

Struktura a funkce intestinální epiteliální bariéry

Structure and function of the intestinal epithelial barrier

P. Polák^{1,2}, J. Juránková^{3,4}, P. Husa^{1,2}

¹LF MU Brno

²Klinika infekčních chorob FN Brno

³Katedra laboratorních metod LF MU Brno

⁴Oddělení klinické mikrobiologie, FN Brno

Souhrn: V posledních letech dochází k průlomovým poznatkům týkajícím se ultra-/struktury a funkce intestinální epiteliální bariéry. Současně se ukazuje, jak významná je evolučně získaná schopnost makroorganismu dynamicky koordinovat spolupráci s komplexním kolonizujícím mikrobiálním ekosystémem pro udržení zdraví a k prevenci onemocnění. K porušení intestinální epiteliální bariéry může docházet při akutních i chronických chorobných stavech primárně infekční i neinfekční etiologie. Předkládaný přehled shrnuje aktuální znalosti o struktuře a funkci intestinální epiteliální bariéry.

Klíčová slova: intestinální epiteliální bariéra – těsná spojení – infekce

Summary: In recent years, there has been a revolutionary outbreak of our knowledge about ultra-/structure and function of the intestinal epithelial barrier. During evolution acquired ability of the macroorganism to dynamically coordinate the interaction with the complex colonizing microbial ecosystem has been recently shown to be crucial in the health and in the illness-prevention. As acute as chronic pathological conditions, primarily infectious or non-infectious, may lead to disruption of the intestinal epithelial barrier. The presented overview summarises actual knowledge about structure and function of the intestinal epithelial barrier.

Key words: intestinal epithelial barrier – tight junctions – infection

Lidský organizmus je otevřenou živou soustavou v neustálém intenzivním kontaktu s vnějším prostředím. Celková plocha střevního traktu se odhaduje na 250 m² [1]. V lidském organismu sídlí asi 10¹⁴ bakteriálních buněk (asi desetkrát více buněk, než je eukaryotických buněk našeho těla) tvořených zástupci minimálně 1 000 různých druhů [2–4]. Dálší část zažívacího traktu člověka představuje jeden z nejkompexnějších ekosystémů na planetě Zemi [5]. Každý jedinec má jedinečný, relativně stabilní ekosystém. U dětí je střevní mikroflóra variabilnější a méně stálá než u dospělých [6,7]. Je známo, že porušení mikrobiálního ekosystému je v přímé souvislosti s rozvojem některých akutních (např. kolitida způsobená *Clostridium difficile*, cholera)

či chronických stavů (alergie, nespecifické střevní záněty, obezita). Molekulárně-biologický výzkum některých „klasických“ infekčních patogenů (např. *Vibrio cholerae*) vedl v nedávné době k průlomovým poznatkům, proto je poznání ultrastruktury a funkce intestinální epiteliální bariéry významné pro správné porozumění patofyziologie infekčních onemocnění zažívacího traktu i pro potenciální cílené farmakologické intervence [8]. V následujícím textu jsou diskutovány základní strukturní a funkční aspekty intestinální epiteliální bariéry (IEB).

Základní funkce střevní mikroflóry

Postupně dochází ke změně historického dogmatu: intestinální mikroflóra

již není chápána jen jako potenciální hrozba, ale spíše jako nezbytná integrální součást IEB [9]. Dosud známé funkce střevní mikroflóry jsou přehledně vypsány v tab. 1.

Mastné kyseliny s krátkým řetězcem (např. kyselina butyrová, kyselina propionová a kyselina sukcinová) představují významný zdroj energie pro epitelie tlustého střeva a pro jejich růstovou diferenciaci. Některé komenzální bakterie jsou schopny oslabit prozánětlivou odpověď navozenou jinými, enteropatogenními kmeny [9–12].

Ultra-/struktura intestinální bariéry

Střevní epitel má složitou úlohu vstřebávat různé látky a současně chránit před průnikem škodlivých látek do

Tab. 1. Funkce střevní mikroflóry, upraveno dle [8,9].

Tab. 1. The function of the intestinal microflora, adapted from [8,9].

Ochranná	Strukturální	Metabolická
vytěsnění patogenů	fortifikace intestinální bariéry	metabolismus karcinogenů přítomných v potravě
kompetice o nutrienty	indukce tvorby slgA	syntéza vitaminů (vitamin K, B12, niacin, biotin a kyselina listová)
kompetice o receptory	posílení těsných spojení (tight-junctions, TJ)	absorpce iontů
produkce antimikrobiálních látek	stimulace imunitního systému, tvorba imunitního mikroprostředí	kvašení nestravitelných zbytků
	orální tolerance antigenů	syntéza aminokyselin s krátkým řetězcem (SCFA)
	kontrola diferenciac a proliferace intestinálních epitelálních buněk a regulace jejich obměny	

slgA – sekreční imunoglobulin A, SCFA – short chain fatty acids (aminokyseliny s krátkým řetězcem)

sterilního prostředí makroorganismu. Transcelulárně jsou vstřebávány enzymaticky rozštěpené složky potravy; endocytózou jsou vstřebávány jen krátké peptidy a aminokyseliny. Pokud jsou endocytovány celé proteiny, dochází následně k jejich degradaci v lyzozomech. Za normálních okolností není možný transcelulární průnik bakterií (mechanická ochrana hlenové vrstvy) – toto se však mění při zánětu, metabolickém stresu, v důsledku uvolnění faktoru nádorové nekrózy-α (TNFα), při porušené oxidativní fosforylaci v mitochondriích a při hypoxii. Za těchto okolností mohou přes IEB přestupovat patogenní i nepatogenní kmeny bakterií (výjimkou je sběr antigenů buňkami Peyerových plaků). Intestinální bariéra má několik složek, které uvádí tab. 2.

V dalším textu je podrobněji popsána mechanická a imunologická funkce IEB.

a) Mechanická složka intestinální epitelální bariéry

Střevní sliznice sestává z lamina propria a z jedné vrstvy polarizovaných epitelálních buněk spojených apikálním junkčním komplexem (apical junctional complex – AJC). Enterocyty se tvoří z kmenových buněk umístěných na dně krypt mezi jednotlivými klky – po jejich dělení migrují nově vznikající enterocyty směrem apikálně (tzv. kryptovilózní osa), kde nahrazují buňky pod-

léhající apoptóze v tzv. extruzní zóně. Z těchto kmenových buněk se současně tvoří i Panethovy buňky (součást vrozeného imunitního systému), pohárkové buňky (tvorba mucinu) a enteroendokrinní buňky. Extruze a fyziologicky probíhající apoptóza nevedou k porušení bariérové funkce epitelu, protože i TJ se dynamicky tvoří, přeskupují a mění svou funkci dle aktuální potřeby [9,10,13,14]. Základní funkcí této mechanické bariéry je zabránit paracelulárnímu průniku molekul obsažených ve střevním lumen [14].

Struktura a funkce těsných spojení (tight junctions)

Apikální junkční komplex (AJC) sestává z tzv. těsných spojení (tight junctions – TJ) na lumenální straně bariéry, na které naléhají aderenční/apikální junkce (AJ). Těsná spojení brání influxu mikrobů a jejich toxinů, antigenů, enzymů i degradovaných složek potravy. Na molekulární úrovni jsou těsná spo-

jení svými proteiny (klaudin, occludin, junkční adhezní molekula A [JAM] a tricelulin) zakotvena do aktinomyozinové intracelulární sítě pomocí perijunkčního prstence. Dynamická interakce s cytoskeletem buňky určuje soudržnost i plasticitu AJC během morfogeneze i v nemoci. V různých tkáních se liší složení, struktura i počet TJ [15–17]. Některé typy klaudinu představují receptory pro bakteriální enterotoxiny (např. klaudin 3 a 4 pro enterotoxiny *Clostridium perfringens*). TJ ovlivňují polaritu apikální a bazolaterální membrány, působí jako senzor pro extracelulární signály a jejich extracelulární komponenta funguje jako multidynamická liganda jak pro homofilní molekuly (occludin, JAM), tak pro heterofilní molekuly (klaudin). Je zajímavé, že dendritické buňky (patřící mezi tzv. antigen prezentující buňky) vysílají i za fyziologických okolností své dendrity exprimující proteiny TJ (occludin, klaudin 1 a ZO-1) ze subepitelálního prostoru

Tab. 2. Složky intestinální epitelální bariéry, upraveno dle [9,10].

Tab. 2. Components of intestinal epithelial barrier, adapted from [9,10].

Mechanická (fyzikální)	mucin
Chemická	antimikrobiální peptidy
Imunologická	sekreční imunoglobulin A (slgA) difúzní lymfoidní tkáň Peyerovy plaky
Biologická	mikrobiota

Tab. 3. Imunosenzorické buňky střeva, upraveno dle [9].

Tab. 3. Immuno-sensory cells of the intestine, adapted from [9].

	Epiteliální buňky	M-buňky	Intestinální dendritické buňky (IDCs)
funkce	syntéza chemokinů a cytokinů	transport lumenálních antigenů k dendritickým buňkám	transport viabilních bakterií do mezenterálních lymfatických uzlin

do štěrbin mezi epiteliálními buňkami za účelem sběru antigenů ve střevním lumen, a to aniž by docházelo k porušení integrity IEB [15,18,19].

U nespecifických střevních zánětů i u intolerance lepku (celiakie) byl popsán fenomén tzv. epiteliálně-mezenchymální tranzice: změna polarizace buněk se zvýšenou endocytózou endoluminálních antigenů a redistribuce proteinů TJ [16]. V důsledku invaze patogenů, metabolického stresu či expozice některým lékům (např. nesteroidním antiflogistikům) dochází k poruše dynamické rovnováhy IEB. Střevní epiteliální buňky pak produkují i prozánětlivé cytokiny a reaktivní formy kyslíku, což vede k otevření paracelulárních TJ a k aktivaci subepiteliálních imunitních buněk [13,24–26].

b) Imunologická složka intestinální epiteliální bariéry

V současnosti se intestinální epiteliální vrstva považuje za aktivní součást vrozené imunity. Antimikrobiální peptidy (AMPs) produkované enterocyty jsou malé kationické molekuly se širokým spektrem účinku proti grampozitivním i gramnegativním bakteriím, houbám i kvasinkám. Patří mezi ně defenziny (vylučované z granul Panethových buněk) a AMPs související s cathelicidinem (cathelicidin-related AMPs) z epiteliálních buněk. Tyto látky mají velmi významný vliv na utváření a dynamiku intestinální mikrobioty již od časného postpartálního stadia ontogeneze. Obdobnou aktivitu má i sekreční IgA – komenzální bakterie jsou kryty pláštěm vysoce specifického sIgA (v anglosaské literatuře tzv. „bacterial coating“), který je chrání před likvidací imunitními buňkami [3,5,8–10,14].

Imunologická složka IEB inhibuje bakteriální adhezi, neutralizuje viry a toxiny, může pohltnout některé antigeny schopné navodit systémovou závažnou reakci a je schopna aktivovat C3 složku komplementu [20]. Na toleranci fyziologické mikrobioty se za normálních okolností podílí i záměrně oslabená produkce prozánětlivých cytokinů makrofágy v lamina propria střeva po stimulaci lipopolysacharidem (tyto buňky exprimují buněčné znaky CD14 a Toll-like receptory 4, TLR4) [13].

Imunosenzorická funkce střeva

V posledních letech přibývá důkazů, že střevo patří mezi základní imunitně aktivní orgány lidského organismu. Přehled imunosenzorických buněk přítomných ve střevě podává tab. 3.

Imunitní rozpoznávání

Střevní imunosenzorické buňky jsou vybaveny dvěma skupinami receptorů rozpoznávajících patogeny (pathogen recognition receptors – PRR): toll-like receptory (TLR) a receptory označované NOD/CARD (nucleotide oligomerization domain/caspase activation and recruitment domain). TLR slouží k rozpoznávání antigenů v extracelulárním nebo endozomálním kompartmentu. NOD-like receptory jsou umístěny v buněčné cytoplazmě a slouží k řízení prozánětlivých a proapoptotických procesů. Rozličná buněčně-specifická exprese TLR, rozmístění TLR na membránách a jejich signální dráhy umožňují klasickým i neklasickým buňkám imunitního systému kódovat jedinečný typ odpovědi na extrémní množství mikrobiálních a endogenních ligand [19–21]. Před rozvojem chronic-

Tab. 4. Chorobné stavy související s porušenou intestinální epiteliální bariérou.

Tab. 4. Pathological conditions associated with impaired intestinal epithelial barrier.

Akutní stavy

akutní intestinální ischemie
ischemicko-reperfuční poškození
infekce/sepse
po operaci, po ozáření

Chronické stavy

malnutrice/obezita
parenterální výživa
chronické srdeční selhávání
chronické selhání ledvin
chronické jaterní onemocnění
nespecifické střevní záněty (IBD)

kého zánětu brání fyziologicky nízká konstitutivní míra exprese TLR buňkami imunitního systému.

Bylo prokázáno, že mutace vedoucí ke kombinované poruše funkce TLR4 a NOD2 predisponuje kriticky nemocné k těžkému průběhu onemocnění a k úmrtí [19,21,23].

Nejčastější akutní a chronické stavy související s porušenou strukturální i funkční integritou intestinální epiteliální bariéry jsou shrnuty v tab. 4 [25,26].

Závěr

Současný výzkum se intenzivně věnuje hlubšímu poznání struktury i funkce intestinální epiteliální bariéry ve zdraví i nemoci a vzájemné interakci s komplexním mikrobiálním ekosystémem makroorganismu. V budoucnu lze očekávat vývoj specifických terapeutických (i nutričních) nástrojů ať již k prevenci infekčních onemocnění nebo k cílené fortifikaci intestinální epiteliální bariéry během akutních i chronických onemocnění.

Literatura

1. Selleri S, Palazzo M, Deola S et al. Induction of pro-inflammatory programs in enteroendocrine cells by the Toll-like receptor agonists flagellin and bacterial LPS. *Int Immunol* 2008; 20(8): 961–970.
2. Boroni Moreira AP, de Cássia Gonçalves Alfnas R. The influence of endotoxemia on the molecular mechanisms of insulin resistance. *Nutr Hosp* 2012; 27(2): 382–390.
3. Choi I, Blaser MJ. The human microbiome: at the interface of health and disease. *Nat Rev Genet* 2012; 13(4): 260–270.
4. Dethlefsen L, Relman DA. Incomplete recovery and individualized responses of the human distal gut microbiota to repeated antibiotic perturbation. *Proc Natl Acad Sci USA* 2011; 108 (Suppl 1): 4554–4561.
5. Korecka A, Arulampalam V. The gut microbiome: scourge, sentinel or spectator? *J Oral Microbiol* 2012; doi: 10.3402/jom.v4i0.9367.
6. Palmer C, Bik EM, DiGiulio DB et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007; 5(7): e177.
7. Clarke TB, Francella N, Huegel A et al. Invasive bacterial pathogens exploit TLR-mediated downregulation of tight junction components to facilitate translocation across the epithelium. *Cell Host Microbe* 2011; 9(5): 404–414.
8. O'Hara AM, Shanahan F. The gut flora as a forgotten organ. *EMBO Rep* 2006; 7(7): 688–693.
9. deFoneska A, Kaunitz JD. Gastrointestinal mucosal defense. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26(6): 604–610.
10. Yu LC, Wang JT, Wei SC et al. Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: From physiology to pathology. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2012; 3(1): 27–43.
11. Lata J, Juránková J. Střevní mikroflóra, slizniční bariéra a probiotika u některých interních chorob. *Med Pro Prax* 2012; 9(3): 106–112.
12. Tlaskalová H. Střevní imunitní systém a komensální bakterie. *Medical tribune* 2008; 4(11): A5.
13. Derikx JP, Luyer MD, Heineman E et al. Non-invasive markers of gut wall integrity in health and disease. *World J Gastroenterol* 2010; 16(42): 5272–5279.
14. Assimakopoulos SF, Papageorgiou I, Charonis A. Enterocytes' tight junctions: From molecules to diseases. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2011; 2(6): 123–137.
15. Vaziri ND, Goshtasbi N, Yuan J et al. Uremic plasma impairs barrier function and depletes the tight junction protein constituents of intestinal epithelium. *Am J Nephrol* 2012; 36(5): 438–443.
16. Hering NA, Fromm M, Schulzke JD. Determinants of colonic barrier function in inflammatory bowel disease and potential therapeutics. *J Physiol* 2012; 590(5): 1035–1044.
17. Baranwal S, Naydenov NG, Harris G et al. Nonredundant roles of cytoplasmic β - and γ -actin isoforms in regulation of epithelial apical junctions. *Mol Biol Cell* 2012; 23(18): 3542–3553.
18. Weber CR. Dynamic properties of the tight junction barrier. *Ann N Y Acad Sci* 2012; 1257: 77–84.
19. Cunningham KE, Turner JR. Myosin light chain kinase: pulling the strings of epithelial tight junction function. *Ann NY Acad Sci* 2012; 1258: 34–42.
20. Song DH, Lee JO. Sensing of microbial molecular patterns by Toll-like receptors. *Immunol Rev* 2012; 250(1): 216–229.
21. Scirocco A, Matarrese P, Petitta C et al. Exposure of Toll-like receptors 4 to bacterial lipopolysaccharide (LPS) impairs human colonic smooth muscle cell function. *J Cell Physiol* 2010; 223(2): 442–450.
22. Chan KL, Wong KF, Luk JM. Role of LPS/CD14/TLR4-mediated inflammation in necrotizing enterocolitis: pathogenesis and therapeutic implications. *World J Gastroenterol* 2009; 15(38): 4745–4752.
23. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011; 91(1): 151–175.
24. Pinzone MR, Celesia BM, Di Rosa M et al. Microbial translocation in chronic liver diseases. *Int J Microbiol* 2012; doi: 10.1155/2012/694629.
25. Al-Sadi R, Khatib K, Guo S et al. Occludin regulates macromolecule flux across the intestinal epithelial tight junction barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2011; 300(6): G1054–G1064.
26. Wang F, Jiang H, Shi K et al. Gut bacterial translocation is associated with microinflammation in end-stage renal disease patients. *Nephrology (Carlton)* 2012; 17(8): 733–738.

Podpořeno MZ ČR – RVO
(FNBr, 65269705).

Autoři deklarují, že v souvislosti s předmětem studie nemají žádné komerční zájmy. The authors declare they have no potential conflicts of interest concerning drugs, products, or services used in the study.

Redakční rada potvrzuje, že rukopis práce splnil ICMJE kritéria pro publikace zasílané do biomedicínských časopisů. The Editorial Board declares that the manuscript met the ICMJE „uniform requirements“ for biomedical papers.

Doručeno/Submitted: 8. 8. 2013

Přijato/Accepted: 18. 11. 2013

MUDr. Pavel Polák
Klinika infekčních chorob FN Brno
Jihlavská 20, 625 00 Brno
pavel.polak@fnbrno.cz