РОЛЯТА НА ИНТЕСТИНАЛНА БАРИЕРНА ФУНКЦИЯ В ПАТОГЕНЕЗАТА НА БОЛЕСТТА НА КРОН

В. А. Герова

Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ" – София

THE ROLE OF THE INTESTINAL BARRIER FUNCTION IN THE PATHOGENESIS OF CROHN'S DISEASE

V. A. Gerova

Clinic of Gastroenterology, UMHAT "Tsaritsa Yoanna" – Sofia

***Резюме**. Независимо от интензивните проучвания през последните десетилетия етиологията и патогенезата на болестта на Крон (БК) остават ненапълно изяснени. Понастоящем се приема, че хроничното интестинално възпаление при това заболяване възниква поради неадекватен имунен отговор при генетично предразположени лица в резултат на комплексното взаимодействие на генетични и имунни фактори и фактори от външната среда. Микрофлората в чревния лумен е отделена от лигавицата и подлежащите тъкани чрез мултифункционална клетъчна и секреторна бариера. Нарушената функция на тази бариера е една от най-малко проучените области в патогенезата на БК. Въпреки натрупаните през последните години доказателства за бариерна дисфункция при БК, все още не е напълно изяснен въпросът, дали пермеабилитетните нарушения са патогенетичен фактор, или последствие от мукозното възпаление. Целта на обзора е да се обобщят съвременните данни за нарушенията в интестиналната бариерна функция при болестта на Крон и тяхната роля в патогенезата на заболяването.*

***Ключови думи**: интестинална бариерна функция, болест на Крон, патогенеза, интестинално възпаление*

***Адрес за кореспонденция**: В. А. Герова, Клиника по гастроентерология, УМБАЛ „Царица Йоанна – ИСУЛ", ул. "Бяло море" № 8, София*

Summary. Despite of scientific efforts during the last decades, etiology and pathogenesis of the Crohn's disease (CD) remain unclear. Currently, it is widely accepted that the chronic intestinal inflammation in CD results from an inappropriate immune response that occurs in genetically susceptible individuals as the result of a complex interaction among environmental, genetic and immunological factors. A multifunctional cellular and secretory barrier separates the microbial flora from host tissues. Altered function of this barrier remains a major largely unexplored area in CD. Although there is evidence of barrier dysfunction in CD, it remains unclear whether this is a primary contributor to disease or a consequence of mucosal inflammation. The aim of this review is to summarize the recent advances in the intestinal barrier dysfunction in CD and its role in the disease pathogenesis.

Key words: intestinal barrier function, Crohn's disease, pathogenesis, intestinal inflammation

Address for correspondence: V. A. Gerova, Clinic of Gastroenterology, UMHAT "Tsaritsa Yoanna – ISUL", 8 Byalo more str.

ВЪВЕДЕНИЕ

Интестиналният тракт притежава уникалната двойна функция да бъде метаболитно активен орган за смилане и абсорбция на хранителните вещества и в същото време да действа като селективна бариера срещу вредни микроорганизми или субстанции от чревния лумен. По този начин се поддържа деликатният баланс между лумена и подлежащите тъкани [11, 12].

Интестиналната бариера (ИБ) се състои от секреторни и клетъчни елементи, които се променят в различните части на червото и могат динамично да реагират в отговор на физиологични и имунологични стимули [11, 12, 18].

Секреторната мукусна бариера осигурява физичната и химичната защита от луменни антигени и хидратацията на мукозната повърхност. Ключовата функция на мукуса е да поддържа висока концентрация на антимикробни пептиди в близост до епителa. Епителните клетки представляват структурната, физична бариера, ограничаваща достъпа на микроби и токсини към подлежащите тъкани. Произвеждат повечето от елементите на секреторната бариера и са сензори за сигнали от външната среда, както и излъчват сигнали, регулиращи подлежащия естествен и адаптивен имунитет. Елементите на мукозната имунна система идентифицират и отстраняват достигналите до субепителните

слоеве на чревната лигавица антигенни субстанции [18].

Епителните клетки са поляризирани и стабилизирани чрез цитоскелетон, свързани са в апикалния си полюс посредством интерцелуларни връзки (tight junctions – TJs). Утраструктурно TJs представляват мрежа от непрекъснати анастомозиращи, трансмембранни нишки, съставени от мембранни протеини, свързвани с цитоскелетона чрез плака от интрацелуларни цитоплазмени протеини [12]. Идентифицирани са множество мембранни протеини, като основните са оклудин и фамилията на клаудина (включваща поне 20 тъканноспецифични протеина) и връзковата адхезионна молекула (JAM), принадлежаща към суперфамилията на имуноглобулините. Интрацелуларният комплекс е съставен от протеините на zonula occludens (ZO-1, ZO-2 и ZO-3), цингулин, 7H6, симплекен и ZA1, а също и много сигнални молекули [37].

Чрез формиране на регулирана дифузионна бариера за парацелуларния път TJs са от съществено значение за обмена на субстанции между вътрешната и външната клетъчна среда чрез експресия на тъканноспецифични транспортни протеини и канали [11]. По такъв начин ИБ служи като първа линия на защита срещу вредни субстанции от чревния лумен. Нарушаването ù води до повишаване на интестиналния пермеабилитет (ИП).

През последните години се натрупаха много доказателства за връзката между нарушената интестинална бариерна функция и развитието на автоимунни и възпалителни заболявания. Повишената пенетрация на луменни антигени през чревната лигавица активира неадекватно имунната система и води до развитие на хроничното интестинално възпаление [21].

Болестта на Крон (БК) е хронично възпалително заболяване на гастроинтестиналния тракт (ГИТ) с рецидивиращ ход на протичане. Може да засегне всяка част от ГИТ с широк спектър на клиничните прояви. Независимо от интензивните проучвания патогенезата на БК остава ненапълно изяснена. Заболяването възниква в резултат на комплексното взаимодействие на генетични и имунни фактори и фактори от външната среда с нарушаване на баланса в имунната система [12]. Възникналият неконтролиран имунен отговор към антигени от чревната флора води до мукозно възпаление в ГИТ и/или екстраинтестинални прояви [26]. Нарушенията в интестиналната епителна бариера понастоящем се разглеждат като важен патогенетичен фактор, участващ в генезата на интестиналното възпаление при БК [18].

За пръв път хипотезата за нарушената ИБ като основен дефект при БК е предложена през 1972 г. [32]. В следващите години концепцията за „пропускливата" епителна ИБ е подкрепена от редица експериментални и клинични проучвания [35]. Повишен ИП е документиран при голяма част от пациентите с БК в различни аспекти на заболяването – генетично предразположение [9], активност [22], предразположение към релапс [4] и терапевтичен отговор [10]. Подлежащите клетъчни и молекулярни механизми и регулаторните феномени на бариерната дисфункция обаче са изяснени едва напоследък. Но въпросът, дали повишеният ИП е резултат на първичен дефект в интестиналната пермеабилитетна бариера и е отговорен за развитието на БК, или бариерният дефект е последствие от съществуващ имунен или възпалителен отговор, все още не е получил окончателен отговор [19].

ИНТЕСТИНАЛНИЯТ ПЕРМЕАБИЛИТЕТ КАТО ПЪРВИЧЕН ПАТОГЕНЕТИЧЕН ФАКТОР

БК е полигенно заболяване и няколко гена може да бъдат намесени в пермеабилитетния дефект [10]. Вариантите в NOD2/CARD15 гена са строго асоциирани с повишена чувствителност към БК, поради което е предположена генетична база за повишения ИП [1, 7]. Освен това е установено, че повишеният ИП при БК е асоцииран с наличието на тези генетични варианти [10]. 3020insC вариантът може да бъде генетичният дефект, водещ до субклинично възпаление и последващи пермеабилитетни нарушения [1].

За да се приеме ролята на ИП като причинен фактор при БК, промените трябва да предшестват началото на заболяването. В литературата е описан само един случай на жена с фамилна анамнеза за БК и повишен ИП на 13-годишна възраст, която на 24 години е развила БК. В този случай повишеният ИП вероятно предшества появата на клиничните симптоми на заболяването най-малко с 10 години, тъй като изследванията изключват субклинична БК при установяване на пермеабилитетните нарушения [17].

Проучването на пермеабилитета преди началото на БК е трудно, поради което се прибягва до алтернативни подходи. Първоначално фокусът е насочен към родственици от първа степен на пациенти с БК. Проучванията установяват възможността за генетично или от външната среда индуциран дефект в ИП, който

предшества началото на разгърнато заболяване [35]. Понастоящем е добре известно, че 10-25% родственици от първа степен с БК също имат повишен ИП [34], най-вероятно на базата на субклинично възпаление, установено чрез определяне на фекалния калпротектин [36]. Фамилиите с няколко случая с БК имат патологичен ИП по-често, отколкото фамилиите със спорадични случаи и нарушения в ИП се установяват както при пациентите, така и при техни родственици от първа степен. Връзката между повишения ИП и наличието на CARD15 мутация е потвърдена при пациенти с БК и техни родственици първа степен, но не и при неродствените членове на семейството, които имат почти сходен с контролните лица ИП [3, 34].

Въпреки че ИП не е повишен при всички здрави родственици при базални условия, при значителна част от тях възникват пермеабилитетни нарушения в отговор на фактори, които водят до бариерна дисфункция. Hidsen и сътр. (1996) са установили, че малки дози от ацетилсалицилова киселина при здрави родственици може да провокират значимо по-изразено повишение в екскрецията на пермеабилитетни субстрати в урината в сравнение със здрави контроли [15]. Предполага се, че базалният ИП може да бъде детерминиран от фактори на външната среда, докато реакцията след провокация с токсично за червото средство като аспирин може да бъде генетично детерминирана [34]. Понастоящем липсват проучвания, които да демонстрират директно, че базалното или след НПВС (или друго средство) повишение на ИП при родственици или партньори може да отключи възпалителния отговор при БК.

Вторият подход за проучване на ИП като причина или следствие при БК е изследване на ИП в нормално на вид черво, едновременно in vitro и in vivo. Като се има предвид, че цитокините и простагландините, участващи в имунните реакции при БК, лесно може да проявят системните или локалните си ефекти в нормалните тъкани, тази линия на доказателства в подкрепа на първичния пермеабилитетен дефект при БК може да бъде лесно опровергана. Въпреки това в in vitro проучване е установено, че биопсичният материал от нормална тъкан на пациенти с БК има повишен пермеабилитет и изследването на TJs в нормално тънко черво от пациенти с БК показва, че те са с фрагментирани и неправилно разпределени нишки [20].

Третият подход за изследване е възможността на пермеабилитетните тестове да идентифицират пациентите с повишен риск за релапс. В няколко проучвания повишението на ИП при БК предшества клиничния релапс, което показва ролята на интестиналната бариерна дисфункция в прогресирането на заболяването [4, 10]. Въпреки възможността за субклинично протичане пермеабилитетните промени корелират добре с ендоскопското разпространение на БК и очертават ролята на пермеабилитетните тестове в проследяването на тези пациенти.

Дали ИП типично предшества проявите на заболяването, или е резултат на възпалението, остава ненапълно изяснено. Вероятно повишеният ИП е предшестващ фактор, но възпалението, свързано с активността за заболяването, обостря проблема [10]. Пермеабилитетният дефект може да бъде по-генерализиран, тъй като повишен пермеабилитет е документиран и в стомаха и дуоденума [29], а също и в други тъкани на пациенти с БК (бял дроб) [2]. За разлика от интестиналния, белодробният пермеабилитет вероятно не се повлиява от активността на заболяването.

ИНТЕСТИНАЛНИЯТ ПЕРМЕАБИЛИТЕТ КАТО ПОСЛЕДСТВИЕ ОТ ВЪЗПАЛЕНИЕТО

В редица проучвания се установява, че лечението с елементни диети [3], кортикостероиди [5], анти-tumor necrosis factor-α (TNF-α) [35] не само потиска интестиналното възпаление и води до ремисия, но също и възстановява нарушената ИБ при БК. Данните подкрепят хипотезата, че нарушенията в ИБФ при БК са провокирани от проинфламаторните цитокини [13, 19]. Тези протеинови медиатори регулират имунния отговор при ВЧЗ, способстват за възникване на тъканно увреждане и медиират усложненията като фиброза и обструкция [27]. Супресията на възпалението и възстановяването на ИБ могат да бъдат индуцирани от едно и също лечение, което показва, че възпалението и бариерната функция са тясно свързани [35].

Централната роля на проинфламаторните цитокини TNF-α и Interferon-γ (INF-γ) в интестиналното възпаление и в увреждането на епителната бариера при БК е установена в редица проучвания [6, 25]. В in vitro модели тези цитокини повлияват бариерната функция чрез индуциране на промени в архитектониката на TJs в епителните клетки [6, 37]. Директни доказателства за нарушена епителна резистентност във възпалени чревни участъци при БК са наблюдавани чрез импедансна спектроскопия [19]. Дори при лека до умерена активност TJs комплексите са редуцирани, с намален брой, с прекъсване на нишките и редуцирана дълбочина на TJs мрежата.

Освен промени в структурата на TJs TNF-α и INF-γ индуцират преразпределение и промени в експресията на протеините TJs [19]. Soderholm и сътр. (2004) съобщават, че невъзпалената лигавица на илеума от пациенти с БК има повишен ИП и че повишеното ендозомално свързване на антигените при илеална БК може да бъде медиирано от TNF-α [34]. Дори само латентната дислокация на протеините на TJs, без нарушения в цитоскелетона в неактивната лигавица на пациентите с БК, може да позволи инвазия на антигени от лумена като последствие от функционалното нарушаване на TJs, което от своя страна обратно може да отключи нарушен имунен отговор [25].

При БК епителната апоптоза на активираните Т-клетки е повишена два до три пъти, но функционалните последствия от този феномен са с по-малко значение в сравнение с УК [31]. Повишената епителна апоптоза е важен механизъм в периферния имунен толеранс, което обяснява трудното възстановяване на възпалителните процеси при ВЧЗ [31]. Дефектът в апоптозата при БК е свързан с нарушения баланс между антиапоптозния митохондриален протеин Bcl-2 и проапоптозния митохондриален протеин Bax. Наред с промяна в експресията и преразпределението на протеините на TJs, повишената апоптоза е важен патомеханизъм в нарушаването на ИБ, тъй като апоптозните места представляват локални зони на повишена пропускливост в епитела. Освен в зависимото от апоптозата нарушение на епителната бариерна функция чрез увреждане на TJs е документирана и ролята на TNF-α в дисрегулацията на епителната апоптоза при липса на промени в експресията на TJs протеините [40]. Дефектът в митохондриалните пътища на апоптозата е важна прицелна точка в лечението на БК.

Тези данни са в подкрепа на тясната връзка между възпалителната активност и ИП, като проинфламаторните цитокини TNF-α и INF-γ може да бъдат една от основните връзки между пропускливото черво и БК [6, 28].

НАРУШЕНИЯ В СЕКРЕТОРНАТА БАРИЕРА ПРИ БК

Клетките на Paneth (КП) са специализирани епителни клетки, локализирани в основата на тънкочревните крипти. При контакт с бактерии и бактериални продукти те освобождават АМП, вкл. лизозим, секреторна фосфолипаза А2 и човешки дефензини 5 и 6 (HD5 и HD6), като последните са най-голямото количество АМП, експресирано от КП в тънкото черво [38]. Освобождаването на тези пептиди в лумена на криптите вероятно предотвратява микробната инвазия в самите крипти.

КП експресират и NOD2, интрацелуларния рецептор за мурамил дипептида, освободен от пептогликана в бактериалната стена. Разпознаването на бактериалните продукти от NOD2 активира сигналните трансдукционни пътища чрез нуклеарния фактор Kappa-B (NF-κB) като част от естествения имунен отговор [14].

Wehcamp и сътр. (2005) установяват, че пациентите с илеална БК имат редуцирана mRNA експресия на HD5 и HD6 във възпаления илеум в сравнение с невъзпален илеум и илеума на здрави контроли [38]. Намалението в експресията на α-дефензините е значимо по-изразено при пациентите с мутации в NOD2 и не зависи от степента на възпалението. Функционално последствие от ниските нива на α-дефензините е редуцираната антибактериална активност на илеалната лигавица. Затова се предлага хипотезата, че редуцираната експресия на АМП е първичният фактор, който компрометира мукозната защита на организма и предразполага към развитие на БК в илеума и колона [39].

Simms и сътр. (2008) също установяват редуцирана експресия на α-дефензините HD5 и HD6 във възпалената в сравнение с невъзпалената илеална лигавица на пациенти с БК [33]. Те обаче предполагат, че ако дефектът в продукцията на дефензини е подлежаща (основна) причина за илеалната БК, патологични нива на дефензините би трябвало да има и в невъзпалената илеална лигавица, преди развитието на възпалителните изменения. Според авторите редуцираната дефензинова експресия не зависи от NOD2 генотипа, а от възпалителните процеси в лигавицата и последващата загуба на епителни клетки, без да е отключващ фактор преди възпалението. При веднъж отключено заболяване, тънкочревните крипти вероятно стават по-чувствителни на бактериалната инвазия поради ниските нива на АМП в резултат от загубата на епителни клетки. Инвазиралите бактерии впоследствие биха могли да провокират допълнителен имунен отговор в тънкочревната лигавица.

БК в дебелото черво се характеризира с намален синтез на индуцибилните β-дефензини, отчасти причинен от редуцирания брой DNA копия в генния клъстер на β-дефензините върху хромозома 8p23.1 [24]. Данните са в подкрепа на новата хипотеза за БК като дефензинов дефицит, тъй като нарушената експресия на АМП в чревната лигавица може да доведе до развитие на БСР, полепване на бактерии към епите-

ла, инвазия и последващо възпаление. За разлика от илеалната, функционалните последствия от намалената експресия на АМП в дебелочревната лигавица остават недоказани.

За разлика от β-дефензините между БК и УК не са установени различия по отношение на α-дефензините от метапластичните КП в дебелото черво. При пациентите с NOD2 мутация е намерена намалена експресия на α-дефензините от метапластичните КП, въпреки че броят на тези клетки не е променен [39].

Индукцията на серин-антипротеазите елафин и SLPI е намалена във възпалени в сравнение с невъзпалени колонни биопсии при БК в сравнение с УК [30]. Тези данни показват промяна в баланса протеази/антипротеази към агресивните протеази, което може да предразположи към по-изразена тъканна деструкция и трансмурално възпаление при БК, за разлика от локализираните само в лигавицата процеси при УК. Затова се счита, че елафин и SLPI трябва да бъдат включени в листата на дефензин-подобните пептиди с намалена индукция при БК, в сравнение с УК. Индукцията на кателицидин LL377 също е намалена при БК в колона [38]. За разлика от кателицидина свръхекспресията на BPI е сравнима между БК и УК [23]. В подкрепа на тези наблюдения, горните промени са придружени от значимо по-ниско бактериално унищожаване в биопсични екстракти при БК в сравнение с УК и здрави контроли, което демонстрира, че антибактериалната пептидна бариера на дебелочревната лигавица при БК е функционално дефектна [38].

Възпалената лигавица на дебелото черво при пациенти с БК е с по-дебел мукусен слой и с биохимични промени в муцините поради намалено сулфатиране и повишено сиалилиране [8]. Дължината на олигозахаридната верига е намалена наполовина от нормалното състояние. Налице е и повишена експресия на къси онкофетални карбохидратни структури, като галактоза 1,3 N-ацетилгалактозамин. Тези промени водят до нарушаване на вискоеластичните свойства на образувания гел и повлияват взаимодействията на муцина с микроорганизмите, електролитите, защитните протеини и диетичните съставки и оттук ефективността на функцията на субмукозния слой. Намалената ефективност на мукусната бариера я прави по-чувствителна на бактериалната деградация [16].

Дълго време се е смятало, че промените в състава и биологичните свойства на мукуса са вторични на самото заболяване в резултат на по-бърз пасаж през апарата на Golgi или поради увреждане на посттранслационните процеси [8]. Понастоящем се предполага генетична детерминираност на нарушенията.

При БК са съобщени нормални нива на MUC2 и MUC3. В по-детайлно проучване върху генната експресия на муциновите гени е установено, че MUC2, MUC3 и MUC4 са строго експресирани в илеума на здрави лица и при пациенти с БК. Освен това е намерено редуциране на MUC във възпаления илеум в сравнение с участъците с нормална лигавица от същите пациенти. При сравнение с нормалните контроли също има редукция в нивата на MUC3, MUC4 и MUC5B (открит в много малки количества) при пациентите с БК. Тези промени са установени както в патологично променени, така и в нормални тъкани на пациентите с БК. Това насочва към ранен или първичен мукозен дефект при БК за разлика от MUC1, промените при който вероятно са свързани с възпалителните процеси [36].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В заключение, въпреки че първичният дефект на ИБ може да бъде въвлечен в ранните фази на патогенезата на БК, продукцията на цитокини (TNF-α и INF-γ) в резултат на възпалителните процеси поддържа повишението на ИП чрез реорганизация и промени в експресията на протеините в TJs и в епителната апоптоза. Създава се порочен кръг, при който бариерната дисфункция води до повишена пропускливост за луменните антигени с последващо отключване на имунен отговор, който от своя страна задълбочава пермеабилитетното нарушение. Повишеният ИП корелира с активността на заболяването, нормализира се при навлизане в ремисия и се повишава по време на релапс.

Изучаването на механизмите на интестиналната бариерна дисфункция в патогенезата на БК води до развитието на нови терапевтични стратегии. Имуномодулиращата и биологичната терапия вероятно са част от директните и индиректните механизми за възстановяване на бариерната функция. Промяната в чревната микроекология с антибиотици, пре- и пробиотици също може да подобри ефикасността на мукозната бариера при пациентите с БК. По този начин медикаментозното възстановяване на нарушенията в интестиналната бариера може да повлияе благоприятно патофизиологичните механизми и клиничния изход при това заболяване.

Библиография

1. Annese, V., A. Latiano et A. Andriulli. Genetics of inflammatory bowel disease. The beginning of the end or

the end of the beginning? – Dig. Liver Dis., **35**, 2003, 442-449.
2. Adenis, A. et al. Increased pulmonary and intestinal permeability in Crohn's disease. – Gut, **33**, 1992, 678-682.
3. Aldhous, M. C., D. Meister et S. Ghosh. Modification of enteral diets in inflammatory bowel disease. – Proc. Nutr. Soc., **60**, 2001, № 4, 457-461.
4. Arnott, I. D., K. Kingstone et S. Ghosh. Abnormal intestinal permeability predict relapse in neactive Crohn's disease. – Scand. J. Gastroenterol., **35**, 2000, № 11, 1163-1169.
5. Bovin, M. A. et al. Mechanism of glucocorticoid regulation of the intestinal tight junction barrier. – Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol., **292**, 2007, № 2, G590-598.
6. Bruewer, M. et al. Inteferon gamma induces internalization of epithelial tight junctions proteins via a macropinocytosis-like process. – FASEB J., **19**, 2005, № 8, 923-933.
7. Buhner, S. et al. Genetic basis for increased intestinal permeability in families with Crohn's disease: role of CARD15 3020insC mutation? – Gut, **55**, 2006, 342-347.
8. Corfield, A. P. et al. Mucins and mucosal protection in the gastrointestinal tract: new prospects for mucins in the pathology of gastrointestinal disease. – Gut, **47**, 2000, 589-594.
9. D'Inca, R. et al. Increased intestinal permeability and NOD2 variants in familial and sporadic Crohn's disease. – Aliment. Pharmacol. Ther., **23**, 2006, № 10, 1455-1461.
10. D'Inca, R. et al. Intestinal permeability test as a predictor of clinical course in Crohn's disease. – Am. J. Gastroenterol., **94**, 1999, 2956-2960.
11. Faradi, A. et al. Intestinal barrier: an interface between health and disease. – J. Gastroenterol. Hepatol., **18**, 2003, № 5, 479-497.
12. Fasano, A. et T Shea-Donohue. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. – Nat. Clin. Pract. Gastroenterol. Hepatol., **2**, 2005, № 9, 416-422.
13. Gibson, P. Increased gut permeability in Crohn's disease: is TNF the link? – Gut, **53**, 2004, 1724-1725.
14. Grimm, M. et P. Pavli. NOD2 mutations and Crohn's disease: are Paneth cells and their antimicrobial peptides the link? – Gut, **53**, 2004, 1558-1560.
15. Hidsen, R., J. Medding et L. Sutherland. Intestinal permeability changes in response to acetylsalicylic acid in relatives of patients with Crohn's disease. – Gastroenterology, **110**, 1996, 1395-1400.
16. Hoskins, L. C. Mucin glycoprotein degradation by mucin oligosaccharidase –degrading strains of human fecal bacteria. Characterisation of saccharide cleavage products and their potential role in nutritional support of larger fecal bacterial populations. – Microb. Ecol. Health Dis., **5**, 1992, 193-207.
17. Irvine, E. J. et J. K. Marshall. Increased intestinal permeability precedes the onset of Crohn's disease in a subject with familial risk. – Gastroenterology, **119**, 2000, № 6, 1740-1744.
18. McGuclin, M. et al. Intestinal barrier dysfunction in inflammatory bowel diseases. – Inflamm. Bowel Dis., **15**, 2008, № 1, 2009, 100-113.
19. Mankertz, J. et J. Schulzke. Altered permeability in inflammatory bowel disease: pathophysiology and clinical implications. Inflammatory bowel disease. – Curr. Opin. Gastroenterol., **23**, 2007, № 4, 379-383.
20. Marin, M. et al. A freeze fracture study of Crohn's disease of the terminal ileum: Changes in epithelial tight junction organinization. – Am. J. Gastroenterol., **78**, 1983, 537-547.
21. Martin, G. et J. Wallace. Gastrointestinal inflammation: a central component of mucosal defence and repair. – Exp. Biol. Med., **231**, 2006, 130-137.
22. Miki, K. et al. The sugar permeability test reflects disease activity in children and adolescents with inflammatory bowel disease. – J. Pediatr., **133**, 1998, № 6, 750-754.
23. Monajemi, H. et al. Inflammatory bowel disease is associated with increased mucosal levels of bactericidal/permeability-increasing protein. – Gastroenterology, **110**, 1996, 733-739.
24. Nuding, S. et al. Reduced mucosal antimicrobial activity in Crohn's disease of the colon. – Gut, **56**, 2007, 1240-1247.
25. Oshitani, N. et al. Dislocation of tight junction proteins without F-actin disruption in inactive Crohn's disease. – Int. J. Mol. Med., **15**, 2005, № 3, 407-410.
26. Packey, C. D. et R. B. Sartor. Interplay of commensal and pathogenic bacteria, genetic mutations, and immunoregulatory defects in the pathogenesis of inflammatory bowel diseases. – J. Intern. Med., **263**, 2008, № 6, 597-606.
27. Pallone, F. et G. Monteleone. Mechanisms of tissue damage in inflammatory bowel disease. – Curr. Opin. Gastroenterol., **17**, 2001, № 4, 307-312.
28. Poritz, L. S. et al. Tumor necrosis factor alpha disrupts tight junction assembly. – J. Surg. Res., **116**, 2004, 14-18.
29. Puspok, A. et al. Gastroduodenal permeability in Crohn's disease. – Eur. J. Clin. Invest., **28**, 1998, 67-71.
30. Schmidz, H. et al. Altered tight junction structure contributed to the impaired epithelial barrier function in ulcerative colitis. – Gastroenterology, **116**, 1999, № 2, 301-309.
31. Schulzke, J. D. et al. Disrupted barrier function through epithelial cell apoptosis. – Ann. N. Y. Acad. Sci., **1072**, 2006, 288-299.
32. Shorter, R. G., A. Huizinga et R. T. Spencer. A working hypothesis for the etiology and pathogenesis of IBD. – Am. J. Dig. Dis., **17**, 1972, № 11, 1024-1032.
33. Simms, L. A. et al. Reduced α–defensin expression is associated with inflammation and not NOD2 mutation status in ileal Crohn's disease. – Gut, **57**, 2008, 903-910.
34. Soderholm J. et al. Different intestinal permeability patterns in relatives and spouses of patients with Crohn's disease: an inherited defect in mucosal defence? – Gut, **44**, 1999, 96-100.
35. Suenaert, P. et al. Anti-Tumor necrosis factor treatment restores the gut barrier in Crohn's disease. – Am. J. Gastroenterol., **97**, 2002, № 8, 2000-2004.
36. Thjodleifsson, B. et al. Subclinical intestinal inflammation: an inherited abnormality in Crohn's disease relatives? – Gastroenterology, **124**, 2003, 1728-1737.
37. Utech, M., M. Brumer et A. Nustrat. Tight junctions and cell-cell interactions. – Meth. Mol. Biol., **341**, 2006, 185-195.
38. Wehkamp, J., K. Fellerman et E. F. Stange. Human defensins in Crohn's disease. – Chem. Immunol. Aller., **86**, 2005, 42-54.
39. Wehkamp, J. et A. Robert. A new look at Crohn's disease: breakdown of the mucosal antibacterial defense. – Ann. N. Y. Acad. Sci., **1072**, 2006, 321-331.
40. Zeissig, S. et al. Downregulation of epithelial apoptosis and barrier repair in active Crohn's disease by tumour necrosis factor α-antibody treatment. – Gut, **53**, 2004, 1295-1302.

Постъпила – 26 юли 2010 г.