

Т.Э. Боровик^{1, 2}, С.Г. Макарова^{1, 2}, Г.В. Яцык¹, Т.Н. Степанова¹, С.Г. Грибакин³

¹ Научный центр здоровья детей РАМН, Москва, Российская Федерация

² Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова, Москва, Российская Федерация

³ Российская медицинская академия последипломного образования, Москва, Российская Федерация

Роль нарушений барьерной функции кишечника в развитии пищевой аллергии у детей

Contacts:

Borovik Tatyana Eduardovna, PhD, professor, head of a Department of Nutrition of Healthy and Sick Child, Scientific Center of Children's Health, Russian Academy of Medical Sciences

Address: 119991 Moscow, Lomonosovskiy Prospect, 2, bldg. 1, Tel.: (499) 132-26-00, e-mail: borovik@nczd.ru

Article received: 12.03.2013, Accepted for publication: 25.04.2013

Кишечный эпителиальный барьер играет важнейшую роль в поддержании кишечного гомеостаза, препятствует проникновению бактерий и пищевых аллергенов из просвета кишечника. Рассматриваются нарушения функции эпителиального барьера, способствующие развитию сенсibilизации. Особое внимание уделяется молекулярным механизмам, обеспечивающим увеличение трансцитоплазменного переноса аллергенов. Фаза сенсibilизации при аллергии характеризуется антиген-индуцированным перекрестным связыванием IgE с высокоаффинным FcεRI-рецептором на поверхности тучных клеток, что приводит к анафилактической реакции.

Ключевые слова: дети, пищевая аллергия, сенсibilизация, кишечный эпителиальный барьер.

(Вопросы современной педиатрии. 2013; 12 (2): 12–19)

Пищевую аллергию (ПА) выявляют у 6–10% детей, а ее частота в детском возрасте выше, чем у взрослых [1, 2]. Наиболее значимые аллергены — белки коровьего молока, куриного яйца, арахиса и морепродукты. Несмотря на то, что некоторые виды ПА спонтанно устраняются в первые годы жизни, значительная часть случаев в более старшем возрасте трансформируется в аллергические заболевания респираторного тракта и кожи [1, 2].

Фаза сенсibilизации при аллергии характеризуется повышением интенсивности синтеза IgE и цитокиновым ответом Th₂-типа — выработкой интерлейкинов (ИЛ) 4, 5 и 13. У пациентов с атопией обнаружена повышенная продукция ИЛ 4 мононуклеарными клетками крови и сли-

зистой оболочки кишечника [3]. ИЛ 4 способствует пролиферации В-клеток с увеличением интенсивности синтеза антиген-специфических IgE. Помимо присутствия в сыворотке крови, повышенное содержание IgE имеется в интестинальной жидкости и в стуле у пациентов с ПА [4]. Наличие IgE в содержимом просвета кишечника также характерно для паразитарных инфекций у экспериментальных животных [5]. Связывание IgE с высокоаффинными FcεRI-рецепторами на поверхности тучных клеток служит пусковым моментом аллергической реакции. Перекрестное связывание IgE со специфическим антигеном вызывает дегрануляцию тучных клеток и высвобождение медиаторов, тем самым приводя к анафилактической реакции [6]. Анафилактические реакции при ПА

T.E. Borovik^{1, 2}, S.G. Makarova^{1, 2}, G.V. Yatsyk¹, T.N. Stepanova¹, S.G. Gribakin³

¹ Scientific Centre of Children Health, RAMS, Moscow, Russian Federation

² I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Russian Federation

³ Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow, Russian Federation

Role of the Barrier Dysfunction of the Intestines in the Development of Alimentary Allergy in Children

Intestinal epithelial barrier plays an important role in prevention of bacterial translocation and food allergens penetration. Article is dedicated to intestinal epithelial barrier disfunctions leading to sensitization. Special attention is paid to molecular mechanisms increasing the allergens penetration through intestinal wall. Phase of sensitization is characterized by antigen-induced crossover IgE connection with FcεRI receptor on the surface of mast cell which leads to anaphylactic reaction.

Key words: infants, food allergy, sensitization, intestinal epithelial barrier.

(Voprosy sovremennoi pediatrii — Current Pediatrics. 2013; 12 (2): 12–19)

связаны с повышенным эпителиальным ионным транспортом, сопровождаемая пассивным выходом воды в просвет кишечника, что клинически проявляется диарейным синдромом [7]. Высвобождение тучными клетками таких медиаторов, как гистамин, простагландин и серотонин, стимулирует эпителиальную секрецию ионов.

ИММУНОПАТОГЕНЕЗ КИШЕЧНОЙ СЕНСИБИЛИЗАЦИИ. РОЛЬ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ПРОДУКТОВ И КИШЕЧНЫХ ЭПИТЕЛИАЛЬНЫХ КЛЕТОК

В развитии пищевой сенсibilизации участвуют различные факторы, в т.ч. генетическая предрасположенность, воздействие аллергена и влияние внешней среды. К другим факторам, играющим роль в развитии аллергических заболеваний, относят возраст, в котором организм сталкивается с пищевым антигеном; грудное или искусственное вскармливание; состав диеты и наличие инфекций желудочно-кишечного тракта. В последнее время получены убедительные доказательства важнейшей роли кишечной микрофлоры на ранних этапах формирования ПА. У здорового индивидуума в просвете кишечника обитает более 100 трлн комменсальных бактерий, состав которых сформировался или в периоде новорожденности при прохождении через родовые пути матери, или за счет пищеварительного тракта матери [8, 9]. Обычно идентифицируемые кишечные бактерии представлены штаммами *Lactobacillus*, *Clostridia*, *Enterococcus* или относятся к *Bacteroides*, *Escherichia coli* и *Bifidobacterium* [10]. Указанные микроорганизмы обычно рассматривают как нормальных обитателей кишечника, и их элиминация необходима только в особых случаях (проникновение в кровеносное русло или внекишечные внутренние органы). Накоплено достаточно информации о той позитивной роли, которую играет совокупная кишечная флора в организме хозяина [11]. Установлено, что кишечная микробиота участвует в многочисленных физиологических функциях желудочно-кишечного тракта. Это и конкуренция с колонизацией условно-патогенными микроорганизмами, и финальное расщепление неокончательно переваренных пищевых веществ, и продукция короткоцепочечных жирных кислот, фолиевой кислоты и витаминов, и стимуляция нормального обновления эпителиальных клеток, и укрепление мукозального иммунитета [12, 13].

Результаты экспериментальных исследований на гнотобиологических животных привели к пониманию еще одной важной роли кишечной микрофлоры — индукции толерантности. Термин «оральная толерантность» обозначает отсутствие системного ответа на специфический антиген, который ранее поступал перорально. Нарушение оральной толерантности является звеном в патогенезе ПА. В отличие от животных, выращенных в обычных условиях, гнотобиологические животные не вырабатывают иммунологическую толерантность против пищевых антигенов [14]. У безмикробных мышей при перорально назначаемом овальбумине как толерогене Th_1 -опосредованный ответ (продукция IgG_{2a} и интерферона γ , ИФН γ) был снижен, тогда как Th_2 -опосредованный синтез IgE , IgG_1 и ИЛ 4 оставался на высоком уровне. Примечательно, что оральную толерантность у безмикробных мышей удается восстановить посредством инокуляции лишь одного из штаммов комменсальных бактерий (*E. coli* или *Bifidobacterium infantis*) [14]. Более того, если мыши получали антибиотики, это вызывало подавление комменсальных бактерий в молодом возрасте, сопровождалось повышением в плазме содержания IgG_1 и IgE и снижением концентрации IgG_2 параллельно с повы-

шением секреции IgG_4 в стимулированных клетках селезенки [15]. Выраженный Th_2 -иммунный ответ у получавших антибиотики мышей удавалось предотвратить посредством заселения кишечника *Enterococcus faecalis* и в меньшей степени *Lactobacillus acidophilus* [16]. Эти данные иллюстрируют роль кишечных комменсальных бактерий в индукции оральной толерантности и профилактики аллергии.

Сигнальные рецепторы, активированные микробно-ассоциированными молекулярными паттернами (pathogen-associated molecular patterns, PAMPs), способны регулировать восприимчивость организма к ПА. Полиморфизм гена CD14-связывающего рецептора для липополисахаридов связан с развитием неатопической астмы и ПА [17]. Однако в других исследованиях не было получено доказательств генного полиморфизма CD14, Toll-подобных рецепторов (TLR2 и TLR4) при ПА [18].

В одном из исследований выявлена повышенная продукция фактора некроза опухоли (ФНО) α и ИЛ 1 мононуклеарными клетками пуповинной крови при активации TLR2, 4 и 5 у новорожденных, у которых позже обнаружили аллергические заболевания. Это свидетельствует о наличии у них взаимосвязи между повышенным TLR-ответом и развитием аллергии [19]. Используя экспериментальную модель на мышах со сниженным TLR-ответом, показали, что TLR4-зависимые сигналы, вызываемые комменсальными кишечными бактериями, ингибируют развитие аллергической сенсibilизации, включая Th_2 -ответ и анафилаксию к аллергенам арахиса [20]. Как кишечные эпителиальные клетки, так и макрофаги *lamina propria* экспрессируют CD14 и TLR4 до определенных уровней, что оказывает влияние на кишечное воспаление [21]. Роль PAMP-сигналов эпителиальных клеток и/или клеток врожденного иммунитета в механизмах аллергической сенсibilизации изучена недостаточно.

Согласно концепции развития оральной толерантности, поступление антигена в высоких дозах приводит к клональной делеции или анергии специфических Т-клеточных клонов в процессе с вовлечением Fas/FasL-зависимого апоптоза, тогда как низкая доза антигена способствует пути активной супрессии, сопровождающейся индукцией регуляторных Т-клеток (Treg) [22]. Различные пути индукции толерантности не являются взаимоисключающими, а могут накладываться один на другой. В кишечнике мыши описаны различные подвиды дендритных клеток, определяемые по экспрессии ими таких поверхностных молекул, как CD11b, CD11c, CD103, CX3CR1 и CD70. Эти подвиды имеют собственную функциональную специализацию, которая способна направить процесс либо в сторону индукции иммунитета, либо по пути развития толерантности к кишечным антигенам [23]. Например, некоторые подтипы дендритных клеток вовлечены в дифференциацию Th_1 , Th_2 и Th_{17} или необходимы для переключения изотипа IgA в В-клетках [24]. С другой стороны, толерогенные CD103-дендритные клетки, выделенные из собственной пластинки или мезентериальных лимфатических узлов, способствуют образованию Treg, необходимых для индукции оральной толерантности [25].

Показано, что кишечные эпителиальные клетки играют важную роль в запуске дифференцировки дендритных клеток, относящихся к толерогенным фенотипам. Доказано, что эпителиальный трансформирующий фактор роста (ТФР) β и ретиноевая кислота необходимы для трансформации CD103 в дендритные клетки, а эпителиально-приспособленные дендритные клетки, в свою очередь, способны индуцировать дифференцировку адаптивных Foxp3 + Treg, оказывающих хоминг-эффект [26].

Существуют данные, что экспрессия интегрина $\alpha\text{v}\beta 6$ в эпителиальных экзосомах в сочетании с пищевым антигеном приводит к образованию ТФР β в Treg. Более того, временный дефект кишечного барьера, вызванный этанолом или холерным токсином, индуцирует дифференцировку Treg с участием механизмов, в работе которых необходимо наличие интактной флоры и дендритных клеток [27]. Эти данные подтверждают, что кишечные эпителиальные клетки вовлечены в развитие толерогенных дендритных клеток и Treg, которые занимают центральное место в индукции оральной толерантности.

Если пероральное поступление одного только антигена приводит к оральной толерантности, то назначение пищевых белков вместе с бактериальными адьювантами (коклюшный или холерный токсин) используют для сенсibilизации животных [28]. Одновременное введение токсинов бактериального происхождения и антигенов регулирует экспрессию молекул класса II главного комплекса гистосовместимости (MHCII) и костимуляторных молекул на дендритных клетках моноцитарного и костномозгового происхождения и индуцирует Th_2 -ответ с повышением продукции ИЛ 4 и увеличением интенсивности синтеза антиген-специфических IgE и IgG_{2a} [29]. Это свидетельствует о том, что бактериальные адьюванты могут оказывать влияние на популяцию интестинальных дендритных клеток. Показано, что холерный токсин индуцирует селективную экспансию CD11c9+0-подвидов дендритных клеток и повышает интенсивность созревания всех подвидов дендритных клеток, связанных с экспрессией лиганда OX40 в мезентериальных лимфатических узлах и последующей промоцией Th_2 -направленного ответа. Полагают, что молекулы OX40L играют особую роль в сенсibilизации к пищевым антигенам [30].

Показано также, что воздействие холерных токсинов индуцирует аллергическую сенсibilизацию к экстракту арахиса, вызывая сдвиг подвидов дендритных клеток в собственной пластинке и пейеровых бляшках с более провоспалительных (CD11b) на менее толерогенные (CD103) клетки [31]. Более того, обнаружена повышенная экспрессия Т-клеточной (иммуноглобулин и муцин) доменной молекулы (TIM-4) в дендритных клетках костного мозга мышей после конкурентного воздействия

холерных токсинов и аллергенов арахиса по сравнению с таковыми, обработанными только аллергенами [32]. Адаптивный перенос TIM-4-экспрессирующих дендритных клеток сенсibilизировал наивных мышей к орально назначаемым аллергенам арахиса, что сопровождалось усилением Th_2 -цитокинового ответа и повышением уровня специфических IgE в сыворотке крови и тканях кишечника. Взаимодействие между TIM-1, экспрессированными на CD4 Т клетках, и TIM-4 на дендритных клетках играет важную роль в поляризации Th_2 -ответа и ингибировании развития толерантности [33].

Аналогичный эффект TIM-4-экспрессии на кишечных мукозальных дендритных клетках и кишечная сенсibilизация к овальбумину были обнаружены после воздействия стафилококкового энтеротоксина В в качестве адьюванта [34]. Эти данные указывают на регуляторную роль кишечных дендритных клеток в детерминировании природы дифференцировки антиген-специфических Т клеток, что свидетельствует о роли бактериальных токсинов в изменении баланса в сторону Th_2 -ответа при аллергической сенсibilизации белками пищи.

ФУНКЦИИ КИШЕЧНОГО ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО БАРЬЕРА

Поверхность желудочно-кишечного тракта от желудка до прямой кишки выстлана только одним слоем эпителиальных клеток. Обширная эпителиальная поверхность кишки обеспечивает эффективное всасывание нутриентов и источников энергии. Однако эпителиальный слой должен также обеспечить компетентную линию защиты, поскольку он постоянно атакуется разнообразным кишечным содержимым, включая антигенные субстанции и патогены.

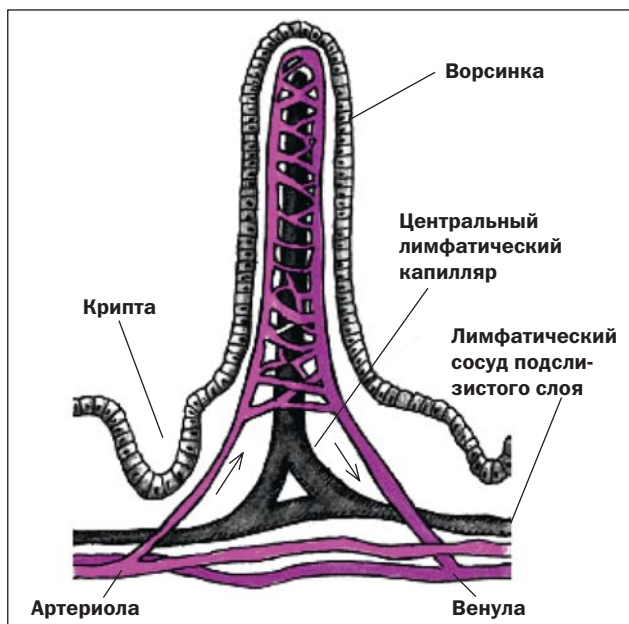
Эпителиальный слой находится в динамическом равновесии, которое заключается в балансе между пролиферацией стволовых клеток крипт и отмиранием клеток, расположенных на поверхности ворсин. Вновь образующиеся в криптах стволовые клетки дифференцируются на всасывательные и секретирующие эпителиальные клетки с высокой специализацией энзимов щеточной каймы и транспортных механизмов, которые постепенно мигрируют к поверхности ворсин, где затем подвергаются апоптозу и отторгаются [35]. Во время процесса дифференцировки формируются межклеточные плотные связи (tight junctions, TJs), которые формируют пространство между соседними клетками. Этот физический барьер, состоящий из плотно прилегающих друг к другу эпителиальных клеток, и определяет степень кишечной проницаемости.

Комплексы плотных связей формируют апикальную часть латеральной мембраны плазмы между двумя клетками, что позволяет попадать в это пространство только мелким молекулам весом менее 500 Да и исключает проникновение антигенных белков и бактерий через межклеточные пространства. Трансмембранные связывающие белки (клаудины и окклюдины) связаны с внутриклеточными окклюдинами зонулы, которые служат мостиками к цитоскелетным филаментам белков актина и миозина (рис.) [36].

На поверхности кишечной ворсинки происходит отмирание эпителиальных клеток, в области крипт — деление и образование новых клеток эпителия.

Организация белков плотных связей и актиномиозинов регулируется сложной структурой сигнальных связей. Сокращение актино-миозиновых филаментов, которое открывает межклеточные пространства, связано с фосфорилированием легкой цепи (ЛЦ) миозина посредством особого фермента — миозин-ЛЦ-киназы [37]. Помимо

Рис. Строение кишечной ворсинки



физического открытия плотных связей, миозин-ЛЦ-киназа также обеспечивает эндоцитоз белков плотных контактов в вакуольные апикальные пространства. В процессах открытия и закрытия плотных связей участвуют различные изоформы протеинкиназы С [38]. Атипичная протеинкиназа является единственной изоформой, обнаруживаемой в зоне межклеточного контакта. Показано, что мембранная транслокация и фосфорилирование протеинкиназы С приводят к снижению трансэпителиальной резистентности и нарушению свойств окклюдина при инфекции, вызванной энтеропатогенной *E. coli* [39]. Также установлено, что активация протеинкиназы С вызывает перераспределение окклюдина с его выходом из межклеточных соединений посредством фосфорилирования этого белка [40]. В экспериментальных исследованиях *in vivo* на модели кишечной непроходимости убедительно доказана важная роль протеинкиназы С в разрыве плотных связей и повышении проницаемости кишечника [41].

Важную роль выполняют дифференцированные клетки кишечных ворсинок и покрывающий их слой слизи: они образуют физический барьер, разобщающий просвет кишечника и *lamina propria*. Эпителиальный барьер предотвращает проникновение различных субстанций (непереваренных белков пищи и др.) и комменсальных бактерий во внутреннюю среду организма.

Большая часть белков пищи переваривается с образованием мелких пептидов и аминокислот перед абсорбцией в энтероциты с участием специфических транспортных механизмов. Очень небольшой процент интактных белков подвергается эндоцитозу и поступает в эпителиальные клетки, где они расщепляются лизосомами и утрачивают свои антигенные свойства. Таким образом, механизм лизосомальной деградации предотвращает проникновение интактных белков по трансцеллюлярному пути.

Структурное повреждение белков плотных связей может происходить при избыточном отмирании или повреждении эпителиальных клеток, например при бактериальных или паразитарных инфекциях, метаболических или воспалительных нарушениях. Причинами апоптоза эпителиальных клеток могут стать *Helicobacter pylori* [42], энтерогеморрагический шигаподобный токсин *E. coli*, липополисахарид *E. coli* [43], *Salmonella*, *Citrobacter* [44] или *Giardia* [45]. Показано, что каспазы (клеточные белки, участвующие в каскаде апоптоза) могут непосредственно повреждать TJ-белки [46]. Метаболический стресс (как следствие мезентериальной ишемии или геморрагического шока) усиливает интенсивность апоптоза эпителиальных клеток и вызывает некроз, что приводит к повреждению мукозального барьера и избыточной бактериальной транслокации [47].

Таким образом, трансцеллюлярному транспорту частиц и белковых молекул препятствует эндосомальная деградация в энтероцитах. Небольшие количества интактного белка могут поступать в эпителиальные клетки путем эндоцитоза в физиологических условиях, но основная часть их подвергается лизосомальной деградации, поэтому трансцитоза цельных белков, обладающих антигенными свойствами, не происходит. Тем не менее, показано, что до 3% белков сохраняет свою инстантную биоактивную форму после пассажа через кишечный эпителиальный слой [48].

ДЕФЕКТЫ ЭПИТЕЛИАЛЬНОГО БАРЬЕРА ПРИ ПИЩЕВОЙ АЛЛЕРГИИ

Белки пищи подвергаются расщеплению желудочными и панкреатическими протеазами, а также группой ферментов щеточной каймы с образованием мелких

пептидов и аминокислот. Затем они всасываются энтероцитами с участием электрогенных или Na-зависимых транспортных механизмов. Непереваренные белки обычно не достигают *lamina propria*, поскольку встречают на своем пути барьер из плотных межклеточных связей или подвергаются внутриклеточной деградации лизосомальными ферментами. Тем не менее, при ПА имеет место дефект кишечного барьера.

Показано, что у детей с аллергией к белкам коровьего молока кишечная проницаемость повышается, причем не до, а после контакта с аллергеном [49].

В одном из исследований, где образец биоптата тонкой кишки подвергали воздействию пищевого аллергена *in vitro*, показано снижение уровня экспрессии белков плотных связей (окклюдина и клаудина) в тканях, полученных от больных ПА. Однако подобного эффекта не наблюдали у здоровых субъектов после нагрузки антигеном [50]. Эти исследования свидетельствуют, что именно нагрузка антигеном у сенсibilизированных лиц приводит к повышению кишечной проницаемости.

На культуре клеток кишечного эпителия человека продемонстрировано, что ИЛ 4 и 13 оказывают прямой эффект на проницаемость клеток кишечного эпителия [51]. Как ИЛ 4, так и атопическая сыворотка снижали трансэпителиальную резистентность и селективно повышали апикально-базальное продвижение крупномолекулярных белков (например, пероксидазы хрена). Это происходило трансцеллюлярно и было показано на модели человеческого однослойного кишечного эпителия. Существуют данные, что ИЛ 4 повышает экспрессию порообразующего белка плотных связей клаудина-2, что коррелирует с повышенной эпителиальной проницаемостью [52]. Также установлено, что ИЛ 13 снижает трансэпителиальную резистентность кишечных эпителиальных клеток человека HT29/B6 посредством индукции клеточного апоптоза и повышения экспрессии клаудина-2 [53]. Доказано участие фосфатидил-инозитол-3-киназы в повышении эпителиальной кишечной проницаемости в культуре клеток. Кроме того, установлено, что выделяемые тучными клетками медиаторы (триптаза и ФНО α) способствуют повышению эпителиальной парацеллюлярной проницаемости [54].

Несмотря на то, что связь между проницаемостью кишечного барьера и развитием ПА не ставится под сомнение, остается не вполне ясным, какое событие происходит раньше в фазе сенсibilизации. В экспериментальных исследованиях на крысах продемонстрировано, что хронический психологический стресс, при котором повышается проникновение белков из просвета кишечника, предрасполагает животных к сенсibilизации орально поступающим антигеном [55]. Дополнительными факторами, которые влияют на образование дефектов кишечного барьера, развивающихся на фоне психологического стресса, являются кортикотропин-рилизинг фактор и фактор роста нервов наряду с активацией тучных клеток [56].

Однако психологический стресс также усиливает взаимодействие тучных и нервных клеток и повышает зависимость от тучных клеток бактериальную адгезивную способность, так же как и фолликул-ассоциированный эпителий на пейеровых бляшках [57]. В связи с этим нельзя исключить участия как нервной системы, так и бактериального фактора в стресс-индуцированной бактериальной сенсibilизации на фоне аллергической предрасположенности.

Показано, что стимуляция тучных клеток повышает проницаемость и способствует сенсibilизации оральным антигеном у предрасположенных мышей, но кишечную сенсibilизацию удается предотвратить благодаря

использованию стабилизатора тучных клеток кромолина, который блокирует активность тучных клеток и снижает кишечную проницаемость [58].

Вместе с тем отсутствуют прямые доказательства, что именно дисфункция кишечного барьера является основным пусковым механизмом для кишечной аллергической сенсibilизации. Использование антигенов со свойствами протеазной активности для нарушения целостности эпителиального барьера в экспериментальных условиях может пролить свет на вопрос о том, какое событие происходит раньше: повышение проницаемости или аллергическая сенсibilизация.

На мышиной модели аллергического респираторного воспаления было доказано, что повторное интра-трахеальное назначение протеолитически активного Pen c13 — основного аллергена, секретируемого грибами *Penicillium citrinum*, за счет протеазной активности самого аллергена приводит к повреждению плотных связей между эпителиальными клетками дыхательных путей и способствует развитию дыхательной аллергической сенсibilизации [59]. В настоящее время интерес к прямой кишечной проницаемости в отношении ее участия в генезе аллергических заболеваний возрастает.

МЕХАНИЗМЫ ПОВЫШЕННОГО ТРАНСЭПИТЕЛИАЛЬНОГО ТРАНСПОРТА АНТИГЕНОВ ПРИ ГАСТРОИНТЕСТИНАЛЬНОЙ АЛЛЕРГИИ

Кишечные анафилактические реакции вызваны биологическими медиаторами, выделяемыми тучными клетками в *lamina propria* после взаимодействия антигена с IgE на клеточной поверхности. Этому способствует трансэпителиальное проникновение антигенов из просвета кишечника, приводящее к развитию ПА. Однако возникает правомочный вопрос: каким образом макромолекулы пищевых аллергенов проникают через кишечный эпителиальный барьер?

Одним из механизмов отсутствия толерантности является повышенное проникновение антигенов через специализированные лимфоидные органы, в т. ч. через пейеровы бляшки [60].

По сравнению с небольшой поверхностью пейеровых бляшек сам эпителий ворсинок с их достаточно значительной площадью поверхности имеет более существенное значение в нарушении целостности кишечного барьера при гастроинтестинальной аллергии.

В эксперименте установлено, что добавление антигена в просвет тонкой кишки при гастроинтестинальной аллергии индуцирует выраженную секрецию ионов. Нанесение антигена непосредственно на поверхность слизистой оболочки индуцирует немедленное увеличение секреции ионов (уже в течение 30 с), тогда как внесение антигена в просвет кишечника сопровождается более медленным ответом (около 3 мин), предшествуя вызванному медиаторами тучных клеток эпителиальному секреторному ответу. Продолжительность фазы анафилактического ответа после введения аллергена в просвет кишки соответствует времени транспорта антигена через клетки кишечного эпителия с последующей быстрой активацией тучных клеток в *lamina propria*. Существует немало исследований, посвященных изучению повышения скорости трансцеллюлярного транспорта интактных белков через эпителий кишечника при экспериментальной аллергии [61]. При пищевой сенсibilизации крыс феномен повышенного транспорта антигенов через эндосомальные структуры наблюдался в энтероцитах тощей кишки, предшествуя активации тучных клеток.

Все это свидетельствует о том, что повышение апикально-базолатерального трансцеллюлярного транспорта аллергена не зависит от тучных клеток. Всасывание антигена является специфичным, и этот транспорт происходит исключительно трансцеллюлярно в первые 2 мин после нагрузки аллергеном. Этот период трансцеллюлярного транспорта специфического антигена перед активацией тучных клеток получил название I фазы.

Период после активации тучных клеток, характеризующийся эпителиальным секреторным ионным ответом, назвали II фазой. Во время II фазы антигены у экспериментальных животных обнаруживаются не только внутри эндосом, но и внутри плотных связей и в парацеллюлярном пространстве между энтероцитами. Электрическая проводимость, измеренная по ионной проницаемости парацеллюлярного пространства, в кишечных тканях у экспериментальных животных не отличалась от таковой у контрольных животных в I фазе, что говорит о том, что парацеллюлярная проницаемость в ответ на сенсibilизацию не изменяется. Более того, постепенное повышение тканевой проводимости соответствует феномену повышенного парацеллюлярного транспорта антигенов у сенсibilизированных крыс во время II фазы. Нарушенная парацеллюлярная проницаемость во II фазе отсутствует у особой линии крыс (*ws/ws*), имеющих дефицит тучных клеток, что свидетельствует о важной роли активации тучных клеток в индукции открытия плотных межклеточных связей и повышении парацеллюлярного потока, который не является антиген-специфическим.

Феномен повышенного трансэпителиального транспорта перед активацией тучных клеток специфичен для аллергена, в отношении которого сенсibilизированы животные. Это свидетельствует о механизме распознавания иммуноглобулина на клеточном уровне [61].

Низкоаффинный IgE-рецептор (CD23/*FcεRII*) может отвечать за распознавание антигена и быстрый трансэпителиальный транспорт у экспериментальных животных [62]. CD23 ранее был известен по своей роли в регуляции синтеза IgE в В клетках и стимуляции пролиферации В клеток [63]. Экспрессия CD23 была обнаружена в эпителиальных клетках тонкой кишки у здоровых людей и пациентов с ПА, а также в бронхиальных эпителиальных клетках у больных бронхиальной астмой.

Установлено также, что пищевые аллергены, связанные с IgE/CD23, защищены от лизосомального расщепления в клетках кишечного эпителия, в результате чего сохраняются интактные антигенные формы белков. Стало очевидно, что комплекс IgE/CD23 играет важную роль в механизме повышения интенсивности трансэпителиального транспорта антигена, что приводит к последующей активации тучных клеток и анафилактической реакции у экспериментальных животных.

При пищевой аллергии Th₂-ответ и синтез ИЛ 4 индуцируют переключение изотипа в В клетках с продукцией большого количества IgE, которое секретируется в сыворотку и в просвет кишечника или связывается с высокоаффинным рецептором *FcεRI* на поверхности тучной клетки. ИЛ 4 тоже воздействует на кишечные эпителиальные клетки и регулирует экспрессию аффинного IgE-рецептора CD23/*FcεRII*. Последующее воздействие пищевых аллергенов повышает трансэпителиальный люминальный транспорт антигенов перед активацией тучных клеток в I фазу. Проникающие аллергены достигают субэпителиальной *lamina propria* и вызывают воздействие IgE на тучные клетки, что приводит к их дегрануляции и анафилактической реакции. Высвобождение медиаторов тучных клеток (гистамина, простагландина,

серотонина и протеаз) индуцирует эпителиальную ионную секрецию и повышает парацеллюлярную эпителиальную проницаемость во II фазе.

Получены данные о том, что различные изоформы CD23 обеспечивают двусторонний транспорт IgE через эпителий при гастроинтестинальной аллергии как в экспериментальных условиях, так и у человека. Определение последовательности ДНК показало наличие классической и альтернативной формы CD23 с отсутствием экзонов 5 или 6 в энтероцитах мышей, все из которых транслированы в функциональные IgE-рецепторы с отчетливыми эндочитарными свойствами [64]. Мышиный интестинальный эпителиальный CD23b5 обеспечивает апикальный и базолатеральный транспорт свободного IgE, тогда как классический CD23b проявляет большую активность при транцитозе комплексов IgE–аллерген [64]. Исследования с использованием кишечных эпителиальных клеток человека и трансформированных клеточных линий также показали, что CD23 транспортирует IgE в обоих направлениях: мукозно-серозном и серозно-мукозном [65]. Изоформы CD23 а и в осуществляют в клетках кишечного эпителия транспорт IgE в обе стороны. Однако CD23a транспортирует комплекс IgE-антиген быстрее, чем CD23b в апикально-базолатеральном направлении.

Остается не до конца ясным, какая форма CD23 экспрессируется в энтероцитах человека, и необходимо дальнейшее подтверждение роли IgE/CD23-опосредованного трансэпителиального транспорта при ПА [65].

REFERENCES

1. Herz U. Immunological basis and management of food allergy. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2008; 47 (Suppl. 2): 54–57.
2. Husby S. Food allergy as seen by a paediatric gastroenterologist. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2008; 47 (Suppl. 2): 49–52.
3. Campbell D.E., Hill D.J., A. Kemp A.S. Enhanced IL-4 but normal interferon-gamma production in children with isolated IgE mediated food hypersensitivity. *Pediatric Allergy Immunol.* 1998; 9 (2): 68–72.
4. Li H., Nowak-Wegrzyn A., Charlop-Powers Z. et al. Transcytosis of IgE-antigen complexes by CD23a in human intestinal epithelial cells and its role in food allergy. *Gastroenterology.* 2006; 131 (1): 47–58.
5. Negrao-Correa D., Adams L.S., and Bell R.G. Intestinal transport and catabolism of IgE: a major blood-independent pathway of IgE dissemination during a *Trichinella spiralis* infection of rats. *J. Immunol.* 1996; 157 (9): 4037–4044.
6. Yu L.C.H. and Perdue M.H. Role of mast cells in intestinal mucosal function: studies in models of hypersensitivity and stress. *Immunol. Rev.* 2001; 179: 61–73.
7. Yu L.C.H. and Perdue M.H. Immunologically mediated transport of ions and macromolecules. *Ann. New York Acad. Sci.* 2000; 915: 247–259.
8. Ley R.E., Peterson D.A., Gordon J.I. Ecological and evolutionary forces shaping microbial diversity in the human intestine. *Cell.* 2006; 124 (4): 837–848.
9. O'Hara A.M. and Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Reports.* 2006; 7 (7): 688–693.
10. Ley R.E., Turnbaugh P.J., Klein S., Gordon J.I. Microbial ecology: human gut microbes associated with obesity. *Nature.* 2006; 444 (7122): 1022–1023.
11. Makarova S.G. The role of intestinal microbiocenosis in formation of oral tolerance in children. *Rossiiskii Allergologicheskii Zhurnal — Russian allergological journal.* 2008; 2:32–46.
12. Makarova S.T., Borovik T.E., Balabolkin I.I., Katosova L.K., Lukyanova O.L., Semenova N.N., Stepanova T.V. Modern point of view at the role of intestinal biocenosis in children with food allergy and approaches to its correction. *Rossiiskii Allergologicheskii Zhurnal — Russian allergological journal.* 2012; 5: 36–45.
13. Kelly D., King T., Aminov R. Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity. *Mut. Res.* 2007; 622 (1–2): 58–69.
14. Tanaka K., Ishikawa H. Role of intestinal bacterial flora in oral tolerance induction. *Histol. Histopathol.* 2004; 19 (3): 907–914.
15. Oyama N., Sudo N., Sogawa H., Kubo C. Antibiotic use during infancy promotes a shift in the T(H)1/T(H)2 balance toward T(H)2-dominant immunity in mice. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2001; 107 (1): 153–159.
16. Sudo N., Yu X.N., Aiba Y. et al. An oral introduction of intestinal bacteria prevents the development of a long-term Th2-skewed immunological memory induced by neonatal antibiotic treatment in mice. *Clin. Exp. Allergy.* 2001; 32 (7): 1112–1116.
17. Dreskin S.C., Ayars A., Jin Y., Atkins D., Leo H.L., Song B. Association of genetic variants of CD14 with peanut allergy and elevated IgE levels in peanut allergic individuals. *Ann. Allergy Asthma Immunol.* 2011; 116: 170–172.
18. Galli E., Ciucci A., Cersosimo S. et al. Eczema and food allergy in an Italian pediatric cohort: no association with TLR-2 and TLR-4 polymorphisms. *Int. J. Immunopathol. Pharmacol.* 2010; 23 (2): 671–675.
19. Prescott S.L., Noakes P., Chow B.W.Y. et al. Presymptomatic differences in Toll-like receptor function in infants who have allergy. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (2): 391–399.
20. Bashir M.E.H., Louie S., Shi H.N., Nagler-Anderson C. Toll-like receptor 4 signaling by intestinal microbes influences susceptibility to food allergy. *J. Immunol.* 2004; 172 (11): 6978–6987.

НОВЫЕ ДИАГНОСТИЧЕСКИЕ И ТЕРАПЕВТИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ CD23

До настоящего времени диета с исключением причинно значимых аллергенов по-прежнему остается наиболее эффективной мерой по предотвращению аллергической сенсibilизации и анафилактических реакций у детей и взрослых из группы риска. Эффективность специфической иммунотерапии с нанесением аллергена подкожно или сублингвально все еще нуждается в подтверждении в ходе проведения широкомасштабных слепых плацебо-контролируемых исследований [66].

Предложен терапевтический подход с модуляцией функций дендритных клеток для прерывания их Th₂-трансформирующей способности, который можно использовать при ПА и аллергическом рините [67, 68]. Другие формы иммунотерапии, например применение IgE-антител, оказываются эффективны у пациентов с аллергией к арахису. Более того, использование CD23 с моноклональными антителами снижает общий сывороточный уровень IgE примерно на 75% у пациентов с бронхиальной астмой в I фазе клинических испытаний и предлагается для лечения аллергических заболеваний у некоторых подгрупп больных [69].

Более глубокое понимание молекулярных механизмов, участвующих в пероральной сенсibilизации на фоне поврежденного кишечного барьера, будет способствовать развитию новых профилактических и терапевтических подходов к лечению атопических заболеваний.

21. Cario E., Podolsky D.K. Differential alteration in intestinal epithelial cell expression of Toll-like receptor 3 (TLR3) and TLR4 in inflammatory bowel disease. *Infection and Immunity*. 2000; 68 (12): 7010–7017.
22. Faria A.M.C. and Weiner H.L. Oral tolerance. *Immunol. Rev.* 2005; 206: 232–259.
23. Rescigno M. and Di S.A. Dendritic cells in intestinal homeostasis and disease. *J. Clin. Invest.* 2009; 119 (9): 2441–2450.
24. Atarashi K., Nishimura J., Shima T. et al. ATP drives lamina propria TH17 cell differentiation. *Nature*. 2008; 455 (7214): 808–812.
25. Sun C.M., Hall J.A., Blank R.B. et al. Small intestine lamina propria dendritic cells promote de novo generation of Foxp3 T reg cells via retinoic acid. *J. Exp. Med.* 2007; 204 (8): 1775–1785.
26. Iliiev I.D., Spadoni I., Mileti E. et al. Human intestinal epithelial cells promote the differentiation of tolerogenic dendritic cells. *Gut*. 2009; 58 (11): 1481–1489.
27. Boirivant M., Amendola A., Butera A. et al. A transient breach in the epithelial barrier leads to regulatory T-cell generation and resistance to experimental colitis. *Gastroenterology*. 2008; 135 (5): 1612–1623.
28. Adel-Patient K., Bernard H., Ah-Leung S., Creminon C., Wal J.M. Peanut- and cow's milk-specific IgE, Th2 cells and local anaphylactic reaction are induced in Balb/c mice orally sensitized with cholera toxin. *Allergy*. 2005; 60 (5): 658–664.
29. Gagliardi M.C., Sallusto F., Marinaro M., Vendetti S., Riccomi A., De M.T. Effects of the adjuvant cholera toxin on dendritic cells: stimulatory and inhibitory signals that result in the amplification of immune responses. *Int. J. Med. Microbiol.* 2001; 291 (6–7): 571–575.
30. Blazquez A.B. and Berin M.C. Gastrointestinal dendritic cells promote Th2 skewing via OX40L. *J. Immunol.* 2008; 180 (7): 4441–4450.
31. Smit J.J., Bol-Schoenmakers M., Hassing I. et al. The role of intestinal dendritic cells subsets in the establishment of food allergy. *Clin. Exp. Allergy*. 2011; 41 (6): 890–898.
32. Feng B.S., Chen X., He S.H. et al. Disruption of T-cell immunoglobulin and mucin domain molecule (TIM)-1/TIM4 interaction as a therapeutic strategy in a dendritic cell-induced peanut allergy model. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2008; 122 (1): 55–61.
33. Meyers J.H., Chakravarti S., Schlesinger D. et al. TIM-4 is the ligand for TIM-1, and the TIM-1-TIM-4 interaction regulates T cell proliferation. *Nat. Immunol.* 2005; 6 (5): 455–464.
34. Yang P.C., Xing Z., Berin C.M. et al. TIM-4 expressed by mucosal dendritic cells plays a critical role in food antigen-specific Th2 differentiation and intestinal allergy. *Gastroenterology*. 2007; 133 (5): 1522–1533.
35. Yen T.H. and Wright N.A. The gastrointestinal tract stem cell niche. *Stem Cell Rev.* 2006; 2 (3): 203–212.
36. Ivanov A.I., Parkos C.A., and Nusrat A. Cytoskeletal regulation of epithelial barrier function during inflammation. *Am. J. Pathol.* 2010; 177 (2): 512–524.
37. Wu C.C., Lu Y.Z., Wu L.L., Yu L.C. Role of myosin light chain kinase in intestinal epithelial barrier defects in a rat model of bowel obstruction. *BMC Gastroenterol.* 2010; 10: 39.
38. Gonzalez-Mariscal L., Tapia R., Chamorro D. Crosstalk of tight junction components with signaling pathways. *Biochimica et Biophysica Acta*. 2008; 1778 (3): 729–756.
39. Tomson F.L., Koutsouris A., Viswanathan V.K., Turner J.R., Savkovic S.D., Hecht G. Differing roles of protein kinase C-zeta in disruption of tight junction barrier by enteropathogenic and enterohemorrhagic *Escherichia coli*. *Gastroenterology*. 2004; 127 (3): 859–869.
40. Suzuki T., Elias B.C., Seth A. et al. PKCzeta regulates occludin phosphorylation and epithelial tight junction integrity. *Proceed. Nat. Acad. Sci. USA*. 2009; 106 (1): 61–66.
41. Wu L.L., Chiu H.D., Peng W.H. et al. Epithelial inducible nitric oxide synthase causes bacterial translocation by impairment of enterocytic tight junctions via intracellular signals of Rho-associated kinase and protein kinase C zeta. *Crit. Care Med.* 2011; 39: 2087–2098.
42. Le'Negrato G., Ricci V., Hofman V., Mograbi B., Hofman P., Rossi B. Epithelial intestinal cell apoptosis induced by *Helicobacter pylori* depends on expression of the cag pathogenicity island phenotype. *Inf. Immunity*. 2001; 69 (8): 5001–5009.
43. Yu L.C.H., Turner J.R., Buret A.G. LPS/CD14 activation triggers SGLT-1-mediated glucose uptake and cell rescue in intestinal epithelial cells via early apoptotic signals upstream of caspase-3. *Exp. Cell Res.* 2006; 312 (17): 3276–3286.
44. Flynn A.N. and Buret A.G. Tight junctional disruption and apoptosis in an in vitro model of *Citrobacter rodentium* infection. *Microb. Pathogenesis*. 2008; 45 (2): 98–104.
45. Scott K.G.E., Meddings J.B., Kirk D.R., Lees-Miller S.P., Buret A.G. Intestinal infection with *Giardia* spp. reduces epithelial barrier function in a myosin light chain kinase-dependent fashion. *Gastroenterology*. 2002; 123 (4): 1179–1190.
46. Bojarski C., Weiske J., Schoneberg T. et al. The specific fates of tight junction proteins in apoptotic epithelial cells. *J. Cell Sci.* 2004; 117 (10): 2097–2107.
47. Yu L.C. Protective mechanism against gut barrier dysfunction in mesenteric ischemia/reperfusion. *Adaptive Medicine*. 2010; 2 (1): 11–22.
48. Heyman M., Ducroc R., Desjeux J.F., Morgat J.L. Horseradish peroxidase transport across adult rabbit jejunum in vitro. *Am. J. Physiol.* 1982; 242 (6): 558–564.
49. Troncone R., Caputo N., Florio G., Finelli E. Increased intestinal sugar permeability after challenge in children with cow's milk allergy or intolerance. *Allergy*. 1994; 49 (3): 142–146.
50. Pizzuti D., Senzolo M., Buda A. et al. In vitro model for IgE mediated food allergy. *Scandinavian J. Gastroenterol.* 2011; 46 (2): 177–187.
51. Di Leo V., Yang P.C., Berin M.C., Perdue M.H. Factors regulating the effect of IL-4 on intestinal epithelial barrier function. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2002; 129 (3): 219–227.
52. Wisner D.M., Harris III L.R., Green C.L., Poritz L.S. Opposing regulation of the tight junction protein claudin-2 by interferon-gamma and interleukin-4. *J. Surg. Res.* 2008; 144 (1): 1–7.
53. Heller F., Fromm A., Gitter A.H., Mankertz J., Schulzke J.D. Epithelial apoptosis is a prominent feature of the epithelial barrier disturbance in intestinal inflammation: effect of pro-inflammatory interleukin-13 on epithelial cell function. *Mucosal Immunol.* 2008; 1: 58–61.
54. Jacob C., Yang P.C., Darmoul D. et al. Mast cell tryptase controls paracellular permeability of the intestine. Role of protease-activated receptor 2 and beta-arrestins. *J. Biol. Chem.* 2005; 280 (36): 31936–31948.
55. Yang P.C., Jury J., Soderholm J.D., Sherman P.M., McKay D.M., Perdue M.H. Chronic psychological stress in rats induces intestinal sensitization to luminal antigens. *Am. J. Pathol.* 2006; 168 (1): 104–114.
56. Wallon C., Yang P.C., Keita A.V. et al. Corticotropin-releasing hormone (CRH) regulates macromolecular permeability via mast cells in normal human colonic biopsies in vitro. *Gut*. 2008; 57 (1): 50–58.
57. van den Wijngaard R.M., Klooker T.K., Welting O. et al. Essential role for TRPV1 in stress-induced (mast cell-dependent) colonic hypersensitivity in maternally separated rats. *Neurogastroenterology & Motility*. 2009; 21 (10): 1107–1194.
58. Forbes E.E., Groschwitz K., Abonia J.P. et al. IL-9-nd mast cell-mediated intestinal permeability predisposes to oral antigen hypersensitivity. *J. Exp. Med.* 2008; 205 (4): 897–913.

59. Chen J.C., J. Chuang G., Su Y.Y., Chiang B.L., Lin Y.S., Chow L.P. The protease allergen Pen c 13 induce allergic airway inflammation and changes in epithelial barrier integrity and function in a murine model. *J. Biol. Chem.* 2011; 286: 26667–26679.
60. Roth-Walter F., Berin M.C., Arnaboldi P. et al. Pasteurization of milk proteins promotes allergic sensitization by enhancing uptake through Peyer's patches. *Allergy*. 2008; 63 (7): 882–890.
61. Yang P.C., Berin M.C., Yu L.C.H., Conrad D.H., Perdue M.H. Enhanced intestinal transepithelial antigen transport in allergic rats is mediated by IgE and CD23 (FcεRII). *J. Clin. Invest.* 2000; 106 (7): 879–886.
62. Bevilacqua C., Montagnac G., Benmerah A. et al. Food allergens are protected from degradation during CD23-mediated transepithelial transport. *Int. Arch. Allergy Immunol.* 2004; 135 (2): 108–116.
63. Zhang M., Murphy R.F., Agrawal D.K. Decoding IgE Fc receptors. *Immunol. Res.* 2007; 37 (1): 1–16.
64. Montagnac G., Yu L.C.H., Bevilacqua C. et al. Differential role for CD23 splice forms in apical to basolateral transcytosis of IgE/allergen complexes. *Traffic*. 2005; 6 (3): 230–242.
65. Tu Y., Salim S., Bourgeois J. et al. CD23-mediated IgE transport across human intestinal epithelium: inhibition by blocking sites of translation or binding. *Gastroenterology*. 2005; 129 (3): 928–940.
66. Skripak J.M. and Sampson H.A. Towards a cure for food allergy. *Curr. Opin. Immunol.* 2008; 20 (6): 690–696.
67. Pochard P., Vickery B., Berin M.C. et al. Targeting Toll-like receptors on dendritic cells modifies the Th2 response to peanut allergens in vitro. *J. Allergy Clin. Immunol.* 2010; 126 (1): 92–97.
68. Zhao C.Q., Li T.L., He S.H. et al. Specific immunotherapy suppresses Th2 responses via modulating TIM1/TIM4 interaction on dendritic cells. *Allergy*. 2010; 65 (8): 986–995.
69. Rosenwasser L.J., Meng J. Anti-CD23. *Clin. Rev. Allergy Immunol.* 2005; 29: 61–72.