

УДК 547.917;577.114;571.27

ГИПОТЕЗЫ О ПРОИСХОЖДЕНИИ ЕСТЕСТВЕННЫХ АНТИТЕЛ: ВЗГЛЯД ГЛИКОБИОЛОГА

Обзор

© 2015 Н.Р. Хасбиуллина, Н.В. Бовин*

*Институт биоорганической химии им. академиков М.М. Шемякина
и Ю.А. Овчинникова РАН, 117997 Москва, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;
факс: +7(495)330-5592, электронная почта: professorbovin@yandex.ru*

Поступила в редакцию 27.03.15

После доработки 06.04.15

Общепринято, что процесс антителообразования происходит благодаря иммунизации организма чужеродными антигенами, и что уровень антител и их аффинность напрямую связаны с наличием иммуногена. В то же время накоплен обширный экспериментальный материал, свидетельствующий об антителах, уровень которых не меняется в течение жизни, а аффинность – константна. Эти иммуноглобулины, в отличие от первых – адаптивных, получили название естественных антител (еАТ). еАТ продуцируются В1-клетками, в то время как адаптивные – В2-лимфоцитами. В данной обзорной работе приводятся общие данные о еАТ и более детально рассматриваются еАТ к антигенам углеводной природы. Рассматриваются гипотезы о происхождении еАТ и механизме активации продуцирующих их лимфоцитов; авторы приводят свои соображения на эту тему, подкрепленные собственными экспериментальными данными о еАТ к гликанам.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: естественные антитела, В1-клетки, бактериальные антигены, аутоантигены, полисахариды, молекулярные паттерны, DAMP.

Только спустя полвека после открытия антител стали выдвигаться предположения о механизме формирования специфичности иммуноглобулинов. Согласно теории Эрлиха – первооткрывателя гуморального иммунитета – антитела предсуществуют в организме и нужны для того, чтобы откликаться на инфекционные агенты [1–3]. Первым серьезным противоречием этим представлениям стали работы Ландштайна, который рассматривал антигены как матрицу для синтеза соответствующих им (cognate) антител и доказывал, что антитела образуются *de novo* в ответ на антиген, с которым организм не встречался раньше [4–6]. Бернет первым обратил внимание на то, что антитела не только отличают «свое» от «чужого», но и формируют долговременную иммунологическую память [7, 8]. В дальнейшем стало общепринятым, что:

1) антитела изначально существуют в организме, но в ничтожных количествах, обнаруживаясь в виде рецепторов на поверхности В-лимфоцитов;

2) в системе иммунитета действует принцип «одна В-клетка – одно антитело»; попав в организм, антиген находит свой В-клеточный рецептор и стимулирует к пролиферации клетку, способную производить антитела;

3) специфичность антител в процессе иммунного ответа повышается благодаря быстро идущему отбору все более аффинных клонов В-клеток;

4) толерантность (отсутствие аутоантител) объясняется элиминированием потенциально аутореактивных клонов В-клеток, контактирующих с антигенами собственных клеток в период эмбрионального развития.

Клонально-селекционная теория завоевала право быть доминирующей в иммунологии, но общепринятая модель индуцированного иммунизацией антителообразования не объясняла существование антител, присутствующих в здоровом организме в течение всей жизни – так называемых естественных антител (еАТ). Последнее время распространяется термин «естествен-

Принятые сокращения: еАТ – естественные антитела, мАТ – моноклональные антитела, DAMP – damage associated molecular patterns (ассоциированные с повреждениями молекулярные паттерны), МАМР – microorganism associated molecular patterns (ассоциированные с микроорганизмами молекулярные паттерны), ТАСА – опухолеассоциированные углеводные антигены.

* Адресат для корреспонденции.

но встречающиеся антитела» (naturally occurring antibodies). Примером являются, в частности, аллоантитела. В данной статье обсуждается именно эта, по-видимому, наиболее противоречивая ветвь гуморального иммунитета.

Существует несколько точек зрения на функциональную роль и происхождение еАТ. Здесь мы рассмотрим их с позиции природы антигенов, являющихся мишенями для еАТ. Первая гипотеза предполагает, что решающее значение имеет специфическая стимуляция В-лимфоцитов, производимая бактериальной микрофлорой. Антитела, появляющиеся в результате этого процесса, выполняют функцию первой линии защиты при инвазии патогенов. Репертуар еАТ обусловлен разнообразием микрофлоры — источника стимулирующих антигенов. Вторая гипотеза основана на предположении об *эндогенной* стимуляции; соответствующие В1-клетки формируются еще в период внутриутробного развития в ответ на антигены, являющиеся продуктами деградации собственных клеток. В дальнейшем, в течение всей жизни индивида, эти еАТ выполняют ту же работу элиминирования отработанного материала, играя важную роль в поддержании гомеостаза. Согласно третьей гипотезе, источником антигенов-стимуляторов В1-клеток являются молекулярные паттерны — группы молекул (как экзогенных, так и эндогенных), формирующие на мембране характерные только для патологических состояний регулярные и часто встречающиеся сочетания. Далее мы обсудим три вышеперечисленные гипотезы о происхождении еАТ, а также рассмотрим отличия еАТ от адаптивных антител более подробно.

95 *VS.* 5 (ОТ АДАПТИВНЫХ ИММУНОГЛОБУЛИНОВ К ЕСТЕСТВЕННЫМ АНТИТЕЛАМ)

Высокоспецифичные адаптивные антитела, продукт В2-лимфоцитов, вырабатываются в ответ на контакт с чужеродным антигеном. Согласно клонально-селективной теории, антитела и лимфоциты нужных специфичностей существуют в организме еще до контакта с антигеном [7, 9]. В-лимфоцит после сенсбилизации антигеном из спящего состояния переходит в фазу активной пролиферации и превращается в плазматическую клетку, производящую антитела определенной специфичности. Согласно логике этой теории, хранить в геноме информацию об антителах к практически бесконечному разнообразию антигенов невозможно и даже бессмысленно, потому что микроорганизмы — если

считать их главным источником опасности — эволюционируют слишком быстро. Основным механизмом увеличения разнообразия антител является соматическая рекомбинация (V(D)J-рекомбинация) двух типов генов, в которых запрограммирована высокая частота мутаций, сопровождающаяся постепенным отбором наиболее аффинных к антигену вариантов В-клеток. Часть В-лимфоцитов превращается в клетки памяти, необходимые для ускоренной реакции на повторное попадание антигена в организм. Для пролиферации В-клетке необходима стимуляция не только извне, т.е. антигеном, но и изнутри — от других участников иммунного ответа, например, Т-хелперов и клеток-регуляторов [2, 10–13]. Клонально-селективная теория работает для ~95% всех вырабатываемых антител.

Остальные 5% являются исключением, механизм формирования их репертуара иной. Речь идет о естественных антителах, которые обнаруживаются в крови в отсутствие явной антигенной стимуляции [12–16]. О том, что их следует отличать от адаптивных антител и рассматривать как отдельную группу (рис. 1), стало понятно еще в начале XX в., когда была открыта система групп крови АВ0. Анти-А и анти-В антитела высокоспецифично реагируют с эритроцитами доноров другой группы; удивительным представляется то, что человек одной группы антигенно не контактировал с человеком другой, т.е. иммунизация в классическом ее виде исключается. Позже были обнаружены другие аллоантитела, направленные, в частности, к антигенам групп крови Rh, Lewis, Ii, P (всего известно 33 системы групп крови), ксеноантигенам, опухолеассоциированным антигенам [17]. И, наконец — наиболее загадочная разновидность — антитела к компонентам собственных нормальных клеток организма, т.е. аутоантитела [18].

Свойства. еАТ относятся преимущественно к классу иммуноглобулинов М, могут быть полиреактивными (т.е. связывать не только химически родственные, но и совсем разные антигены); их аффинность ниже, чем у типичных адаптивных иммуноглобулинов. Уровни еАТ остаются относительно постоянными в течение всей жизни индивида, а репертуар демонстрирует консервативность в пределах всей популяции (или ее части — в случае аллоантител), не зависят от пола и почти не зависят от расовой принадлежности [12, 19–21].

Функции еАТ. Согласно интегрированным современным представлениям, первая из функций — защитная — выражается в быстром реагировании на инвазию патогена. Это позволяет организму получить время, чтобы запустить бо-

более медленный механизм выработки высокоспецифичных адаптивных антител, требующий не менее 1–2 сут; в отсутствие «групп быстрого реагирования», к которым относятся постоянно присутствующие в крови еАТ, этого времени было бы достаточно для критического распространения инфекции. Общее количество иммуноглобулина в крови ограничено, расширение репертуара предсуществующих антител означает снижение концентрации каждого из них; как компромисс, еАТ полиреактивны, т.е. один и тот же белок способен распознавать несколько антигенов. Полиреактивность ведет к снижению аффинности к каждому конкретному антигену

данного иммуноглобулина; в качестве компенсации еАТ преимущественно представлены классом IgM, что повышает их avidность к поливалентным антигенам, характерным для микроорганизмов [12, 20–25].

Вторая важная функция еАТ – обеспечивать утилизацию погибших и состарившихся клеток, а также молекул – продуктов их метаболизма, уровень которых не должен превышать критического [12, 26–29].

Третья функция – барьер для межвидового проникновения вирусов. Ксеноантитела против «альфа-Gal» эпитопа Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc минимизируют возможность заражения челове-

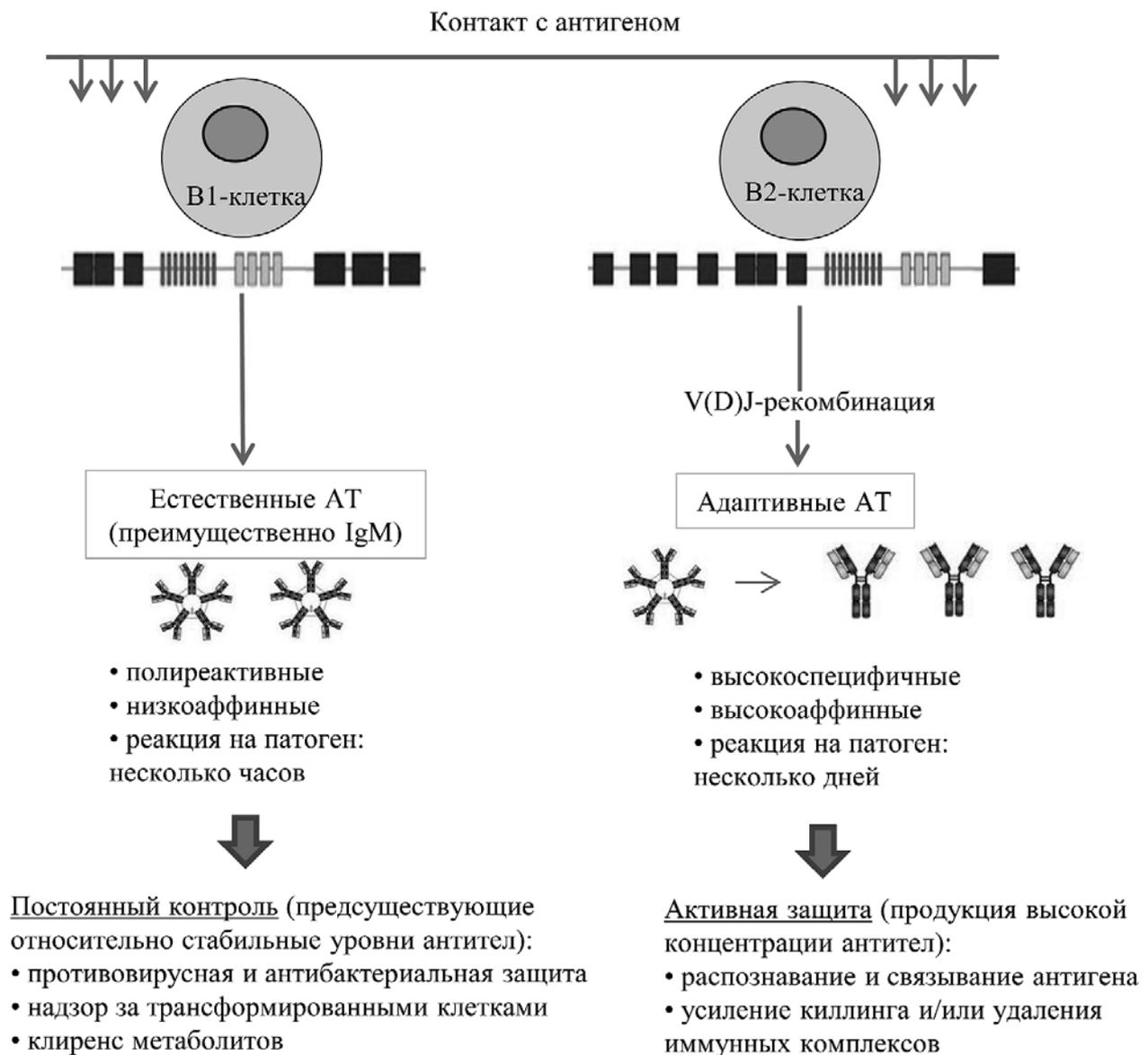


Рис. 1. Отличия адаптивных и естественных антител. Клетки-продуценты, классы иммуноглобулинов и их свойства обуславливают функциональное значение антител этих двух групп

ка мембранными вирусами обезьян и домашних животных (в т.ч. ВИЧ), т.к. вирус не имеет собственного аппарата гликозилирования, а гликозилирование хозяев-млекопитающих (но не человека) приводит к биосинтезу гликопротеинов с терминацией хозяйских гликанов Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc [12, 30].

Наконец, у здоровых людей выявлены еАТ к опухолеассоциированным антигенам, главным образом гликопептидной и гликолипидной природы (подробнее о них будет сказано ниже). Как это положено для всех еАТ, антитела, направленные против опухолеассоциированных антигенов, встречаются у всех индивидуумов, а их концентрация составляет величину порядка 10 мкг/мл [12].

Продуценты естественных антител. В конце XX в. Харди и Хаякава показали, что В-клетки организма состоят из В1- и В2-субпопуляций, различия между которыми принципиальны. В1-клетки закладываются на ранних сроках развития плода и еще до рождения мигрируют в область ассоциированной с кишечником лимфоидной ткани, где они должны функционировать после рождения в течение всей жизни. В отличие от В2-клеток, В1-клетки не требуют пополнения пула из костного мозга, т.к. обладают способностью к самообновлению (self-renewal capacity). В1-клетки спонтанно секретируют антитела класса М и в значительно меньшем количестве – IgG, и это происходит без перестройки V(D)J-сегментов генов [31–34]. Таким образом, синтез естественных антител реализуется так же, как и синтез большинства других белков.

Следует подчеркнуть, что встреча В1-клеток взрослого организма с патогеном-мишенью не приводит к драматическому усилению их пролиферации и синтеза ими иммуноглобулинов [35]. Аналогичной может быть реакция В1-клеток при контакте с множеством разнообразных антигенов на ранних, иммунологически наивных стадиях (до рождения и сразу после рождения). На наш взгляд, такую стимуляцию правильнее назвать *активацией* В1-лимфоцитов, при которой генетически возможный процесс становится реальностью. Вполне уместным оказывается вопрос, зачем нужна стадия стимуляции В1-клеток, почему они (по крайней мере, их большинство) не начинают функционировать «автоматически»? По-видимому, основной причиной является наличие в период внутриутробного развития плода «нестандартных», эмбриональных антигенов, антитела к которым необходимы впоследствии, но в этот период могут навредить. В частности, существуют так называемые онкоэмбриональные гликоантигены, которые экспрессированы на клетках организма

на эмбриональной стадии развития, — они вновь появляются в эпителиальных опухолях, хотя полностью отсутствуют в тканях взрослого человека; в то же время у взрослого человека обнаруживаются еАТ к онкоэмбриональным гликанам [36, 37]. Таким образом, еАТ, необходимые для онконадзора, целесообразно активировать только после рождения. Два косвенных факта свидетельствуют в пользу такого предположения, а именно, что при беременности количество антител падает [38, 39], и что антитела класса М (напомним, что еАТ принадлежат преимущественно к IgM) не проходят через плацентарный барьер [40, 41].

Несмотря на обилие накопленных данных, тема стимулов, приводящих к активации именно таких, а не иных В1-лимфоцитов и синтезу соответствующих еАТ, остается открытой для обсуждения. Существующие гипотезы, как будет показано ниже, пока не способны объяснить все экспериментальные факты. Тем не менее каждая из них ценна и заслуживает внимания, т.к. помогает не только интерпретировать экспериментальный материал, но и критически его оценивать.

ГИПОТЕЗА О БАКТЕРИАЛЬНОЙ СТИМУЛЯЦИИ

Начиная с момента рождения, желудочно-кишечный тракт и отделы дыхательной системы млекопитающих начинают активно колонизоваться бактериями [42, 43]. Около 500 видов непатогенных бактерий составляют основу нормальной микрофлоры кишечника; транзиторная микрофлора представлена всеми остальными видами микроорганизмов, которые встречаются в окружающей среде, но обычно не задерживаются в организме [44, 45]. Количество бактерий варьирует от 10^9 /г содержимого тонкого кишечника до 10^{11} /г в нижнем его отделе [45, 46]. Роль микрофлоры не ограничивается участием в переваривании пищи [47–51]; попадая в макроорганизм, она сама преобразует среду вокруг себя за счет формирования биопленки, которая необходима для закрепления и стабильного размножения, а макроорганизму — для защиты близлежащего эпителиального слоя кишечной стенки [52, 53]. Более того, бактерии способны активно влиять на близлежащие клетки эпителия, стимулируя их синтезировать необходимые для бактерий вещества [54–58]. В ряде случаев комменсальные взаимоотношения переходят в симбиотические, так, бактерии синтезируют витамины [51]. Присутствие разнообразного микробного сообщества в кишечнике

создает конкурентные отношения за сайты адгезии и ресурсы, в норме патогенным микроорганизмам трудно выиграть соревнование у комменсальных и симбиотических бактерий [45, 59, 60].

Многочисленные бактерии и еще большее количество вирусов (включая бактериофаги) находятся в непрерывном взаимодействии с иммунной системой макроорганизма. В литературе можно встретить такое понятие, как «физиологическое воспаление», которое используется при описании перманентно активного состояния, в котором пребывает слизистый иммунитет

[61, 62]. И действительно, подстилающая пластинка кишечника является зоной пограничного контроля (рис. 2). Микроорганизмы в ходе переноса через эпителий кишечника распознаются клетками иммунной системы организма-хозяина. Небольшое их количество воспринимается как иммуноотренировка [64, 65], однако в случае интенсификации процесса переноса может возникнуть бактериемия с вытекающими негативными последствиями.

От целостности слизистого слоя и адекватности реакции слизистого иммунитета зависит

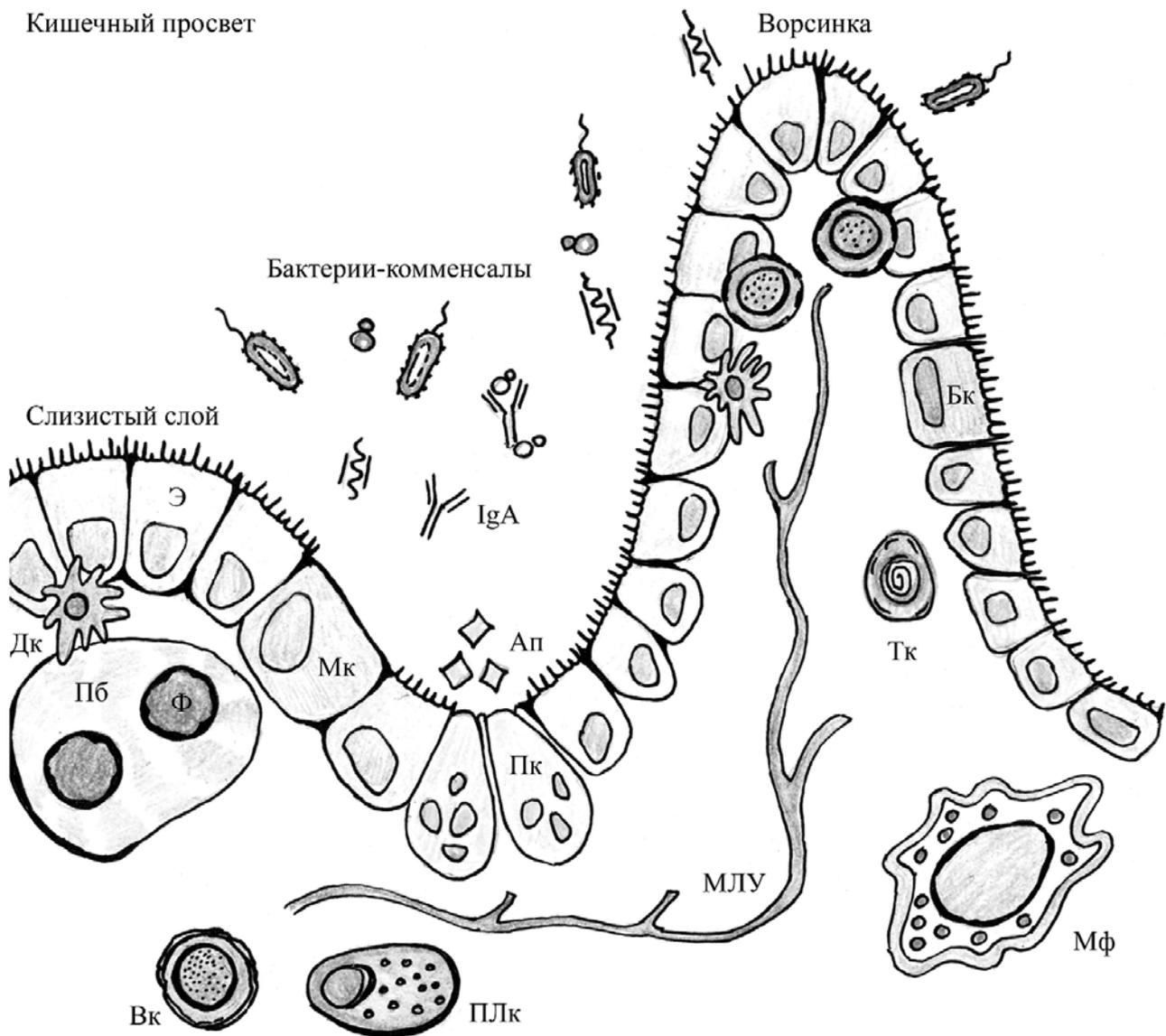


Рис. 2. Просвет кишечной трубки: область активного взаимодействия между компонентами микрофлоры и клетками организма-хозяина, в т.ч. иммунными. Ап – антимикробные пептиды, Бк – бокаловидная клетка, Вк – В-клетка, Дк – дендритная клетка, Мк – М-клетка, МЛУ – мезентериальный (брыжеечный) лимфатический узел, Мф – макрофаг, Пб – пейерова бляшка, Пк – клетки Панета, ПЛк – плазматическая клетка, Ф – фолликул, Э – энтероцит (адаптировано из работы Абреу [63])

поддержание всей системы в сбалансированном состоянии. Микроорганизмы — те, для которых слизистый слой является постоянным местом обитания (индигенная микрофлора), и те, что попадают в организм, но задерживаются ненадолго (транзиторная микрофлора) — являются носителями огромного числа антигенов.

В середине XX в. Спрингер с соавт. описали факт появления в крови человека анти-В (система групп крови АВ0) аллоантител в результате контакта с бактерией, полисахарид которой структурно сходен с антигеном группы крови В. На основании этих и ряда других данных Спрингером была выдвинута гипотеза о том, что еАТ появляются как результат стимуляции энтеробактериями. В работах Спрингера и его коллег понятие стимуляции сходно с иммунизацией, когда в ответ на распознавание бактериального антигена появляются антитела соответствующей специфичности [66, 67].

Концепция Спрингера не объясняет, почему наряду с активацией В1-клеток не происходит классической иммунизации с участием В2-клеток, т.е. активации системы комплемента, развития воспаления и уничтожения источника антигена. Можно предложить несколько вариантов ответа на этот вопрос. Во-первых, природа микроба: в норме комменсалы не стремятся попасть в кровоток, вызывая бактериемию, а остаются в пределах биопленки, которую они сами и формируют. Бактериальная транслокация комменсальных микробов является редким событием, не приводящим к повреждению слизистого слоя [61, 68–70]. Напротив, единичные клетки, преодолевающие слой эпителия, являются тем самым «учебным материалом» для иммунной системы, который позволяет ей находиться в постоянном тонусе. Во-вторых, первые месяцы жизни человека, на которых Спрингер акцентирует внимание в своих работах, являются для организма человека уникальными благодаря временной иммуносупрессии. В-третьих, В1-клетки секретируют антитела с характеристиками, отличными от адаптивных антител (низкая аффинность и полиреактивность).

В пользу гипотезы Спрингера свидетельствуют модельные эксперименты [50, 71, 72], которые показали, в частности, что после контакта стерильных опытных животных с условно патогенными микроорганизмами происходит увеличение разнообразия антител и их титров. Противоречие заключается в том, что даже в отсутствие взаимодействия с окружающей средой стерильные животные обладают определенным набором предсуществующих антител. Как показали в 2000 г. Батлер с соавт., как у стерильных, так и у контактировавших с микроорганизмами

животных активны одни и те же периферические В-клетки [73]. Кроме того, гипотеза Спрингера не объясняет в полной мере «мирное» существование естественных аутоантител.

ЕСТЕСТВЕННЫЕ АНТИТЕЛА = АУТОАНТИТЕЛА? (ГИПОТЕЗА О ВНУТРЕННЕЙ СТИМУЛЯЦИИ)

В то время как Спрингер считает внешние факторы (микроорганизмы) стимуляторами В-клеток в продукции естественных антител, в другой гипотезе, *о внутренней стимуляции*, ведущая роль отводится антигенам собственных клеток.

Многочисленные данные [74–79] не позволяют усомниться в существовании у здоровых людей широкого набора антител, способных связывать собственные (в основном полипептидные) антигены. В литературе используется термин «housekeeping», подразумевающий, что еАТ осуществляют внутренний контроль, поддерживая «чистоту и порядок в доме». еАТ участвуют в клиренсе метаболитов, стареющих (в частности, эритроцитов) и трансформированных клеток. В ходе апоптоза фрагменты клеток подвергаются изменениям, в результате которых ими приобретаются новые антигенные свойства (появляются неоантигены, а также иначе представленные нативные антигены), что приводит к доступности для распознавания антителами. Удаление отработанного материала происходит в основном путем фагоцитоза [2, 80].

Ранее считалось, что аутоантитела являются признаком патологии. Однако благодаря исследованиям последних двух десятилетий накопились данные о том, что аутоантитела присутствуют и в организме здоровых людей. К ним относят, в частности, ауто-АТ к белкам цитоскелета, ДНК, ферментам, структурным компонентам клеточной мембраны. Подчеркнем, что в данном случае речь идет об еАТ не к неоантигенам, а к нормальным компонентам клетки [77, 79, 81–84]. Их парадоксальное на первый взгляд существование хорошо объясняется, если рассматривать это явление не с качественной, а с количественной точки зрения. Действительно, реакция антиген–антитело подчиняется закону действующих масс, т.е. количество комплекса Ag^*Ab определяется как концентрацией Ab , так и концентрацией Ag :

$$[Ag^*Ab] = [Ag] \times [Ab].$$

Это значит, что для элиминирования нежелательных собственных антигенов не обязателен

повышенный уровень антител (компонент Ab), — оно происходит автоматически в силу увеличения концентрации компонента Ag. Несомненно, в крови на действие этого простого закона накладываются другие факторы, такие как неравновесность, а также сопряженность образования Ag*Ab с другими процессами; это дает нам основание предположить, что существует *пороговая* концентрация Ag, ниже которой аутоиммунный процесс элиминирования собственных нормальных компонентов не происходит [12]. Хорошей иллюстрацией этих соображений является так называемое явление *аккомодации*, когда человеку успешно (надолго) пересаживается АВ0-несовместимый орган. Перед и после таких операций у реципиента с помощью А- или В-антигенспецифического сорбента удаляют соответствующие антитела [85]. Аккомодация заключается в том, что уровень вызывающих отторжение антител резко падает, но полностью их синтез все-таки не прекращается.

Нужно отметить, что отличительная особенность еАТ — стабильность их уровня — хорошо согласуется с приведенными выше рассуждениями. Более того, характерное для В2-клеток резкое повышение уровня антител в случае В1-клеток является не только ненужным, но и контрпродуктивным, т.к. приводит к хроническому аутоиммунному процессу. Иными словами, появление аутоагрессивных антител, поражающих собственные органы, по-видимому, является следствием ошибочно высокой продукции нормальных естественных антител [24, 86, 87].

Гипотеза о внутренней стимуляции не дает ответа на вопрос, почему контакт В2-клеток с собственными антигенами приводит к толерантности (элиминированию данного клона), в то время как в случае В1-клеток, наоборот, происходит их активация.

МОЛЕКУЛЯРНЫЕ ПАТТЕРНЫ

На ранних этапах развития иммунологии понятие «антиген» еще слабо соотносилось с понятием «молекула». Развитие молекулярной иммунологии дало нам глубокое понимание механизмов взаимодействия антиген/антитело на уровне молекул, но в то же время привело к перекосу в представлениях, что сущность антигена — антигенная детерминанта — стала восприниматься слишком механистично, т.е. как фрагмент индивидуальной молекулы. Значительный сдвиг парадигмы произошел после осознания того факта, что антигенная детерминанта белка может быть составлена из фрагментов, которые на линейно записанной первичной последова-

тельности далеко отстоят друг от друга. Значительно большего усилия потребовало восприятие того, что антигенная детерминанта может быть составлена из вовсе разных молекул, сближенных в пространстве в силу тех или иных факторов на клеточной мембране. Это могут быть не только соседние молекулы одной структуры (например, кластер ганглиозидов), не только разные молекулы одного класса (например, два полисахарида), но и молекулы разных классов (белок + фосфолипид) [88, 89] (рис. 3).

Таким образом, возникло понятие молекулярного паттерна — устойчивой неслучайной надмолекулярной структуры, составленной из множества сближенных в пространстве молекул [90, 91]. На первый взгляд молекулярные паттерны не представляются удачными мишенями для иммунитета, т.к. благодаря комбинаторике сочетаний число вариантов составных антигенных детерминант стремится к бесконечности. Но более существенным оказывается другое, а именно то, что отбираются, во-первых, только те сочетания, которые сходны или даже идентичны для разных клеток; и, во-вторых, — только многократно повторяющиеся (гриды, паттерны) комбинации, что многократно увеличивает avidность взаимодействия с IgM. Упрощенно их можно разделить на две группы: DAMP — damage (или danger) associated molecular patterns (ассоциированные с повреждениями молекулярные паттерны) и MAMP — microorganism associated molecular patterns (ассоциированные с микроорганизмами молекулярные паттерны) [91]. DAMP — это структуры собственных клеток и тканей; изменения, которым подвергаются клетки в течение жизни, могут носить как патологический (например, при онкотрансформации), так и физиологический характер (старение, апоптоз). Формирование на клеточной мембране устойчивых псевдокристаллических молекулярных комплексов типа рафтов и кавеол общеизвестно; несложно предположить, что на мембране aberrантной клетки (например, из-за иной кривизны) нормальные белки, фосфолипиды и гликолипиды могут сформировать тоже устойчивые, но иные молекулярные комплексы — т.е. DAMP — мишени для еАТ [12, 92].

Понятие MAMP объединяет различные варианты молекул, характерных для микроорганизмов, в первую очередь бактерий. В строении бактерий встречаются повторяющиеся мотивы, в частности в структуре большинства липидов А и значительном числе коров липополисахаридов. Но наиболее важным «материалом» повторяющихся молекулярных паттернов являются полисахариды. Сами по себе капсулярные полисахариды и гликаны липополисахаридов пост-

Мембрана клетки: вид сверху



Элементы мембраны



Варианты паттернов



Белок + фосфолипид

Гликолипид + фосфолипид + гликопротеин

Гликолипид и фрагменты полисахарида

Рис. 3. Схематичное представление молекулярных паттернов на примере элементов греческого орнамента. Если представить себе мембрану клетки (вид сверху), то она представляет собой сложную мозаику упорядоченных и регулярно повторяющихся структур – фосфолипидов, белков, гликопротеинов, полисахаридов (если клетка бактериальная), гликолипидов. Совокупность нескольких молекул, относящихся к одному или разным классам, формирует паттерны, которые на поверхности клетки представлены в многочисленных повторях

роены из повторяющихся олигосахаридных звеньев. Большинство полисахаридов стремится принять конформацию спирали, причем число архетипов этих спиралей весьма ограничено и зависит не столько от структуры моносахаридных остатков, сколько от типа связи между ними (1–2, 1–4 и т.д.) [93]. Иными словами, практически бесконечное разнообразие первичных структур у бактериальных полисахаридов парадоксальным образом рождает общие мотивы на уровне вторичных и третичных структур – основание для распознавания надзорными eAT. Как аналогию можно привести наличие только ~200 кристаллографических групп у миллионов известных кристаллических веществ, а также наличие всего лишь нескольких десятков белковых фолдов у десятков тысяч белков известной третичной структуры. Более того, повторяющиеся молекулярные паттерны могут формироваться соседними плотно упакованными на бактериальной стенке полисахаридами [92, 93]. Кроме полисахаридов необходимо обратить внимание также на повторяющиеся мотивы пептидогликанов как грамотрицательных, так и грамполо-

жительных бактерий, к которым у человека, как экспериментально показано, формируется несколько типов eAT [94]. Косвенным образом сказанное выше подтверждается специфичностью многих лектинов, которые способны связываться с разнообразными классами гликанов, на первый взгляд совершенно непохожих [95]. В ряде работ Хакомори [96–98] описаны так называемые гликосинапсы – устойчивые молекулярные комплексы, обогащенные гликофинголипидами. Эти супрамолекулярные образования выполняют несколько функций, таких как передача сигнала внутрь клетки при взаимодействии с внешними стимулами, в т.ч. с антигликановыми антителами. По Хакомори гликосинапсы видоизменяются при патологиях, поэтому их можно рассматривать как разновидность DAMP, получившую другое устойчивое название.

С позиции классического ответа В2-клеток Т-зависимое представление антигена, сформированного молекулярным паттерном, выглядит затруднительным, если вообще возможным. В то же время для иммуноглобулинов, генерируемых В1-клетками, этого ограничения нет, т.к.

они отобраны не V-ген-рекомбинацией, а длительной эволюцией В1-клеточного звена иммунитета. Т.е. для распознавания молекулярных паттернов В1-клеточный механизм и репертуар еАТ подходят в большей степени. То, что для еАТ отсутствует ограничение, связанное с механизмом презентации антигена, на наш взгляд является ключевой особенностью этих антител. Нужно заметить, что DAMP и MAMP узнаются не только антителами, но и другими классами белков, в частности лектинами, Toll- и NOD-рецепторами [99, 100], однако еАТ имеют перед ними неоспоримое преимущество – их значительно больше. Их число можно оценить: т.к. типичное содержание индивидуальных моноспецифических еАТ в крови составляет величину порядка нескольких мг/л [94], а общее содержание IgM составляет 10^3 мг/л, то высокопредставленных еАТ должно таким образом быть порядка 10^3 специфичностей. Еще раз обратим внимание на то, что еАТ являются в основном иммуноглобулинами класса М, которые благодаря своей десятивалентности максимально соответствуют условиям авидного взаимодействия с повторяющимися участками регулярных моле-

кулярных паттернов. Поливалентность IgM позволяет им быть менее специфичными на уровне одной субъединицы иммуноглобулина [22]. Иными словами, рациональнее иметь разболтанный гаечный ключ, который «с грехом пополам» отвертывает несколько похожих гаек, чем идеально комплементарный инструмент к одной единственной гайке. Кроме того, выгодно хранить в геноме информацию об узнавании не отдельных молекул, а паттернов, которые являются общими для многих бактерий. Разнообразие V-генов ограничено, т.к. в В1-клетках, в отличие от В2-, не происходит соматической гипермутации и поэтому отсутствуют N-концевые вставки [31–34]. Адаптивные антитела должны обеспечивать эффективный иммунный ответ на потенциально бесконечное количество вариантов антигенов. При контакте В2-клетки с антигеном запускается процесс перегруппировки ДНК и транслокации одного из V-генов к одному из J-сегментов; рекомбинация между D- и J-участками происходит в генах тяжелых цепей (рис. 4).

В дополнение к перестройке сегментов генов также включаются дополнительные нуклеоти-

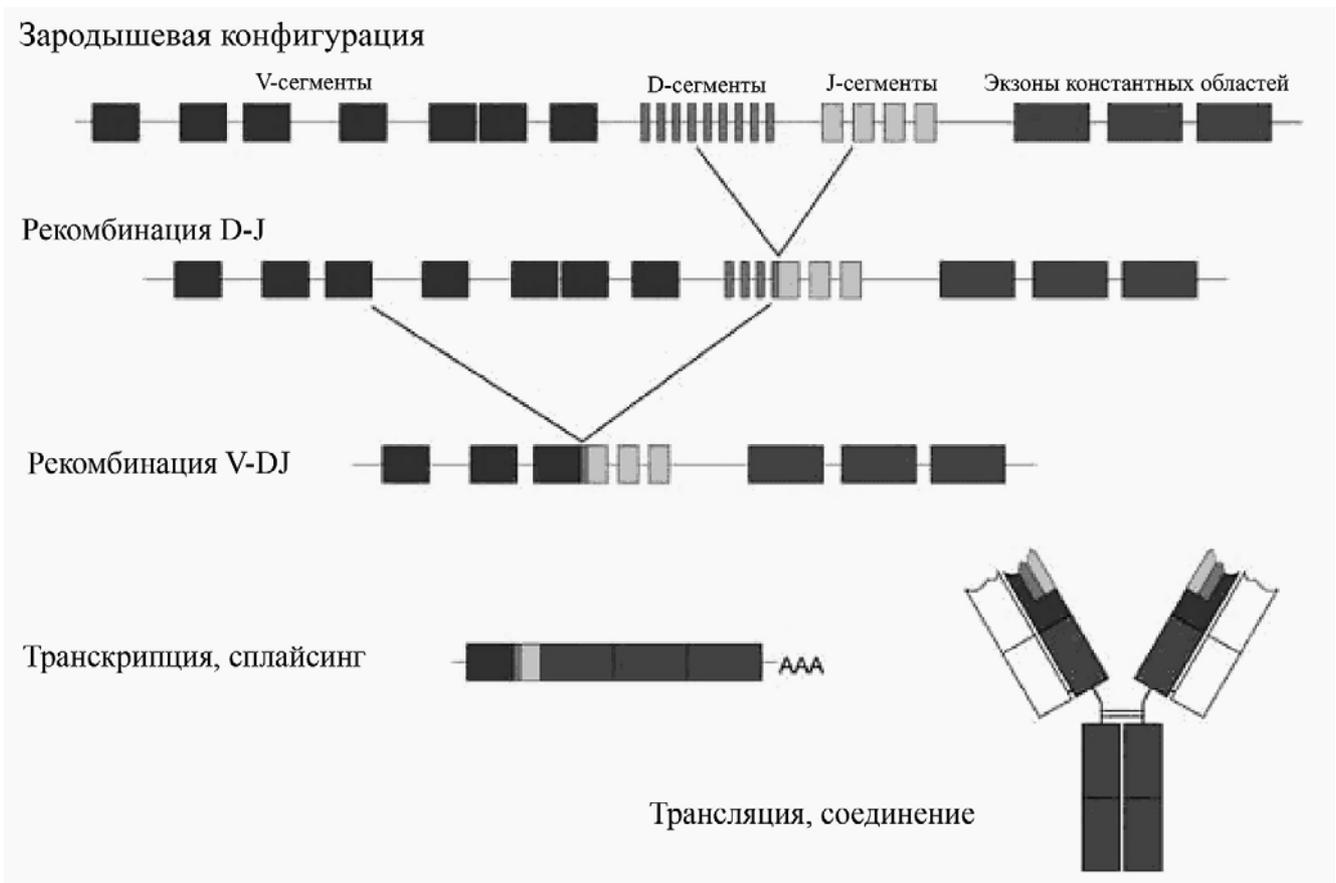


Рис. 4. V(D)J-рекомбинация генов иммуноглобулинов (адаптировано из работы Джейнвей с соавт. [10])

ды, происходят точечные мутации и комбинации тяжелых и легких цепей. Потенциальный набор полученных таким образом антител настолько велик, что продукция иммуноглобулинов в организме индивида начинается в норме только после контакта с антигеном, который и будет определять подходящий вариант [2, 10, 12, 13, 101]. Репертуар еАТ, т.е. набор вариантов специфичностей, также определяется антигенами, но не на уровне иммунологической истории данного индивидуума, а на уровне популяции в целом — эволюцией отобранны наиболее жизненно важные антитела, необходимые для борьбы с наиболее типичными и самыми опасными патологиями.

МОЖНО ЛИ ОБЪЕДИНИТЬ ВСЕ ТРИ ГИПОТЕЗЫ?

Мы полагаем, что на этот вопрос нужно ответить утвердительно, особенно, если идеи Спрингера переосмыслить с точки зрения современных представлений о В1-клетках. Общее для всех трех гипотез заключается в том, что существует популяция особенных антител, синтез которых активируется на ранних стадиях развития организма и в дальнейшем остается почти неизменным. А основное отличие состоит в структуре рассматриваемых антигенов и, в соответствии с этим, в функциях еАТ, что противоречием не является. Идеи о молекулярных паттернах (МАМР) хорошо дополняют не только гипотезу Спрингера о полисахаридах, но и гипотезу об аутоантителах к собственным белкам (т.е. к DAMP), в то же время наполняя чисто иммунологические представления иммуногенетическими.

В своем чистом виде гипотеза № 2 на наш взгляд имеет серьезный изъян в той своей части, где необходимо объяснить активацию клонов В1-лимфоцитов, ответственных за узнавание собственных белков. Действительно, т.к. встреча В-лимфоцитов с антигеном может произойти сразу же после появления у эмбриона этих клеток, то еАТ к своим белкам должны формироваться существенно раньше, чем это наблюдается в реальности. Может ли активация антибелковых еАТ (потенциальных ауто-АТ) происходить без участия белковых антигенов? Мы полагаем, что может, и для объяснения обратимся к явлению молекулярной мимикрии. Известно множество примеров, когда пептидный иммуноген индуцирует формирование высокоспецифичных антител к углеводному антигену, и наоборот [102]. Можно предположить, что активатором для В1-клеток, синтезирующих антитела

к собственным белкам, являются не эти белки, а многочисленные бактерии, с которыми встречается новорожденный организм. Недавние эксперименты по стимуляции стерильных мышей бактериальными антигенами продемонстрировали появление АТ к гликанам, которых не было в составе бактерий-активаторов; а исследования детей в течение первого года жизни показали, что пептиды в составе смесей, которыми их вскармливали, активируют антигликановые антитела (Н.Р. Хасбиуллина с соавт., рукопись готовится к публикации). Оценочное количество числа еАТ у человека приближается к 10^3 (см. выше); известная из литературы [77, 103–105] оценка числа белков, к которым найдены аутоантитела, дает тот же порядок величины, т.е. аутоантител, которые мы можем обнаружить у здорового человека, не так много. С другой стороны, уже упомянутое [44, 45] количество мажорных бактерий микробиоты — ~500 видов — предполагает в десятки и сотни раз большее число потенциальных антигенных детерминант — как классических, так и МАМР-типа, полисахаридной (и не только) природы. Т.е. бактерии микробиоты являются неисчерпаемым резервуаром для активации В-клеток любой (заложенной генетически) специфичности. Напомним, что долгая история конструирования молекулярных вакцин показала, что целые бактерии являются значительно более активными иммуногенами, чем отдельные молекулы или их конъюгаты. Не вдаваясь в детали и рассуждения о причинах этого явления, предположим, что В1-клетки кроме BCR имеют корцепторы (TLR?) для узнавания бактерий, которые приводят к активации В1-клонов, специфичных к аутобелкам, в то время как сами по себе эти белки не являются иммуногенами. Такой парадоксальный «обходной» механизм позволил бы включать В1-клетки именно в нужный момент времени, чтобы избежать аутоиммунной реакции на эмбриональной стадии развития (см. выше).

Таким образом, интегрируя все три гипотезы и дополняя их, мы можем предположить следующий сценарий формирования еАТ. В период до своего рождения организм в норме имеет крайне ограниченные возможности активации В-клеток бактериями, поэтому собственных еАТ у него мало; еАТ относятся преимущественно к классу М, в то время как способностью преодолеть маточно-плацентарный барьер обладают в норме исключительно IgG. Сразу после рождения происходит активная оккупация кишечника микроорганизмами, благодаря чему начинает формироваться репертуар еАТ — к классическим полисахаридным и МАМР-эпитопам бактерий, собственным белкам, алло-

ксеноантигенам, DAMP и гликопептидным опухолеассоциированным эпитопам, анионным полимерам (ДНК, ГАГ) и др. Подчеркнем еще раз, что все разнообразие еАТ, согласно этому предположению, генерируется путем активации микроорганизмами, входящими в состав нормальной микрофлоры (рис. 5).

ВЗГЛЯД ГЛИКОБИОЛОГА

Рассматривая еАТ с позиции гликобиологии, необходимо представить некоторые аспекты этой темы более рельефно. Первый из них обсуждался в предшествующем разделе, — это предположение об активации (стимуляции) В1-клеток полисахаридами и глико-МAMP комменсальных бактерий, независимо от химической природы антигенов-мишеней. Комменсальные бактерии являются настолько богатым резервуаром активирующих эпитопов, что их разнообразие с лихвой покрывает необходимые

потребности в активации как собственно антигликановых, так и антибелковых антител, последних — благодаря молекулярной мимикрии [106].

Второй аспект следует из детального рассмотрения специфичности антигликановых еАТ [107]. Цитируемое исследование показало, что не существует веских оснований отнестись хотя бы одно из многочисленных антигликановых еАТ к истинным аутоантителам, несмотря на то, что формально они направлены к гликанам, типичным для нормальных клеток человека. В частности, это антитела к дисахаридам Le^C , $Fuc\alpha 1-3GlcNAc$, $Fuc\alpha 1-2Gal$, $GalNAc\alpha 1-3Gal$, а также коровым фрагментам гликанов, таким как $-Gal\beta 1-4Glc$ и $-GalNAc\alpha$. Хотя иммуноферментный и другие методы анализа, где углеводный гаптен иммобилизован на твердой фазе (или действующий как ингибитор), однозначно указывают на присутствие и даже высокий титр антител к этим детерминантным фрагментам природных гликанов, тем не менее *in vivo*, в сос-

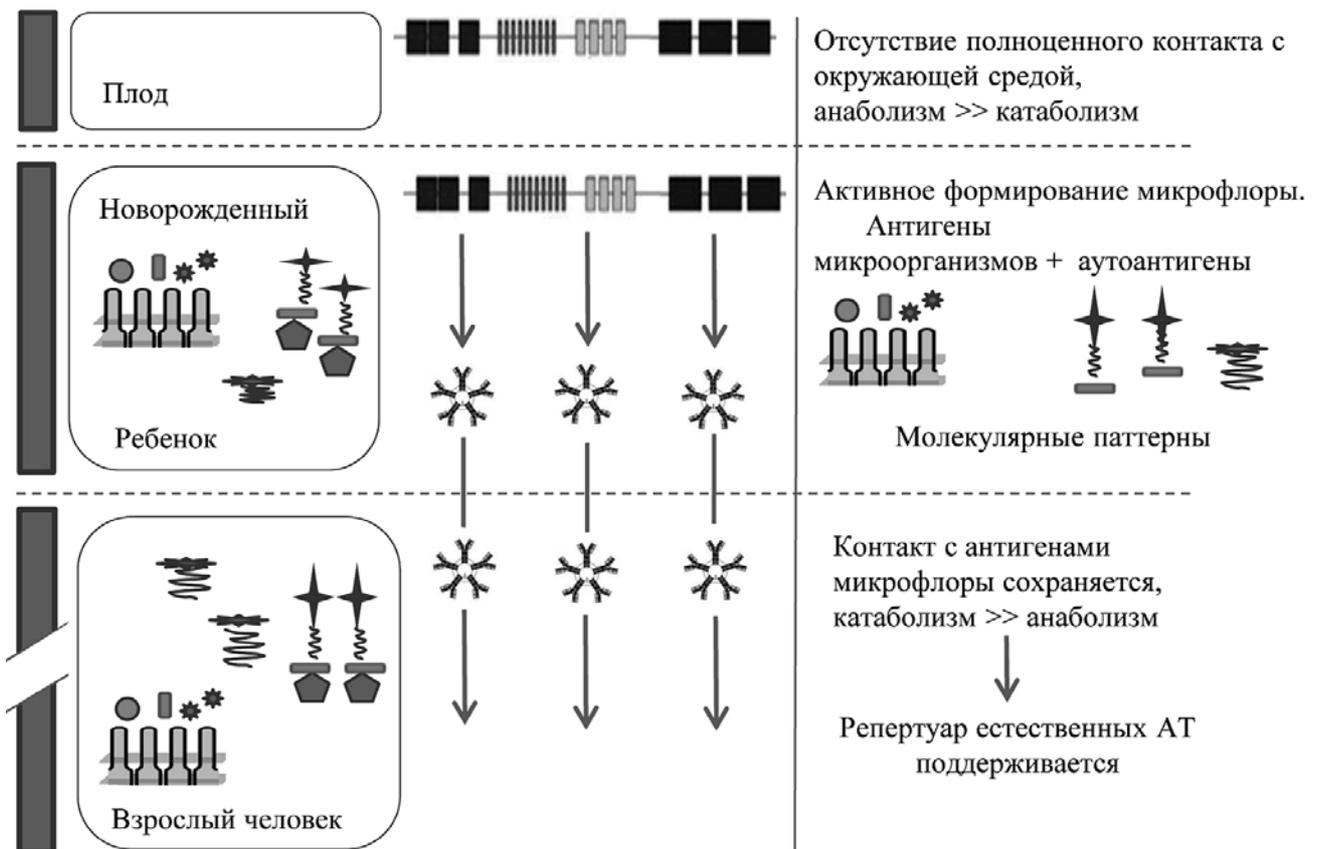


Рис. 5. Формирование репертуара еАТ. На разных этапах онтогенеза наблюдается становление иммунной системы, которая под действием эндогенных (аутоантигены) и экзогенных (антигены окружающей среды, в первую очередь микроорганизмов) факторов реагирует продукцией антител, направленных к паттернам (адаптировано из работы Джейнвей с соавт. [10])

таве живой нормальной клетки, эти еАТ не способны связываться с тем же эпитопом гликопротеина или гликолипида. Объяснение в обобщенном виде можно сформулировать таким образом: эпитопная специфичность обсуждаемых антител такова, что они не связываются с короткими (ди-, трисахаридными) фрагментами, которые в составе природных, более длинных цепей оказываются пространственно маскированными. Поэтому результаты анализа антител человека с помощью рутинных аналитических подходов, основанных на применении небольших олигосахаридов, следует интерпретировать с осторожностью, имея в виду реальный, природный контекст данного гликана.

Приведем здесь только один, но типичный пример. При рассмотрении репертуара антигликановых антител здоровых доноров один из самых высоких титров был отмечен для антител к дисахариду Le^C . Детальное изучение, включавшее аффинное выделение, показало, что с дисахаридом взаимодействуют IgM, нечувствительные к природе заместителя R в составе 3-O-R-Gal β 1-3GlcNAc-X [108]. В то же время их связывание сильно зависит от участка X, любая длинная углеводная цепь с фрагментом Gal β 1-3GlcNAc на невозстанавливаемом конце, например, Gal β 1-3GlcNAc β 1-3Gal β 1-4GlcNAc, полностью инертна к этим еАТ. Из чего однозначно следует, что «анти- Le^C » неспособны взаимодействовать с нормальными природными углеводными цепями, где фрагмент Le^C всегда присоединен к лактозаминному кору. В то же время, согласно данным цитометрического и гистохимического анализа, эти антитела связываются с aberrantными клетками, а именно клетками из *опухали* молочной железы, структура углеводных цепей которых неизвестна [109]. Подчеркнем, что похожее обоснование оказалось справедливым для объяснения толерантности десятков других антигликановых еАТ, особенно антикоровых, для которых роль маскирующей (constraining) группы X играет поверхность клетки или массив белка. Из всего этого был сделан вывод [107], что истинных антигликановых ауто-АТ у здоровых индивидов нет вовсе, и только лишь антитела к опухолеассоциированным эпитопам (TF, Tn, SiaTn и т.п., о них речь пойдет дальше) в какой-то степени можно рассматривать как ауто-АТ.

В свете сказанного нам представляется сомнительным, что другие продукты В1-клеток, антиполипептидные, являются истинными ауто-АТ; подчеркнем, что таких белков у здорового человека много [103–105]. Нельзя ли представления гликобиологов об антигликановых антителах распространить и на интерпретацию данных об

антибелковых еАТ? Есть ли уверенность, что те белки (и тем более синтетические пептиды), которые используют в твердофазных тест-системах при идентификации предполагаемых антибелковых аутоантител, как антигены в точности соответствуют природным белкам в составе нормальной клетки? Мы считаем обоснованным следующее объяснение накопленных данных о наличии аутоантител к белкам у здоровых индивидов: еАТ узнают когнатные (cognate) пептидные эпитопы только в aberrantных ситуациях, например: 1) внутриклеточный белок оказывается вне клетки, 2) в мембраносвязанном белке под действием металлопротеиназы оказывается демаскированным ранее скрытый эпитоп, 3) в результате неполного гликозилирования демаскируется ранее скрытый эпитоп или происходит конформационная перестройка, приводящая к формированию неоэпитопа, 4) образуется комплекс с другой молекулой, что формирует DAMP. Эти соображения не входят в противоречие с тем, что обсуждалось в разделе «Естественные антитела = аутоантитела?», где говорилось о количественной стороне взаимодействия еАТ с белками, т.к. слишком высокая концентрация белка сама по себе свидетельствует об aberrantной ситуации.

Еще одна идея, хорошо развитая в гликобиологии и имеющая право на более широкое распространение, – это концепция опухолеассоциированных углеводных антигенов (ТАСА) [110–112]. В литературе упоминается более пятидесяти ТАСА, идентифицированных химически или иммунохимически в различных опухолях, наиболее изученные из них относятся к гликопептидам – участкам O-гликозилирования и к гликосфинголипидам; когнатные им антитела в действительности, вероятно, направлены к DAMP, а гликомолекулы являются лишь составной частью этих DAMP. К некоторым ТАСА выявлены естественные антитела, часто в высоких титрах, особенно к коровым фрагментам гликопротеиновых O-гликанов, – в первую очередь еАТ к TF, Tn и SiaTn, которые формируются не благодаря присутствию опухоли, а существуют в течение всей жизни, т.е., безусловно, относятся к еАТ [12, 113]. В обсуждавшейся выше концепции Спрингера эти антитела занимают важную позицию: Спрингер считает, что они так же, как и другие еАТ «включаются» (по нашей терминологии активируются) под действием кишечной микрофлоры. Исследования последних лет, выполненные в т.ч. и с помощью гликоэкрэев [114], выявили более широкую и обобщенную группу еАТ к коровым мотивам гликанов, т.е. не только к связке *гликан–белок*, но и к лактозному фрагменту гликосфинголи-

пидов (как мы уже предположили выше – направленных к гликолипид-содержащим DAMP) и, по-видимому, также к GPI-якорю. Некоторые из антикоровых eAT были включены в диагностические сигнатуры, т.е. их уровень существенно отличается у раковых больных [115–117]. Отметим, что уровень eAT к дисахариду TF и некоторым другим TACA у онкобольных *ниже*, чем у здоровых доноров [113, 118], что снова наводит на мысль о надзорной функции этих антител – функции отслеживания и элиминирования клеток с aberrантными (в т.ч. опухолевыми) антигенами. Т.е. индивидуумы с генетически обусловленным пониженным уровнем этих eAT изначально относятся к группе повышенного риска онкотрансформации. Мы считаем, что концепция надзорных eAT хорошо сочетается с идеями о DAMP, т.е. не только антигликановые антитела, но и направленные к пептидным [77, 103–105] эпитомам и тем более к DAMP (сложным составным эпитомам) AT выполняют жизненно важную роль – регулярного распознавания постоянно образующихся трансформированных клеток крови и эндотелия.

Из гликобиологических исследований следует еще одно наблюдение, идущее вразрез с общепринятыми представлениями об eAT, а именно об их низкой специфичности/полиспецифичности. Изучение нескольких десятков антигликановых антител, выделенных с помощью гаптенспецифической аффинной хроматографии (когда гликан иммобилизован на сефарозе), показало, что многие из полученных таким образом моноспецифических поликлональных антител на самом деле высокоспецифичны. Примеров естественных AT с двойной специфичностью мало, один из них – это eAT, способные связываться как с ДНК, так и с ксеноантигеном Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc [119]. В то же время анти-Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc от доноров группы крови В (но не группы крови А [30]) даже в высоком титре не взаимодействуют с антигенами группы крови В, в т.ч. с тетрасахаридом Gal α 1-3(Fuc α 1-2)Gal β 1-4GlcNAc, который отличается от трисахарида Gal α 1-3Gal β 1-4GlcNAc наличием дополнительного остатка L-фукозы, – что говорит об их высокой специфичности. Таким образом, антитела, эволюционно отобранные для уничтожения вирусов животного происхождения, способны взаимодействовать с несколькими вариантами «альфа-Гал»-эпитопов, но в то же время не связываются с большим разнообразием близкородственных антигенов – группы крови В и «histo-blood group В». Т.е. понятия «полиреактивность» и «высокая специфичность» не обязательно являются взаимоисключающими.

В контексте данной главы целесообразно также обсудить терапевтический аспект применения антител (в первую очередь противоопухолевой). Большая часть антител-лекарств получена по традиционной схеме: с помощью антигена-мишени получают гибридомы, из которых отбирают только те, что обладают терапевтическим эффектом, после чего проводят «гуманизацию» отобранного моноклонального антитела (mAT). Терапия такими mAT ставит два вопроса: 1) почему их действующие дозы огромны, 2) почему только некоторые из специфических mAT обладают терапевтическими свойствами, а другие, хорошо связывающиеся с тем же антигеном-мишенью, лекарствами не являются? В свете гипотезы о DAMP ответ дать просто: на самом деле эффективные mAT связываются не с каким-то определенным белком, а с опухоле-специфическим паттерном. Поэтому более перспективным представляется другой путь к терапевтическим mAT, а именно иммортализация тех В1-лимфоцитов человека, которые специфичны к гликопаттернам [120], – именно тех, что эволюционно отобраны для надзора за опухолевыми клетками. Разумеется, терапевтически перспективным этот путь станет только при условии, что будет найден эффективный алгоритм поиска и извлечения этих клеток из миллионов остальных В-лимфоцитов. Применение этой методологии представляется целесообразным для терапии некоторых других патологий, таких как аутоиммунные заболевания и врожденные дефекты В-клеточного звена иммунитета, – если в основе механизма этих патологий заложены нарушения продукции антител.

Несмотря на значительный прогресс в изучении естественных антител и производящих их лимфоцитов, классической и устоявшейся соответствующую область иммунологии назвать пока еще нельзя – множество вопросов остается без ответов или активно обсуждается. Отметим среди них те, которые на наш взгляд требуют более пристального внимания.

1) Принципиальную трудность представляет собой дискриминация естественных и адаптивных антител, имеющих похожую специфичность. В1-отличаются от В2-лимфоцитов специфическим набором кластеров дифференцировки, но продуцируемые ими иммуноглобулины с точки зрения структуры либо неразличимы в принципе, либо используемые в настоящее время методы не позволяют увидеть эти различия. Не исключено, что eAT и адаптивные иммуноглобулины различаются гликозилированием [121, 122], однако этот вопрос еще не изучен. Кроме того, eAT представлены в основном им-

муноглобулинами класса М, а структуру углеводных цепей антител этого класса изучать значительно сложнее по сравнению с IgG.

2) Очевидно, что еАТ формируются в раннем возрасте — в течение первого года жизни, но «нулевая точка» остается неопределенной. Начинается ли процесс активации В-клеток только после рождения или это происходит уже на стадии внутриутробного развития? Вопрос о том, обеспечивает ли плацентарный барьер полную защиту эмбриона от проникновения материнских бактерий, продолжает обсуждаться и дополняется новыми, часто противоречивыми данными [123, 124].

3) Имеющиеся весьма ограниченные данные по репертуару еАТ животных говорят о значительном отличии еАТ человека от антител даже эволюционно близких ему млекопитающих. Интересно было бы проследить изменение репертуара еАТ в ходе эволюции (если оно происходит) или, напротив, обоснованно констатировать, что репертуары антител формируются по законам, не обусловленным эволюцией.

4) Перспективными представляются развернутые и долгосрочные наблюдения процесса формирования репертуара антител у одного и того же индивидуума: а) репертуара (по специфичности) еАТ; б) у него же — кишечной микрофлоры с использованием данных функциональной и сравнительной геномики; в) у него же — колонизации отдельных участков кишечника конкретными сообществами бактерий; г) структуры полисахаридов выявленных бактерий; д) репертуара бактериофагов и их литической специ-

фичности (способности расщеплять тот или иной бактериальный полисахарид). Системный анализ всей совокупности этих данных помог бы понять взаимную обусловленность перечисленных факторов, а также выявить пластичность формирования репертуара еАТ, если она существует.

5) Остается открытым вопрос о механизме толерантности В1-клеток к аутологичным антигенам. Обсуждаемые в данной статье механизмы по большей части остаются пока лишь предположительными. Судьба родственных им В2-клеток после связывания с антигеном хорошо известна: или их «запрет» (анергия, апоптоз), или активация с последующей пролиферацией. Что касается интересующих нас В1-клеток, то молекулярный механизм их стимуляции и условия отбора клонов изучены слабо. Иными словами, непонятно, почему контакт В2-клеток с аутологичными антигенами приводит к элиминированию данного клона, в то время как В1-клетки благодаря этому активируются.

6) С медицинской точки зрения представляется очень важным найти место еАТ в патогенезе аутоиммунитета, т.е. понять, когда еАТ вызывают патологию, а когда, напротив, являются фактором защиты от аутоиммунных реакций.

Авторы выражают благодарность Н.В. Шиловой за критическое прочтение рукописи.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ (проект № 14-14-00579).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Winau, F., Westphal, O., and Winau, R. (2004) Paul Ehrlich — in search of the magic bullet, *Microbes Infect.*, **68**, 786–789.
2. Ройт А. (1991) *Основы иммунологии*, Мир, Москва, с. 328.
3. Абелев Г.И. (1996) Основы иммунитета, *Соросовский образовательный журнал*, **5**, 4–10.
4. Landsteiner, K., and Philip Miller, C.Ph., Jr. (1925) Serological studies on the blood of the primates. II The blood groups in anthropoids apes, *J. Exp. Med.*, **42**, 853–862.
5. Landsteiner, K., and Levine, P. (1927) Further observations on individual differences of human blood, *Proc. Soc. Exp. Biol.*, **24**, 941–942.
6. Burnet, F.M. (1976) A modification of Jerne's theory of antibody production using the concept of clonal selection, *CA Cancer J. Clin.*, **26**, 119–121.
7. Silverstein, A.M. (2009) *A history of immunology*, Academic Press, N.Y., 2nd ed., p. 522.
8. Burnet, F.M. (1978) Clonal selection and after, in *Theoretical immunology* (Bell, G.I., Perelson, A.S., and Pimbley, G.H., Jr., eds), Marcel Dekker Inc., pp. 63–85.
9. Ярилин А.А. (2010) *Иммунология*, ГЭОТАР-Медиа, Москва, с. 749.
10. Janeway, Ch.A., Travers, P., Jr., Walport, M., and Shlomchik, M.J. (2001) *The immune system in health and disease. Immunobiology*, 5th ed., N.Y., Garland Science, p. 385.
11. Schatz, D.G., Oettinger, M.A., and Baltimore, D. (1989) The V(D)J recombination activating gene, RAG-1, *Cell*, **59**, 1035–1048.
12. Lutz, H.U. (2012) Naturally occurring antibodies (NAbs), *Adv. Exp. Med. Biol.*, **750**, vii–x, p. 267.
13. Hayakawa, K., and Hardy, R.R. (2000) Development and function of B-1 cells, *Curr. Opin. Immunol.*, **12**, 346–353.
14. Guilbert, B., Digheiro, G., and Avrameas, S. (1982) Naturally occurring antibodies against nine common antigens in human sera, *J. Immunol.*, **128**, 2779–2787.
15. Zhou, Z.-H., Tzioufas, G.A., and Notkins, A.L. (2007) Properties and function of polyreactive antibodies and polyreactive antigen-binding B Cells, *J. Autoimmun.*, **29**, 219–228.
16. Cohen, I. (2013) Autoantibody repertoires, natural biomarkers, and system controllers, *Trends Immunol.*, **34**, 620–625.
17. Daniels, G. (2003) *Human blood groups*, 3rd ed., Blackwell Science, Oxford, p. 554.

18. Gershvin, M.E., Meroni, P.L., and Shoenfeld, Y. (2006) *Autoantibodies*, 2nd ed., Elsevier Science, p. 862.
19. Avrameas, S. (1991) Natural autoantibodies: from «horror autotoxicus» to «gnothiseauton», *Immunol. Today*, **12**, 154–159.
20. Boes, M. (2000) Role of natural and immune IgM antibodies in immune responses, *Mol. Immunol.*, **37**, 1141–1149.
21. Zhou, Z.-H., Zhang, Y., Hu, Y-F., Wähl, L.M., Cisar, J.O., and Notkins, A.L. (2007) The broad antibacterial activity of the natural antibody repertoire is due to polyreactive antibodies, *Cell Host Microbe*, **1**, 51–61.
22. Racine, R., and Winslow, G.M. (2009) IgM in microbial infections: taken for granted? *Immunol. Lett.*, **125**, 79–85.
23. Ochsenbein, A.F., Fehr, T., Lutz, C., Suter, M., Brombacher, F., Hengartner, H., and Zinkernagel, R.M. (1999) Control of early viral and bacterial distribution and disease by natural antibodies, *Science*, **286**, 2156–2159.
24. Ochsenbein, A.F., and Zinkernagel, R.M. (2000) Natural antibodies and complement link innate and acquired immunity, *Immunol. Today*, **21**, 624–630.
25. Baumgarth, N., Tung, J.W., and Herzenberg, L.A. (2005) Inherent specificities in natural antibodies: a key to immune defense against pathogen invasion, *Springer Semin. Immunol.*, **26**, 347–362.
26. Chou, M.-Y., Fogelstrand, L., Hartvigsen, K., Hansen, L.F., Woelkers, D., Shaw, P.X., Choi, J., Perkmann, T., Backhed, F., Miller, Y.I., Horkko, S., Corr, M., Witztum, J.L., and Binder, C.J. (2009) Oxidation-specific epitopes are dominant targets of innate natural antibodies in mice and humans, *J. Clin. Invest.*, **119**, 1335–1349.
27. Lutz, H.U. (2007) Homeostatic roles of naturally occurring antibodies: an overview, *J. Autoimmun.*, **29**, 287–294.
28. Binder, C.J., Shaw, P.X., Chang, M.-K., Boullier, A., Hartvigsen, K., Horkko, S., Miller, Y.I., Woelkers, D.A., Corr, M., and Witztum, J.L. (2005) The role of natural antibodies in atherogenesis, *J. Lipid Res.*, **46**, 1353–1363.
29. Tsiantoulas, D., Gruber, S., and Binder, C.J. (2013) B-1 cell immunoglobulin directed against oxidation-specific epitopes, *Front. Immunol.*, **9**, 415.
30. Galili, U. (2004) Immune response, accommodation, and tolerance to transplantation carbohydrate antigens, *Transplantation*, **78**, 1093–1098.
31. Hayakawa, K., Hardy, R.R., and Herzenberg, L.A. (1986) Peritoneal Ly-1 B cells: genetic control, autoantibody production, increased lambda light chain expression, *Eur. J. Immunol.*, **16**, 450–456.
32. Bendelac, A., Bonneville, M., and Kearney, J.F. (2001) Autoreactivity by design: innate B and T lymphocytes, *Nature Rev. Immunol.*, **1**, 177–186.
33. Hayakawa, K., Asano, M., Shinton, S.A., Gui, M., Allman, D., Stewart, C.L., Silver, J., and Hardy, R.R. (1999) Positive selection of natural autoreactive B cells, *Science*, **285**, 113–116.
34. Hao, Z., and Rajewsky, K. (2001) Homeostasis of peripheral B cells in the absence of B cell influx from the bone marrow, *J. Exp. Med.*, **194**, 1151–1163.
35. Itakura, A., Szczepanik, M., Campos, R.A., Paliwal, V., Majewska, M., Matsuda, H., Takatsu, K., and Askenase, P.W. (2005) An hour after immunization peritoneal B-1 cells are activated to migrate to lymphoid organs where within 1 day they produce IgM antibodies that initiate elicitation of contact sensitivity, *J. Immunol.*, **175**, 7170–7178.
36. Abelev, G.L. (1971) Alpha-fetoprotein in ontogenesis and its association with malignant tumors, *Adv. Cancer Res.*, **14**, 295–358.
37. Barak, V. (2006) *Tumor biology. Tumor markers, tumor targeting and translational cancer research* (Stigbrand, T., ed.), Karger Medical and Scientific Publishers, N.Y., p. 116.
38. Armenti, V.T., Moritz, M.J., Cardonick, E.H., and Davison, J.M. (2002) Immunosuppression in pregnancy: choices for infant and maternal health, *Drugs*, **62**, 2361–2375.
39. Elliott, A.B., and Chakravarty, E.F. (2010) Immunosuppressive medications during pregnancy and lactation in women with autoimmune diseases, *Womens Health (London)*, **6**, 431–440.
40. Badami, K.G., Vanhecke, C., and Bingham, J. (2009) Maternal IgM anti-D, borderline foetal Doppler middle cerebral artery velocities and absent neonatal haemolysis, *Transfus. Med.*, **19**, 146–147.
41. Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., Raff, M., Roberts, K., and Walter, P. (2002) *Molecular biology of the cell*, 4th ed., Garland Science, N.Y., p. 1616.
42. Mackie, R.I., Sghir, A., and Gaskins, H.R. (1999) Developmental microbial ecology of the neonatal gastrointestinal tract, *Am. J. Clin. Nutr.*, **69**, 1035–1045.
43. Mariat, D., Firmesse, O., Levenez, F., Guimaraes, V.D., Sokol, H., Dore, J., Corthier, G., and Furet, J.-P. (2009) The Firmicutes/Bacteroidetes ratio of the human microbiota changes with age, *BMC Microbiol.*, **9**, 1–6.
44. Ley, R.E., Lozupone, C.A., Hamady, M., Knight, R., and Gordon, J.I. (2008) Worlds within worlds: evolution of the vertebrate gut microbiota, *Nature Rev. Microbiol.*, **6**, 776–788.
45. Dethlefsen, L., Eckburg, P.B., Bik, E.M., and Relman, D.A. (2006) Assembly of the human intestinal microbiota, *Trends Ecol. Evol.*, **21**, 517–523.
46. Lanning, D.K., Rhee, K.J., and Knight, K.L. (2005) Intestinal bacteria and development of the B-lymphocyte repertoire, *Trends Immunol.*, **26**, 419–425.
47. Булатова Е.М., Богданова Н.М. (2010) Значение кишечной микробиоты и пробиотиков для формирования иммунного ответа и здоровья ребенка, *Вопросы современной педиатрии*, **6**, 37–44.
48. Berg, R.D. (1999) Bacterial translocation from the gastrointestinal tract, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **473**, 11–30.
49. Kelly, D., King, T., and Aminov, R. (2007) Importance of microbial colonization of the gut in early life to the development of immunity, *Mutat. Res.*, **622**, 58–69.
50. Cash, H.L., and Hooper, L.V. (2005) Commensal bacteria shape intestinal immune system development, *ASM News*, **71**, 77–83.
51. Kau, A.L., Ahern, P.P., Griffin, N.W., Goodman, A.L., and Gordon, J.I. (2011) Human nutrition, the gut microbiome and the immune system, *Nature*, **474**, 327–336.
52. Otter, J.A., Vickery, K., Walker, J.T., de Lancey, P.E., Stoodley, P., Goldenberg, S.D., Salkeld, J.A., Chewins, J., Yezli, S., and Edgeworth, J.D.J. (2015) Surface-attached cells, biofilms and biocide susceptibility: implications for hospital cleaning and disinfection, *Hosp. Infect.*, **89**, 16–27.
53. Leid, J.G., Willson, C.J., Shirliff, M.E., Hassett, D.J., Parsek, M.R., and Jeffers, A.K. (2005) The exopolysaccharide alginate protects *Pseudomonas aeruginosa* biofilm bacteria from IFN-gamma-mediated macrophage killing, *J. Immunol.*, **175**, 7512–7518.
54. Suzuki, K., Ha, S.-A., Tsuji, M., and Fagarasan, S. (2007) Intestinal IgA synthesis: a primitive form of adaptive immunity that regulates microbial communities in the gut, *Semin. Immunol.*, **19**, 127–135.
55. Cerutti, A., and Rescigno, M. (2008) The biology of intestinal immunoglobulin A responses, *Immunity*, **28**, 740–750.
56. Tsuji, M., Suzuki, K., Kinoshita, K., and Fagarasan, S. (2008) Dynamic interactions between bacteria and immune cells leading to intestinal IgA synthesis, *Semin. Immunol.*, **20**, 59–66.
57. Deplancke, B., and Gaskins, H.R. (2001) Microbial modulation of innate defense: goblet cells and the intestinal mucus layer, *Am. J. Clin. Nutr.*, **73**, 1131–1141.

58. Frederiksen, R.F., Paspaliari, D.K., Larsen, T., Storgaard, B.G., Larsen, M.H., Ingmer, H., Palcic, M.M., and Leisner, J.J. (2013) Bacterial chitinases and chitin-binding proteins as virulence factors, *Microbiology*, **159**, 833–847.
59. Langhendries, J.P. (2005) Early bacterial colonization of the intestine: why it matters, *Ital. J. Pediatr.*, **31**, 360–369.
60. Wold, A.E., and Adlerberth, I. (2000) Breast feeding and the intestinal microflora of the infant-implications for protection against infectious diseases, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **478**, 77–93.
61. Lu, L., and Walker, W.A. (2001) Pathologic and physiologic interactions of bacteria with the gastrointestinal epithelium, *Am. J. Clin. Nutr.*, **73**, 1124–1130.
62. Panigrahi, P., Parida, S., Pradhan, L., Mohapatra, S.S., Misra, P.R., Johnson, J.A., Chaudhry, R., Taylor, S., Hansen, N.I., and Gewolb, I.H. (2008) Long-term colonization of a *Lactobacillus plantarum* synbiotic preparation in the neonatal gut, *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.*, **47**, 45–53.
63. Abreu, M.T. (2010) Toll-like receptor signalling in the intestinal epithelium: how bacterial recognition shapes intestinal function, *Nature Rev. Immunol.*, **10**, 131–144.
64. Guarner, F., and Malagelada, J.-R. (2003) Gut flora in health and disease, *Lancet*, **361**, 512–519.
65. Balzan, S., Almeida, Quadros, A., Cleva, R., Zilberstein, B., and Ceconello, I. (2007) Bacterial translocation: overview of mechanisms and clinical impact, *J. Gastroenterol. Hepatol.*, **22**, 464–471.
66. Springer, G.F., Horton, R.E., and Forbes, M. (1959) Origin of antihuman blood group B agglutinins in germfree chicks, *J. Exp. Med.*, **110**, 221–244.
67. Springer, G.F. (1971) Blood-group and Forssman antigenic determinants shared between microbes and mammalian cells, *Prog. Allergy*, **15**, 9–77.
68. Wagner, R.D. (2008) Effects of microbiota on GI health: gnotobiotic research, *Adv. Exp. Med. Biol.*, **635**, 41–56.
69. De Filippo, C., Cavalieri, D., Di Paola, M., Ramazzotti, M., Poullet, J.B., Massart, S., Collini, S., Pieraccini, G., and Lionetti, P. (2010) Impact of diet in shaping gut microbiota revealed by a comparative study in children from Europe and rural Africa, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, **107**, 14691–14696.
70. Bischof, S.C. (2011) «Gut health»: a new objective in medicine? *BMC Medicine*, **9**, 1–14.
71. Bos, N.A., Kimura, H., Meeuwssen, C.G., De Visser, H., Hazenberg, M.P., Westmann, B.S., Pleasants, J.R., Benner, B., and Marcus, D.M. (1980) Serum immunoglobulin levels and naturally occurring antibodies against carbohydrate antigens in germ-free BALB/c mice fed chemically defined ultrafiltered diet, *Eur. J. Immunol.*, **19**, 2335–2339.
72. Kozakova, H., Kolinska, J., Lojda, Z., Rehakova, Z., Sinkora, J., Zakostelecka, M., Splichal, I., and Tlaskalova-Hogenova, E. (2006) Effect of bacterial monoassociation on brush-border enzyme activities in ex-germ-free piglets: comparison of commensal and pathogenic *Escherichia coli* strains, *Microbes Infect.*, **8**, 2629–2639.
73. Butler, J.E., Sun, J., Weber, P., Navarro, P., and Francis, D. (2000) Antibody repertoire development in fetal and newborn piglets, III. Colonization of the gastrointestinal tract selectively diversifies the preimmune repertoire in mucosal lymphoid tissues, *Immunology*, **100**, 119–130.
74. Coutinho, A., Kazatchkine, M.D., and Avrameas, S. (1995) Natural autoantibodies, *Curr. Opin. Immunol.*, **7**, 812–818.
75. Nores, G.A., Lardone, R.D., Comin, R., Alaniz, M.E., Moyano, A.L., and Irazoqui, F.J. (2008) Anti-GM1 antibodies as a model of the immune response to self-glycan, *BBA*, **1780**, 538–545.
76. Danussi, C., Coslovi, A., Campa, C., Mucignat, M.T., Spessotto, P., Uggeri, F., Paoletti, S., and Colombatti, A. (2009) A newly generated functional antibody identifies Tn antigen as a novel determinant in the cancer cell–lymphatic endothelium interaction, *Glycobiology*, **19**, 1056–1067.
77. Mouthon, L., Hauray, M., Lacroix-Desmazes, S., Barreau, C., Coutinho, A., and Kazatchkine, M.D. (1995) Analysis of the normal human IgG antibody repertoire, *J. Immunol.*, **154**, 5769–5778.
78. Hayakawa, K., and Hardy, R.R. (2005) Development of B cells producing natural autoantibodies to thymocytes and senescent erythrocytes, *Springer Semin. Immunol.*, **26**, 363–375.
79. Lacroix-Desmazes, S., Srinii, U., Kaveri, V., Mouthon, L., Ayoub, A., Malanchere, E., Coutinho, A., and Kazatchkine, M.D. (1998) Self-reactive antibodies natural autoantibodies in healthy individuals, *J. Immunol. Methods*, **216**, 117–137.
80. Pancer, Z., and Cooper, M.D. (2006) The evolution of adaptive immunity, *Annu. Rev. Immunol.*, **24**, 497–518.
81. Servetaz, A., Guilpain, P., Tamas, N., Kaveri, S.V., Camoin, L., and Mouthon, L. (2008) Natural anti-endothelial cell antibodies, *Autoimmun. Rev.*, **7**, 426–430.
82. Ronda, N., Hauray, M., Nobrega, A., Kaveri, S.V., Coutinho, A., and Kazatchkine, M.D. (1994) Analysis of natural and disease-associated autoantibody repertoires: anti-endothelial cell IgG autoantibody activity in the serum of healthy individuals and patients with systemic lupus erythematosus, *Int. Immunol.*, **6**, 1651–1660.
83. Pashov, A., Kenderov, A., Kyurkchiev, S., Kehayov, I., Hristova, S., Lacroix-Desmazes, S., Giltiy, N., Varamballi, S., Kazatchkine, M.D., and Kaveri, S.V. (2002) Autoantibodies to heat shock protein 90 in the human natural antibody repertoire, *Int. Immunol.*, **14**, 453–461.
84. Yadin, O., Sarov, B., Naggan, L., Slor, H., and Shoenfeld, Y. (1989) Natural autoantibodies in the serum of healthy women – a five-year follow-up, *Clin. Exp. Immunol.*, **75**, 402–406.
85. Pierson, R.N., Loyd, J.E., Goodwin, A., Majors, D., Dummer, J.S., Mohacsi, P., Wheeler, A., Bovin, N., Miller, G.G., Olson, S., Johnson, J., Rieben, R., and Azimzadeh, A. (2002) Successful management of an ABO-mismatched lung allograft using antigen-specific immunoadsorption, complement inhibition, and immunomodulatory therapy, *Transplantation*, **15**, 79–84.
86. Wardemann, H., Yurasov, S., Schaefer, A., Young, J.W., Meffre, E., and Nussenzweig, M.C. (2003) Predominant autoantibody production by early human B cell precursors, *Science*, **301**, 1374–1377.
87. Quintana, F.J., and Cohen, I.R. (2004) The natural autoantibody repertoire and autoimmune disease, *Biomed. Pharmacother.*, **58**, 276–281.
88. Oka, Y., Hirabayashi, Y., Ikeda, T., Fujii, H., Ishii, T., and Harigae, H. (2011) A single-stranded DNA-cross-reactive immunogenic epitope of human homocysteine-inducible endoplasmic reticulum protein, *Scand. J. Immunol.*, **74**, 296–303.
89. Allos, B.M., Lippy, F.T., Carlsen, A., Washburn, R.G., and Blaser, M.J. (1998) *Campylobacter jejuni* strains from patients with Guillain–Barre syndrome, *Emerg. Infect. Dis.*, **4**, 263–268.
90. Thornton, C.A., and Morgan, G. (2009) Innate and adaptive immune pathways to tolerance, *Nestle Nutr. Workshop Ser. Pediatr. Program.*, **64**, 45–57.
91. Janeway, C.A., and Medzhitov, R. (2002) Innate immune recognition, *Annu. Rev. Immunol.*, **20**, 197–216.
92. Baldus, S.E., Hanisch, F.G., Kotlarek, G.M., Zirbes, T.K., Thiele, J., Isenberg, J., Karsten, U.R., Devine, P.L., and Dienes, H.P. (1998) Coexpression of MUC-1 mucin peptide core and the Thomsen–Friedenreich antigen in colorectal neoplasms, *Cancer*, **82**, 1019–1027.

93. Горшкова Т.А. (2007) *Растительная клеточная стенка как динамичная система*, Наука, Москва, с. 426.
94. Bovin, N.V. (2013) Natural antibodies to glycans, *Biochemistry (Moscow)*, **78**, 786–797.
95. Knirel, Y.A., Gabius, H.-J., Blixt, O., Rapoport, E.M., Khasbiullina, N.R., Shilova, N.V., and Bovin, N.V. (2014) Human tandem-repeat-type galectins bind bacterial non- β Gal polysaccharides, *Glycoconj. J.*, **31**, 7–12.
96. Hakomori, S. (2001) The glycosynapse, *PNAS*, **99**, 225–232.
97. Hakomori, S., and Handa, K. (2015) GM3 and cancer, *Glycoconj. J.*, **32**, 1–8.
98. Todeschini, A.R., Dos Santos, J.N., Handa, K., and Hakomori, S. (2008) Ganglioside GM2/GM3 complex affixed on silica nanospheres strongly inhibits cell motility through CD82/cMet-mediated pathway, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **105**, 1925–1930.
99. Di Virgilio, F. (2013) The therapeutic potential of modifying inflammasomes and NOD-like receptors, *Pharmacological*, **65**, 872–905.
100. Mills, K.H. (2011) TLR-dependent T cell activation in autoimmunity, *Nature Rev. Immunol.*, **11**, 807–822.
101. Gellert, M. (1997) Recent advances in understanding V(D)J recombination, *Adv. Immunol.*, **64**, 39–64.
102. Hennings, L., Artaud, C., Jousheghany, F., Monzavi-Karbassi, B., Pashov, A., and Kieber-Emmons, T. (2011) Carbohydrate mimetic peptides augment carbohydrate-reactive immune responses in the absence of immune pathology, *Cancers (Basel)*, **3**, 4151–4169.
103. Avrameas, S., Dighiero, G., Lymberi, P., and Guilbert, B. (1983) Studies on natural antibodies and autoantibodies, *Ann. Immunol. (Paris)*, **134**, 103–113.
104. Stahl, D., Lacroix-Desmazes, S., Mouthon, L., Kaveri, S.V., and Kazatchkine, M.D. (2000) Analysis of human self-reactive antibody repertoires by quantitative immunoblotting, *J. Immunol. Methods*, **240**, 1–14.
105. Madi, A., Kenett, D.Y., Bransburg-Zabary, S., Merbl, Y., Quintana, F.J., Boccaletti, S., Tauber, A.I., Cohen, I.R., and Ben-Jacob, E. (2011) Analyses of antigen dependency networks unveil immune system reorganization between birth and adulthood, *Chaos*, **21**, 1–11.
106. Springer, G.F. (1971) Blood-group and Forssman antigenic determinants shared between microbes and mammalian cells, *Prog. Allergy*, **15**, 9–77.
107. Bovin, N., Obukhova, P., Shilova, N., Rapoport, E., Popova, I., Navakouski, M., Unverzagt, C., Vuskovic, M., and Huflejt, M. (2012) Repertoire of human natural anti-glycan immunoglobulins. Do we have auto-antibodies? *Biochim. Biophys. Acta*, **1820**, 1373–1382.
108. Obukhova, P., Piskarev, V., Severov, V., Pazynina, G., Tuzikov, A., Navakouski, M., Shilova, N., and Bovin, N. (2011) Profiling of serum antibodies with printed glycan array: room for data misinterpretation, *Glycocon. J.*, **28**, 501–505.
109. Tupitsyn, N.N., Udalova, Y.A., Galanina, O.E., Kadagidze, Z.G., Borovkova, N.B., Podolsky, V.V., Shinkarev, S.A., Gadetskaya, N.A., Letyagin, V.P., Obukhova, P.S., Shilova, N.V., Subbotina, A.A., and Bovin, N.V. (2009) Tumor-associated glycan Lewis C in breast cancer, *Hematopoiesis Immunol.*, **2**, 45–54.
110. Hakomori, S. (1984) Tumor-associated carbohydrate antigens, *Annu. Rev. Immunol.*, **2**, 103–126.
111. Lloyd, K.O. (1991) Humoral immune responses to tumor-associated carbohydrate antigens, *Semin. Cancer Biol.*, **2**, 421–431.
112. Livingston, P.O. (1995) Augmenting the immunogenicity of carbohydrate tumor antigens, *Semin. Cancer Biol.*, **2**, 357–366.
113. Springer, G.F. (1984) T and Tn, general carcinoma autoantigens, *Science*, **224**, 1198–1206.
114. Huflejt, M.E., Vuskovic, M., Vasiliu, D., Xu, H., Obukhova, P., Shilova, N., Tuzikov, A., Galanina, O., Arun, B., Lu, K., and Bovin, N.V. (2009) Anti-carbohydrate antibodies of normal sera: findings, surprises and challenges, *Mol. Immunol.*, **46**, 3037–3049.
115. Jacob, F., Goldstein, D.R., Huflejt, M., Bovin, N., Pochechueva, T., Spengler, M., Caduff, R., Fink, D., and Heinzelmann-Schwarz, V. (2012) Serum antiglycan antibody detection of nonmucinous ovarian cancers by using a printed glycan array, *Int. J. Cancer*, **130**, 138–146.
116. Bovin, N.V., and Huflejt, M.E. (2008) Unlimited glycochip, *Trends Glycosci. Glycotechnol.*, **20**, 245–258.
117. Cheng, H., Yang, Z., Estabrook, M.M., John, C.M., Jarvis, G.A., McLaughlin, S., and Grif?ss, M. (2011) Human lipopolysaccharide IgG that prevents endemic meningococcal disease recognizes an internal lacto-N-neotetraose structure, *J. Biol. Chem.*, **286**, 43622–43633.
118. Kurtenkov, O., Miljukhina, L., Smorodin, J., Klaamas, K., Bovin, N., Ellamaa, M., and Chuzmarov, V. (1999) Natural IgM and IgG antibodies to Thomsen-Friedenreich (T) antigen in serum of patients with gastric cancer and blood donors, *Acta Oncol.*, **38**, 939–943.
119. Lekakh, I.V., Bovin, N.V., Bezyaeva, G.P., and Poverenny, A.M. (2001) Natural hidden autoantibodies react with negatively charged carbohydrates and xenoantigen Bdi, *Biochemistry (Moscow)*, **66**, 205–210.
120. Krenn, V., von Landenberg, P., Wozniak, E., Kissler, C., Hermelink, H.K., Zimmermann, U., and Vollmers, H.P. (1995) Efficient immortalization of rheumatoid synovial tissue B-lymphocytes. A comparison between the techniques of electric field-induced and PEG fusion, *Hum. Antibodies Hybridomas*, **6**, 47–51.
121. Anthony, R.M., and Ravetch, J.V. (2010) A novel role for the IgG Fc glycan: the anti-inflammatory activity of sialylated IgG Fcs, *J. Clin. Immunol.*, **30**, 9–14.
122. Stadlmann, J., Pabst, M., and Altmann, F. (2010) Analytical and functional aspects of antibody sialylation, *J. Clin. Immunol.*, **30**, 15–19.
123. Wassenaar, T.M., and Panigrahi, P. (2014) Is a foetus developing in a sterile environment? *Lett. Appl. Microbiol.*, **59**, 572–579.
124. Aagaard, K.M. (2014) Author response to comment on «the placenta harbors a unique microbiome», *Sci. Transl. Med.*, **6**, 254–256.

HYPOTHESES OF THE ORIGIN OF NATURAL ANTIBODIES: A GLYCOBIOLOGIST'S OPINION

N. R. Khasbiullina, N. V. Bovin*

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry,
Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10,
Moscow 117997, Russia; E-mail: professorbovin@yandex.ru*

Received March 27, 2015

Revision received April 6, 2015

It is generally accepted that the generation of antibodies proceeds due to immunization of an organism by alien antigens, and the level and affinity of antibodies are directly connected to the presence of immunogen. At the same time, vast experimental material has been obtained giving evidence about antibodies whose level remains unchanged and affinity is constant during a lifetime. In contrast to the first, adaptive immunoglobulins, the latter are named natural antibodies (nAbs). The nAbs are produced by B1 cells, whereas adaptive Abs are produced by B2. This review summarizes general data on nAbs and presents in more detail data on antigens of carbohydrate origin. Hypotheses on the origin of nAbs and their activation mechanisms are discussed. We present our thoughts on this matter supported by our experimental data on nAbs to glycans.

Key words: natural antibodies, B1 cells, bacterial antigens, autoantigens, polysaccharides, molecular patterns, DAMP