются уменьшением содержания гликанов высокоманнозного типа и повышением фукозилированных и сиалированных гликанов комплексного и гибридного типа в составе гликокаликса клетки [45]. Гликаны гликокаликса эпителиальных клеток кишечника, особенно сиало-, сульфо- или фуко-гликаны, используются бактериями в качестве рецепторов для связывания с эпителиальными клетками, что может реализовываться в инфицировании или симбиотических взаимодействиях [7, 23].

Особое значение для формирования толерантности к симбионтам имеет поддержание стабильного уровня экспрессии α1,2-фукогликанов (гликанов, в которых остаток фукозы присоединен в положении α1,2 к терминальному остатку Galβ-). α1,2-фукогликаны выполняют несколько функций в этом аспекте. Во-первых, симбионты, в частности, пристеночные бактерии *Bacteroides thetaiotaomicron*, *Bacteroides fragilis* и сегментированные филаментные бактерии, способны регулировать экспрессию α1,2-фукогликанов. Механизм, посредством которого осуществляется регуляция экспрессии α1,2-фукогликанов пока не ясен, но известно, что для этого необходим непосредственный контакт между эпителием и бактерией. По-видимому, этот факт является указанием на наличие у бактерии необходимых антигенов, стимулирующих экспрессию генов ферментов гликозилирования *Fut1* и *Fut2* в клетках кишечного эпителия. Симбионты вносят позитивный вклад в функционирование эпителиального барьера, поскольку стабильный уровень экспрессии α1,2-связанных фукогликанов является необходимым условием поддержания его гомеостаза. Этот вывод имеет несколько подтверждений. В частности, показано, что стерильные мыши, имеющие нарушения экспрессии *Fut2* и α1,2-фукогликанов, восстанавливают нормальный уровень их экспрессии при заселении кишечника индигенной микрофлорой [10, 41]. Повреждение эпителиального барьера воздействием химических агентов, в том числе лекарственных препаратов, в норме сопровождается повышением экспрессии генов ферментов гликозилирования *Fut1* и *Fut2* и увеличению содержания α1,2-связанных гликанов в составе кишечного эпителия и стабилизации эпителиального барьера [60, 61]. Вероятно также паракринное действие бактериальных продуктов на процессы фукозилирования, поскольку бактерии, имеющие дефекты биосинтеза фукозилированных гликанов в собственной клетке не способны регулировать биосинтез α1,2-фукогликанов в эпителии кишечника хозяина. Все вышесказанное свидетельствует о формировании необходимого микроокружения в эпителии кишеч-

ника, которое способствует индукции экспрессии $\alpha 1,2$ -фукогликанов и регуляторной роли симбионтов в поддержании гомеостаза эпителиального барьера.

Во-вторых, симбиотические бактерии не только участвуют в поддержании постоянного уровня экспрессии $\alpha 1,2$ -фукогликанов в эпителии слизистой кишечника, но и способны утилизировать фукозу, которая синтезируется эпителием и присутствует в составе гликоконъюгатов гликокаликса клетки или в составе растворимых гликанов, поступающих в просвет кишечника. Так *Bacteroides thetaiotaomicron* и *Bacteroides fragilis* продуцируют фукозидазу, отщепляющую фукозу, производимую кишечным эпителием. Симбионты используют ее в качестве питательного субстрата, который включается в биосинтез бактериальных полисахаридов клеточной поверхности [14]. Имеются доказательства, что механизм, основанный на декорировании бактериальных полисахаридов терминальными остатками фукозы, полученными от хозяина, лежит в основе молекулярной мимикрии, с помощью которого симбионты защищаются от иммунной атаки [15]. Также установлено, что фукоза, отщепляемая бактериальными фукозидазами, является одним из факторов, обеспечивающих колонизационную резистентность в условиях развития кишечной инфекции. Моделирование системного воспаления на кишечном эпителии мышей показало, что введение липополисахарида вызывает быстрое увеличение экспрессии $\alpha 1,2$ -фукогликанов и утилизацию фукозы симбионтами. В условиях ограничения поступления питательных веществ с пищей при кишечной инфекции, симбиотические колонии, контактирующие с эпителием, имеют преимущество перед патогенами, которые находятся в просвете кишечника. Т. о. увеличение экспрессии $\alpha 1,2$ -фукогликанов в эпителии регулирует биохимические пути у симбиотических бактерий и снижает экспрессию генов вирулентности [48]. Эти примеры иллюстрируют мутуализм между организмом хозяина и индигенной флорой на первой барьерной линии эпителия, который проявляется не только во взаимовыгодном сосуществовании, но и во взаимовлиянии и взаиморегуляции, что является одним из факторов формирования толерантности к симбионтам.

3. ТУЧНЫЕ КЛЕТКИ КИШЕЧНИКА – МОДУЛЯТОРЫ БАРЬЕРНОЙ ФУНКЦИИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИЯ

Тучные клетки происходят из гемопоэтических стволовых клеток, которые на определенной стадии развития мигрируют в ткани, где завершают свою дифференцировку. Они преимущественно локализованы в эпителиальном барьере слизистых оболочек, где не только контактируют с

патогенами, при их проникновении в организм хозяина, но и постоянно подвергаются соприкосновению с симбионтами и продуктами их жизнедеятельности. Тучные клетки имеют исключительно важную роль в поддержании барьерной функции кишечного эпителия, поскольку установлено, что у мышей Kit^{Wsh/Wsh} с их дефицитом, нарушена барьерная функция и развивается хроническое воспаление кишечника, пищевая аллергия/непереносимость [26]. Этот вывод был также подтвержден на дважды нокаутных мышах с отсутствием тучных клеток и IL-10 (Kit^{Wsh/Wsh} × IL-10^{-/-}), которые по сравнению с мышами IL-10^{-/-} имели значительные проявления хронического воспаления кишечника, что свидетельствует о протективных, противовоспалительных эффектах, оказываемых тучными клетками [34]. Функции, фенотип, функциональные свойства, тип и степень активации тучных клеток зависят от локальной микросреды, в которой они находятся, что определяет их регуляторные/эффекторные свойства и влияет на гомеостатическое равновесие на первой барьерной линии кишечника [20]. Активация тучных клеток сопровождается экспрессией активационных маркеров и синтезом биологически активных молекул: протеаз, гистамина, цитокинов, которые регулируют проницаемость эпителия и эндотелия сосудов для ионов и воды, нейроиммунные взаимодействия, активируют реакции врожденного и адаптивного иммунитета, а также регенеративные/дегенеративные процессы в эпителии и активность эпителиального барьера [4].

Достаточно подробно изучена защитная функция тучных клеток против патогенов, которая развивается вследствие их активации после взаимодействия рецепторов, в частности TLRs, с бактериальными антигенами, и заключается в прямой фагоцитарной активности, высвобождении цитокинов, гистамина и ферментов с противовоспалительной и антибактериальной активностью, а также вторичной активации клеток врожденного и адаптивного иммунитета с развитием эффекторных реакций элиминации, что способствует восстановлению баланса эпителиального барьера [4, 38]. По данным ряда исследований, определенные фенотипы тучных клеток поддерживают поляризацию Т-хелперов (Th) посредством секреции специфических медиаторов, таких как IL-12 и IFN γ для Th1; IL-4 для Th2; IL-6 и TGF β 1 для Th17; и IL-6 и TNF α для Th22 [4]. В то же время они осуществляют негативную регуляцию Т-регуляторных (Treg) клеток через взаимодействие гистамина тучных клеток с H1-рецепторами на их поверхности, что снижает уровень экспрессии активационных маркеров CD25 и Foxp3 [18]. Аналогичная регуляция выявлена при рецепторном контактом взаимодействии тучных клеток с Treg через OX40L-OX40 в присутствии IL-6, который секретируется тучными клетками [11]. Супрессия IL-10-продуцирующих Treg клеток, осуществляемая при участии тучных

клеток, приводит к переключению дифференцировки Th0-клеток на Th17 фенотип, что иллюстрирует способность тучных клеток модулировать T-регуляторный/T-эффекторный фенотипы [36].

Однако, чтобы избежать чрезмерной активации и связанной с этим патологии, реакции тучных клеток на агонисты TLR должны строго регулироваться. В *in vitro* исследованиях установлено, что IL-33 предотвращает восприимчивость тучных клеток к антигенам бактериальных клеток. При этом развивается индуцированная селективная толерантность, которая вызывается взаимодействием IL-33 со своим рецептором, что сопровождается деградацией цитозольной киназы IRAK1. Предполагается что IL-33, продуцируемый при гомеостатических условиях, “удерживает” тучные клетки в невосприимчивом состоянии к бактериальным антигенам клеточной стенки и, таким образом, предотвращает хроническое воспаление и повреждение эпителия и тканей [52].

Важным аспектом регуляции иммунного гомеостаза в зоне первой барьерной системы является их позитивное влияние на выживание и пролиферацию В-лимфоцитов, которое они оказывают посредством секреции цитокинов и хемокинов, а также при высвобождении экзосом, содержащих белки, РНК, растворимые медиаторы, рецепторы FcεRI, белки МНС класса II и костимулирующие молекулы [57]. Тучные клетки регулируют пролиферацию и дифференцировку В-клеток в плазматические клетки, секретирующие не только IgE, который является фактором патогенеза многих заболеваний, но и протективных IgA, путем прямого взаимодействия (CD40/CD40L) и секреции IL-4 и IL-13 в первом случае [46], и секреции IL-6, IL-5 и трансформирующего фактора роста-β (TGF-β), во втором [37], что демонстрирует дуальность их функций в зависимости от условий микроокружения. Установлено, что IgA-секретирующие плазматические клетки в воспаленной слизистой оболочке кишечника находятся в непосредственном контакте с тучными клетками, которые инфильтрируют эти области [36]. Другие цитокины, высвобождаемые тучными клетками, IL-5 и IL-33, участвуют в выработке IgM и играют решающую роль в гомеостазе тканей и защите от патогенных микроорганизмов слизистой оболочки [4, 6].

Толерантность в первой барьерной системе, обуславливаемая IL-10 продуцирующими В-регуляторными клетками (Breg) [8], также, в определенной степени, регулируется тучными клетками. Установлено, что тучные клетки не влияют на экспрессию и синтез IL-10 Breg клетками, но регулируют их экспансию, что также зависит от локального микроокружения. В частности, экзосомы, высвобождаемые тучными клетками, служат сигналами для привлечения Breg клеток [36]. Поскольку Breg клетки являются одним из ключевых факторов, которые обеспечивают толерантность и регулируют иммунную реактивность в

кишечнике [64], влияние тучных клеток на их численность в слизистой оболочке, является важным аспектом поддержания гомеостаза барьерных систем кишечника.

4. М-КЛЕТКИ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО БАРЬЕРА КАК ТРАНСПОРТНЫЕ ЭЛЕМЕНТЫ, СВЯЗЫВАЮЩИЕ ПЕРВУЮ И ВТОРУЮ БАРЬЕРНУЮ СИСТЕМУ КИШЕЧНИКА

М-клетки являются составной единицей фолликул-ассоциированного эпителия купола Пейеровой бляшки и составляют, в среднем, 5–10% от всего кишечного эпителия. М-клетки считаются “иммунонаблюдательными постами” в кишечном эпителии, т. к. являются главными клетками-переносчиками бактериальных антигенов к иммунным клеткам и инициаторами иммунных реакций [1]. Их функция заключается в захвате микробных антигенов и их последующей транспортировке в зону купола Пейеровой бляшки, где происходит контакт с дендритными клетками и дальнейший запуск иммунного ответа, включающий процессирование антигена, его презентацию в комплексе с МНС II класса Т-клеткам с индукцией их дифференцировки и последующей стимуляцией эффекторных механизмов мукозального иммунитета [24]. Несмотря на значительно редуцированный гликокаликс (в сравнении с другими эпителиальными клетками кишечника), М-клетки имеют углеводные лиганды для взаимодействия с бактериальной клеткой. Взаимодействие М-клетки с чужеродным антигеном может иметь как позитивные — развитие клеточного и гуморального иммунного ответа, так и негативные последствия — длительная персистенция вирусов или микробных частиц в М-клетке. Установлено, что состав кишечной микрофлоры изменяется у генетически модифицированных мышей, лишенных М-клеток, что позволяет предполагать важную роль М-клеток как регуляторного и надзорного фактора иммунной системы кишечника [43].

Углевод-белковое взаимодействие в механизмах транцитоза М-клеток

Захват и перенос антигена М-клетками обеспечивается путем специфических и неспецифических механизмов транцитоза. Специфические взаимодействия обуславливаются рецепторами на апикальной поверхности М-клеток для мембранных антигенов микроорганизмов, что позволяет им селективно взаимодействовать с антигенами и избирательно транспортировать их в Пейерову бляшку. Идентифицирован ряд функционально значимых рецепторов М-клеток: рецептор малого С5а-фрагмента С5 конвертазы (С5аR), P2X7R — P2X-пуриноцетоп 7 для АТФ, Toll-подобные рецепторы (в частности TLR-2, TLR-4), α5β1 интегрин, PAF-R-рецептор фактора активации тромбоцитов, дектин-1 [1]. Многие из взаимодействий

протекают по углевод-белковому типу, поскольку осуществляются между эндогенными лектинами М-клеток или бактериальными лектинами и соответствующими гликанами.

М-клетки экспрессируют рецептор для IgA на апикальной поверхности цитоплазматической мембраны — дектин-1 [51]. Транспорт М-клеткой комплекса антигена с секреторным IgA является гликан-зависимым, поскольку дектин-1 относится к лектинам С-типа и специфически связывает β -1,3-глюканы. Коррецептором для транспорта может являться эндогенный лектин Siglec-5, который за счет связывания с остатками сиаловой кислоты углеводной части IgA обеспечивает транспорт комплексов связанных с бактериальными антигенами секреторных IgA через эпителиальный барьер в GALT [22]. Таким путем транспортируются и комплексы антигенов симбионтов с IgA [43]. Иммуный комплекс связывается с дектином-1 М-клеток, транспортируется в *lamina propria* и “передается” дендритной клетке [51]. Связывание иммунного комплекса с дендритной клеткой опосредуется ее лектином DC-SIGN, который специфичен к гликану бактериальной клетки [43].

Рецептором для транцитоза является маркер зрелых М-клеток — гликопротеин GP2, который селективно связывается с бактериальным лектином адгезином FimH, экспрессируемым в области пилей I типа энтеробактерий как симбионтов, так и патогенов [27]. Естественными лигандами для FimH, в частности, уро- и энтеропатогенных штаммов *Escherichia coli*, являются терминальные (α 1,2), (α 1,3) и (α 1,6)-связанные маннозиды, которые входят в состав N-гликанов маннозного типа углеводных цепей гликопротеина GP2 [16, 53].

Аналогичный принцип углевод-белкового взаимодействия лежит в основе распознавания, связывания и иммунного реагирования, опосредуемого пептидогликан-распознающими гликопротеинами (PGRPs) М-клеток, которые специфически узнают патоген-ассоциированные молекулярные паттерны бактерий (PAMPs), в том числе пептидогликан, липополисахарид и другие гликаны. Установлено, что различные варианты PGRPs имеют паттерны экспрессии, характерные для фолликул-ассоциированных эпителиальных клеток (PGRP-L) и для М-клеток (PGRP-S), что было доказано отсутствием солокализации в первом случае, и наличием — во втором, с гликанами, содержащими остатки α 1,2-связанной фукозы [13, 35]. PGRP-S, являясь специфичным маркером М-клеток, обладает полиспецифичностью и связывает мурамилпептиды, β -мальтозу и остатки N-ацетилглюкозамина (GlcNAc-) в составе бактериальных антигенов [55]. При исследовании тканевых препаратов лимфоидной ткани, ассоциированной со слизистой кишечника кролика, было установлено, что в составе гликокаликса М-клеток преобладают α 1,2-фукозилированные гликаны и гликаны с остатками N-ацетилгалакто-

замина (GalNAc α -). Количественное содержание этих гликанов меняется в зависимости от места локализации М-клетки в эпителии Пейеровой бляшки, что свидетельствует о гетерогенности популяции М-клеток. Поскольку в процессе дифференцировки М-клеток происходит их миграция из областей основания и боковых поверхностей бляшки к куполу, то высказываются предположения, что в процессе дифференцировки меняется гликозилирование М-клеток [21]. Вероятно, изменение гликозилирования имеет функциональное значение, т. к. гликаны рецепторной зоны клеток могут взаимодействовать с бактериальными лектинами соответствующей специфичности, а незрелые М-клетки, по-видимому, не имеют соответствующих углеводных лигандов для взаимодействия.

В составе гликокаликса М-клеток также обнаружены гликоконъюгаты с терминальными остатками α 2,3-связанной сиаловой кислоты (α 2,3-сиалозиды). Установлено, что реовирусы типа 1 используют α 2,3-сиалозиды в качестве сайтов связывания с М-клеткой с последующим транспортом к антиген-представляющей клетке. В *in vitro* экспериментах на тканях кишечника кролика было показано, что обработка ткани нейраминидазой или внесение в качестве ингибиторов α 2,3-сиалозидов или лектинов MAL-I и MAL-II, нивелирует взаимодействие реовирусов с М-клеткой [28].

Вероятно, использование углевод-белкового взаимодействия в транспортных механизмах М-клеток имеет длительную эволюционную историю и может пояснить роль М-клеток в развитии толерантности к симбионтам. По-видимому, толерантность к углеводным антигенам симбиотических бактерий, в частности полисахаридам, многие из которых являются толерогенами, индуцируется уже в раннем постнатальном периоде, когда идет заселение кишечника индигенной микрофлорой. Вследствие этого транспорт М-клетками бактериальных полисахаридных антигенов, на которые уже развилась толерантность, не является критическим в дальнейшем, и он не способен инициировать иммунный ответ.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Представленные данные свидетельствуют, что компоненты первой барьерной системы являются определяющими участниками комплекса событий, которые формируют гомеостатическое иммунное равновесие в кишечнике. Сформированные в течение длительных эволюционных взаимоотношений между макро- и микроорганизмами механизмы иммуноселекции позволили сформировать репертуар бактерий, которые составляют нормофлору. Представители нормофлоры существуют не изолированно, а при контактах с барьерным эпителием и ассоциированными с ним клетками входят с ними во взаимовлияющие им-

мунорегуляторные отношения, и поэтому могут рассматриваться в качестве неотъемлемого компонента первой барьерной системы. Необходимо отметить, что современным трендом исследований кишечного гомеостаза последние годы является изучение состава гликокаликса эпителиального барьера и гликанов рецепторной зоны клеток (как бактериальных, так и эукариотических) и установление роли этих факторов в развитии толерантности к нормобиоте и противоинфекционном иммунитете. Показано, что одним из ключевых факторов, характеризующих гомеостаз кишечного барьера в норме, является экспрессия α 1,2-фукогликанов в составе гликокаликса эпителиальных клеток разных типов. Также было продемонстрировано, что состав гликокаликса рецепторной зоны М-клеток определяет статус их зрелости и способность к связыванию с антигенами бактерий, вирусов и грибов. По-видимому, регуляция гликозилирования эпителиальных клеток может быть фактором баланса между толерантностью и иммунным ответом на чужеродные антигены, однако убедительных доказательств этой гипотезы еще не получено, поэтому необходимы дальнейшие исследования в этом направлении.

БЛАГОДАРНОСТЬ

Авторы выражают благодарность профессору д. х. н. Николаю Владимировичу Бовину (ФГБУН «Институт биоорганической химии им. акад. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова» РАН) за замечания и обсуждение при подготовке данной рукописи, а также Хасбиуллиной Наиле Рамилевне (ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. акад. В.И. Кулакова» Минздрава России за помощь в оформлении рукописи. Работа поддержана грантом РФФИ № 19–015–00102А.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Быков А.С., Караулов А.В., Цомартова Д.А., Карташкина Н.Л., Горячкина В.Л., Кузнецов С.Л., Стоногина Д.А., Черешнева Е.В. М-клетки – один из важнейших компонентов в инициации иммунного ответа // *Инфекция и иммунитет*. 2018. Т. 8. № 3. С. 263–272.
2. Юнес Р.А., Полуэктова Е.У., Дьячкова М.С., Козловский Ю.Е., Орлова В.С., Даниленко В.Н. Отбор бактерий-симбионтов рода *Lactobacillus* и *Bifidobacterium* по их способности синтезировать гамма-аминомасляную кислоту – один из подходов в получении психобиотиков // *Вестник Российского университета дружбы народов*. Серия: Экология и безопасность жизнедеятельности. 2016. № 4. С. 67–69.
3. Albert-Bayo M., Paracuellos I., González-Castro A.M., Rodríguez-Urrutia A., Rodríguez-Lagunas M.J., Alonso-Cotoner C., Santos J., Vicario M. Intestinal Mucosal Mast Cells: Key Modulators of Barrier Function and Homeostasis // *Cells*. 2019. Т. 8. № 2. С. 135.
4. Aliberti J. Immunity and tolerance induced by intestinal mucosal dendritic cells // *Mediators Inflamm*. 2016. 3104727.
5. Arike L., Holmén-Larsson J., Hansson G.C. Intestinal Muc2 mucin O-glycosylation is affected by microbiota and regulated by differential expression of glycosyltransferases // *Glycobiology*. 2017. Т. 27. № 4. С. 318–328.
6. Baumgarth N. The double life of a B-1 cell: self-reactivity selects for protective effector functions // *Nat. Rev. Immunol*. 2011. Т. 11. № 1. С. 34–46.
7. Blondel C.J., Hubbard T.P., Pacheco A.R., Kuehl C.J., Walsh M.J., Davis B.M., Gewurz B.E., Doench J.G., Waldor M.K. CRISPR/Cas9 screens reveal requirements for host cell sulfation and fucosylation in bacterial type III secretion system-mediated cytotoxicity // *Cell host & microbe*. 2016. Т. 20. № 2. С. 226–237.
8. Booth J., Jimbo S., Mutwiri G. Novel Bregs down-regulate TLR9-induced cytokine responses in sheep Peyer's patches // *Vet. Immunol. Immunopathol*. 2012. Т. 148. № 1–2. С. 157–160.
9. Brandl K., Sun L., Nepl C., Siggs O.M., Le Gall S.M., Tomisato W., Li X., Du X., Maennel D.N., Blobel C.P., Beutler B. MyD88 signaling in nonhematopoietic cells protects mice against induced colitis by regulating specific EGF receptor ligands // *PNAS*. 2010. Т. 107. № 46. С. 19967–19972.
10. Bry L., Falk P.G., Midtvedt T., Gordon J.I. A model of host-microbial interactions in an open mammalian ecosystem // *Science*. 1996. Т. 273. № 5280. С. 1380–1383.
11. Bullone-Paus S., Bahri R. Mast cells as regulators of T cell responses // *Front. Immunol*. 2015. № 6. С. 394.
12. Bunker J.J., Flynn T.M., Koval J.C., Shaw D.G., Meisel M., McDonald B.D., Ishizuka I.E., Dent A.L., Wilson P.C., Jabri B., Antonopoulos D.A., Bendelac A. Innate and adaptive humoral responses coat distinct commensal bacteria with immunoglobulin A // *Immunity*. 2015. Т. 43. № 3. С. 541–553.
13. Clark M.A., Jepson M.A., Simmons N.L., Booth T.A., Hirst B.H. Differential expression of lectin-binding sites defines mouse intestinal M-cells // *J. Histochem. Cytochem*. 1993. Т. 41. № 11. С. 1679–1687.
14. Comstock L.E., Kasper D.L. Bacterial glycans: key mediators of diverse host immune responses // *Cell*. 2006. Т. 126. № 5. С. 847–850.
15. Coyne M.J., Reinap B., Lee M.M., Comstock L.E. Human symbionts use a host-like pathway for surface fucosylation // *Science*. 2005. Т. 307. № 5716. С. 1778–1781.
16. Dumych T., Bridot C., Gouin S., Lensink M., Paryzhak S., Szunerits S., Blossey R., Bilyy R., Biueckaert J., Kramer E.M. A novel integrated way for deciphering the glycan code for the FimH lectin // *Molecules*. 2018. Т. 23. № 11. С. 2794.
17. Fagarasan S., Kawamoto S., Kanagawa O., Suzuki K. Adaptive immune regulation in the gut: T cell-dependent and T cell-independent IgA synthesis // *Annu. Rev. Immunology*. 2010. № 28. С. 243–273.
18. Forward N.A., Furlong S.J., Yang Y., Lin T.J., Hoskin D.W. Mast cells down-regulate CD4+ CD25+ T regulatory cell suppressor function via histamine H1 receptor interaction // *The J. Immunol*. 2009. Т. 183. № 5. С. 3014–3022.
19. Fukuda S., Toh H., Hase K., Oshima K., Nakanishi Y., Yoshimura K., Tobe T., Clarke J.M., Topping D.L., Suzuki T., Taylor T.D., Itoh K., Kikuchi J., Morita H., Hattori M., Ohno H. Bifidobacteria can protect from en-

- teropathogenic infection through production of acetate // *Nature*. 2011. T. 469. № 7331. C. 543.
20. Galli S.J., Borregaard N., Wynn T.A. Phenotypic and functional plasticity of cells of innate immunity: macrophages, mast cells and neutrophils // *Nat. Immunol.* 2011. T. 12. № 11. C. 1035.
 21. Gebert A., Posselt W. Glycoconjugate expression defines the origin and differentiation pathway of intestinal M-cells // *J. Histochem. Cytochem.* 1997. T. 45. № 10. C. 1341–1350.
 22. Gicheva N., Macauley M.S., Arlian B.M., Paulson J.C., Kawasaki N. Siglec-F is a novel intestinal M cell marker // *Biochem. Biophys. Res. Communications.* 2016. T. 479. № 1. C. 1–4.
 23. Goto Y., Uematsu S., Kiyono H. Epithelial glycosylation in gut homeostasis and inflammation // *Nat. Immunol.* 2016. T. 17. № 11. C. 1244.
 24. Goto Y. Epithelial cells as a transmitter of signals from commensal bacteria and host immune cells // *Frontiers in immunology*. 2019. № 10. C. 2057.
 25. Greten F.R., Eckmann L., Greten T.F., Park J.M., Li Z.W., Egan L.J., Kangoff M.F., Karin M. 2004. IKK β links inflammation and tumorigenesis in a mouse model of colitis-associated cancer // *Cell*. 2004. T. 118. № 3. C. 285–296.
 26. Groschwitz K.R., Ahrens R., Osterfeld H., Gurish M.F., Han X., Abrink M., Finkelman F.D., Peljer G., Hogan S.P. Mast cells regulate homeostatic intestinal epithelial migration and barrier function by a chymase/Mcpt4-dependent mechanism // *PNAS*. 2009. T. 106. № 52. C. 22381–22386.
 27. Hase K., Kawano K., Nochi T., Pontes G.S., Fukuda S., Ebisawa M., Kadokura K., Tobe T., Fujimura Y., Kawano S., Yabashi A., Waguri S., Nakato S., Murakami T., Limura K., Hamura K. et al. Uptake through glycoprotein 2 of FimH⁺ bacteria by M cells initiates mucosal immune response // *Nature*. 2009. T. 462. № 7270. C. 226.
 28. Helander A., Silvey K.J., Mantis N.J., Hutchings A.B., Chandran K., Lucas W.T., Niberti M.L., Neutra M.R. The viral σ 1 protein and glycoconjugates containing α 2-3-linked sialic acid are involved in type 1 reovirus adherence to M cell apical surfaces // *J. Virol.* 2003. T. 77. № 14. C. 7964–7977.
 29. Kazimieras Malys M., Campbell L., Malys N. Symbiotic and antibiotic interactions between gut commensal microbiota and host immune system // *Medicina*. 2015. T. 51. № 2. C. 69–75.
 30. Kubinak J.L., Round J.L. Do antibodies select a healthy microbiota? // *Nat. Rev. Immunol.* 2016. T. 16. № 12. C. 767.
 31. Land W.G. How evolution tells us to induce allotolerance // *Exp. Clin. Transplant.* 2015. T. 13. № suppl 1. C. 46–54.
 32. Land W.G.W.G.L., Messmer K.K.M. The danger theory in view of the injury hypothesis: 20 years later // *Frontiers in immunology*. 2012. T. 3. C. 349.
 33. Lanier K.A., Petrov A.S., Williams L.D. The central symbiosis of molecular biology: molecules in mutualism // *J. Mol. Evol.* 2017. T. 85. № 1–2. C. 8–13.
 34. Lennon E.M., Borst L.B., Edwards L.L., Moeser A.J. Mast cells exert anti-inflammatory effects in an IL10^{-/-} model of spontaneous colitis // *Mediators of Inflamm.* 2018. C. 7817360.
 35. Lo D.D. Vigilance or subversion? Constitutive and inducible M cells in mucosal tissues // *Trends Immunol.* 2018. T. 39. № 3. C. 185–195.
 36. Mekori Y.A., Hershko A.Y., Frossi B., Mion F., Pucillo C.E. Integrating innate and adaptive immune cells: Mast cells as crossroads between regulatory and effector B and T cells // *Eur. J. Pharmacol.* 2016. № 778. C. 84–89.
 37. Merluzzi S., Frossi B., Gri G., Parusso S., Tripodo C., Pucillo C. Mast cells enhance proliferation of B lymphocytes and drive their differentiation toward IgA-secreting plasma cells // *Blood*. 2010. T. 115. № 14. C. 2810–7.
 38. Möllerherm H., Köckritz-Blickwede M., Branitzki-Heinemann K. Antimicrobial activity of mast cells: role and relevance of extracellular DNA traps // *Front. Immunol.* 2016. T. 7. № 265.
 39. Mowat A.M.I. Anatomical basis of tolerance and immunity to intestinal antigens // *Nature Rev. Immunol.* 2003. T. 3. № 4. C. 331.
 40. Mushegian A.A., Ebert D. Rethinking “mutualism” in diverse host-symbiont communities // *Bioessays*. 2016. T. 38. № 1. C. 100–108.
 41. Nanthakumar N.N., Dai D., Newburg D.S., Walker W.A. The role of indigenous microflora in the development of murine intestinal fucosyl- and sialyltransferases // *FASEB J.* 2003. T. 17. № 1. C. 44–46.
 42. Nenci A., Becker C., Wullaert A., Gareus R., Van Loo G., Danese S., Huth M., Nikolaev A., Neufert C., Madison B., Gumicio D., Neurath M.F., Pasparakis M. Epithelial NEMO links innate immunity to chronic intestinal inflammation // *Nature*. 2007. T. 446. № 7135. C. 557.
 43. Ohno H. Intestinal M cells // *J. Biochem.* 2016. T. 159. № 2. C. 151–160.
 44. Olivares-Villagómez D., Van Kaer L. Intestinal intraepithelial lymphocytes: sentinels of the mucosal barrier // *Trends Immunology*. 2018. T. 39. № 4. C. 264–275.
 45. Park D., Brune K.A., Mitra A., Marusina A.I., Maverakis E., Lebrilla C.B. Characteristic changes in cell surface glycosylation accompany intestinal epithelial cell (IEC) differentiation: high mannose structures dominate the cell surface glycome of undifferentiated enterocytes // *Mol. Cell Proteomics*. T. 14. № 11. C. 2910–21.
 46. Pawankar R., Okuda M., Yssel H., Okumura K., Ra C. Nasal mast cells in perennial allergic rhinitis exhibit increased expression of the Fc epsilonRI, CD40L, IL-4, and IL-13, and can induce IgE synthesis in B cells // *J. Clin. Invest.* 1997. T. 99. № 7. C. 1492–9.
 47. Peterson L.W., Artis D. Intestinal epithelial cells: regulators of barrier function and immune homeostasis // *Nat. Rev. Immunol.* 2014. T. 14. № 3. C. 141–153.
 48. Pickard J.M., Maurice C.F., Kinnebrew M.A., Abt M.C., Schenten D., Golovkina T.V., Bogatyrev S.R., Ismagilov R.F., Pamer E.G., Turnbaugh P.J., Chervonsky A.V. Rapid fucosylation of intestinal epithelium sustains host-commensal symbiosis in sickness // *Nature*. 2014. T. 514. № 7524. C. 638.
 49. Podolsky D.K., Gerken G., Eyking A., Cario E. Colitis-associated variant of TLR2 causes impaired mucosal repair because of TFF3 deficiency // *Gastroenterology*. 2009. T. 137. № 1. C. 209–220.
 50. Rakoff-Nahoum S., Paglino J., Eslami-Varzaneh F., Edberg S., Medzhitov R. Recognition of commensal microflora by toll-like receptors is required for intestinal homeostasis // *Cell*. 2004. T. 118. № 2. C. 229–241.
 51. Rochereau N., Drocourt D., Perouzel E., Pavot V., Redelinguys P., Brown G. D., Tiraby G., Roblin X., Variier B., Genin C., Corthesy B., Paul S. Dectin-1 is essential for reverse transcytosis of glycosylated SIgA-antigen complexes by intestinal M cells // *PLoS Biology*. 2013. T. 11. № 9.

52. Sandig H., Jobbings C.E., Rodlan N.G., Whittingham-Dowd J.K., Orinska Z., Takeuchi O., Akira S., Bulfone-Paus S. IL-33 causes selective mast cell tolerance to bacterial cell wall products by inducing IRAK1 degradation // *Eur. J. Immunol.* 2013. T. 43. № 4. C. 979–88.
53. Sauer M.M., Jakob R.P., Lubert T., Canonica F., Navarra G., Ernst B., Unverzagt C., Maier T., Glockshuber R. Binding of the bacterial adhesin FimH to its natural, multivalent high-mannose type glycan targets // *J. Am. Chem. Soc.* 2018. T. 141. № 2.
54. Schnupf P., Gaboriau-Routhiau V., Cerf-Bensussan N. Modulation of the gut microbiota to improve innate resistance // *Curr. Opin. Immunol.* 2018. T. 54. C. 137–144.
55. Sharma P., Dube D., Sinha M., Mishra B., Dey S., Mal G., Pathak K.M., Kaur P., Sharma S., Singh T.P. Multiligand specificity of pathogen-associated molecular pattern-binding site in peptidoglycan recognition protein // *J. Biol. Chem.* 2011. T. 286. № 36. C. 31723–3.
56. Simon J.C., Marchesi J.R., Mougel C., Selosse M.A. Host-microbiota interactions: from holobiont theory to analysis // *Microbiome.* 2019. T. 7. № 1. C. 5.
57. Skokos D., Le Panse S., Villa I., Rousselle J. C., Peronet R., David B., Namane A., Mecheri S. Mast cell-dependent B and T lymphocyte activation is mediated by the secretion of immunologically active exosomes // *J. Immunol.* 2001. T. 166. № 2.
58. Sterlin D., Fadlallah J., Slack E., Gorochoff G. The antibody/microbiota interface in health and disease // *Mucosal Immunology.* 2019. T. 1. № 9.
59. Suzuki K., Ha S.A., Tsuji M., Fagarasan S. Intestinal IgA synthesis: a primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut // *In Seminars in Immunology.* 2017. T. 19. № 2. C. 127–135.
60. Terahara K., Nochi T., Yoshida Y., Goto Y., Hatai H., Kurokawa S., Jang M.H., Kweon M.N., Domino S.E., Hiroi T., Yuki Y., Tsunetsugu-Yokota Y., Kobayashi K., Kiyono H. Distinct fucosylation of M cells and epithelial cells by Fut1 and Fut2, respectively, in response to intestinal environmental stress // *Biochem. Biophys. Res Commun.* 2011. T. 404. № 3. C. 822–828.
61. Umesaki Y., Ohara M. Factors regulating the expression of the neutral glycolipids in the mouse small intestinal mucosa // *Biochim. Biophys. Acta.* 1989. T. 1001. № 2. C. 163–168.
62. Van der Waaij L.A., Limburg P.C., Mesander G., Van der Waaij D. In vivo IgA coating of anaerobic bacteria in human faeces // *Gut.* T. 38. № 3. C. 348–354.
63. Wu M., Wu Y., Li J., Bao Y., Guo Y., Yang W. The dynamic changes of gut microbiota in Muc2 deficient mice // *International J. Mol. Sci.* 2018. T. 19. № 9. C. 2809.
64. Yanaba K., Yoshizaki A., Asano Y., Kadono T., Tedder T.F., Sato S. IL-10-producing regulatory B10 cells inhibit intestinal injury in a mouse model // *Am. J. Pathol.* T. 178. № 2. C. 735–743.

Mechanisms of Formation of Tolerance to Microflora in Intestinal Barrier Systems: Features of Immune Response Within the First Barrier System

M. M. Ziganshina^{1, *}, E. O. Khalturina^{1, 2, **}, E. S. Zykhova^{2, ***},
P. S. Obukhova^{1, 3, ****}, and G. T. Sukhikh^{1, *****}

¹Federal State Budget Institution National Medical Research Center for Obstetrics, Gynecology and Perinatology of Ministry of Healthcare of Russian Federation, Moscow, 117997 Russia

²Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education I.M. Sechenov First Moscow State Medical University of the Ministry of Health of the Russian Federation (Sechenov University), Moscow, 119435 Russia

³The M.M. Shemyakin–Yu.A. Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry of the Russian Academy of Science, Moscow, 142290 Russia

*e-mail: mmz@mail.ru

**e-mail: jane_k@inbox.ru

***e-mail: zykhova.e.s@yandex.ru

****e-mail: anruma@yandex.ru

*****e-mail: g_sukhikh@oparina4.ru

Tolerance to indigenous intestinal microflora is ensured by the functioning of evolutionarily developed immunity mechanisms that allow genetically different species to coexist on the principles of symbiosis. Despite the long history of studying the phenomenon of tolerance to members of the normal intestinal microflora, the mechanisms of development of immunopathology are more studied than the mechanisms of formation of intestinal homeostasis. The review presents data on factors involved in the development and maintenance of tolerance in the area of the first barrier system — the area of direct contact of indigenous microflora with intestinal epithelium. Attention is focused on the features of the secrets of intestinal epithelial cells, their receptor apparatus, including the composition of the intestinal epithelial glycocalyx and the role of these factors in the development of tolerance to normal microflora.

Keywords: immune tolerance, intestinal barrier systems, gut microflora, intestinal epithelium, M-cells, intestinal epithelial glycocalyx, α 1,2-fucosylated glycans, glycan-protein interaction