

REVISIÓN

Función barrera intestinal y su implicación en enfermedades digestivas

Eloísa Salvo-Romero¹, Carmen Alonso-Cotoner^{1,2}, Cristina Pardo-Camacho¹, Maite Casado-Bedmar¹ y María Vicario^{1,2}

¹Laboratorio de Neuro-Immuno-Gastroenterología. Unidad de Fisiología y Fisiopatología Digestiva. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Servicio de Aparato Digestivo. Hospital Universitari Vall d'Hebron. Universitat Autònoma de Barcelona. Barcelona. ²Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd)

ABREVIATURAS

EII, enfermedad inflamatoria intestinal; GALT, *gut-associated lymphoid tissue*; IFN- γ , interferón γ ; Ig, inmunoglobulina; IL, interleuquina; JAM, *junctional adhesion molecules*; MLCK, *myosin light-chain kinase*; NOD, *nucleotide-binding oligomerization domain receptors*; PAMPs, *pathogen-associated molecular patterns*; PRRs, *pattern recognition receptors*; SII, síndrome del intestino irritable; SNC, Sistema nervioso central; SNE, Sistema nervioso entérico; TGF- β , *transforming growth factor- β* ; Th, células *T helper*; TLR, toll-like receptor; TNF- α , *tumor necrosis factor α* ; UA: unión adherente; UE, unión estrecha; VIP: *vasoactive intestinal peptide*; ZO: *Zonula occludens*.

RESUMEN

La superficie de la mucosa del tracto gastrointestinal está revestida de células epiteliales que establecen una barrera efectiva, mediante uniones intercelulares, entre el medio interno y el medio externo, impidiendo el paso de sustancias potencialmente nocivas. Sin embargo las células epiteliales también son responsables de la absorción de nutrientes y electrolitos, por lo que se requiere una barrera semipermeable que permita el paso selectivo a ciertas sustancias, mientras que evite el acceso a otras. Para ello, el intestino ha desarrollado la "función barrera intestinal", un sistema defensivo compuesto por diferentes elementos, tanto extracelulares como celulares, que actúan de forma coordinada para impedir el paso de antígenos, toxinas y productos microbianos y, a la vez, mantiene el correcto desarrollo de la barrera epitelial, el sistema inmunitario y la adquisición de tolerancia hacia los antígenos de la

dieta y la microbiota intestinal. La alteración de los mecanismos que componen la función barrera favorece el desarrollo de respuestas inmunitarias exageradas, y, aunque se desconoce su implicación exacta, la alteración de la función barrera intestinal se ha asociado al desarrollo de enfermedades inflamatorias en el tracto digestivo. En esta revisión se detallan los diferentes elementos que componen la función barrera intestinal y las alteraciones moleculares y celulares más características en enfermedades digestivas asociadas a la disfunción de este mecanismo de defensa.

Palabras clave: Barrera intestinal. Uniones estrechas. Sistema inmunitario intestinal.

INTRODUCCIÓN

El cuerpo humano está expuesto diariamente a sustancias potencialmente nocivas y agentes infecciosos que amenazan el equilibrio entre salud y enfermedad. Una de las regiones que mayor carga antigénica recibe es el tracto gastrointestinal, por el tipo de función que desempeña y por presentar la mayor superficie en contacto con el exterior, con un área aproximada de 250 m² (1). Para asegurar la homeostasis interna, el tracto gastrointestinal desarrolla la función digestiva mediante la digestión y absorción de los nutrientes, el transporte de agua y electrolitos y la secreción de agua y proteínas a la luz intestinal. Además, es necesaria una función defensiva que impida el paso de sustancias potencialmente nocivas, como microorganismos patógenos, antígenos o factores proinflamatorios, desde la luz intestinal hacia el medio interno y que permita, al mismo tiempo, el paso selectivo de sustancias que favorecen el desarrollo del sistema inmunitario intestinal y la tolerancia inmunológica (2). De hecho, la mucosa intestinal está especialmente adaptada para la colonización por bacterias comensales que participan en los procesos digestivos e influyen decisivamente en el desarrollo y la función del sistema inmunitario intestinal (3). Estas dos funciones, digestiva y defensiva, son llevadas a cabo gracias a la

Financiación: Fondo de Investigación Sanitaria, Instituto de Salud Carlos III, Subdirección General de Investigación Sanitaria, Ministerio de Economía y Competitividad: FI12/00254 (ES-R); PI12/00314 (CA); CP10/00502 & PI13/00935 (MV); Centro de Investigación Biomédica en Red de Enfermedades Hepáticas y Digestivas (CIBERehd): CB06/04/0021 (CA, MV).

Recibido: 14-05-2015
Aceptado: 25-05-2015

Correspondencia: María Vicario. Laboratorio de Neuro-Immuno-Gastroenterología. Unidad de Fisiología y Fisiopatología Digestiva. Vall d'Hebron Institut de Recerca. Hospital Universitario Vall d'Hebron. Paseo Vall d'Hebron, 119-129. 08035 Barcelona
e-mail: maria.vicario@vhir.org

Salvo-Romero E, Alonso-Cotoner C, Pardo-Camacho C, Casado-Bedmar M, Vicario M. Función barrera intestinal y su implicación en enfermedades digestivas. *Rev Esp Enferm Dig* 2015;107:686-696.

peculiar anatomía de la mucosa intestinal y, en particular, de la denominada “función barrera intestinal” en la que confluyen diferentes mecanismos, inmunológicos y no inmunológicos, que actúan de forma coordinada para asegurar su correcto funcionamiento (4). La alteración en los mecanismos de defensa que componen esta función barrera favorece el paso de sustancias luminales al medio interno, que en condiciones normales serían excluidas, dando lugar al desarrollo de respuestas inmunitarias exageradas que, a su vez, pueden amplificar la disfunción de la barrera y perpetuar el proceso inflamatorio. Aunque se desconoce su implicación exacta, la alteración de la función barrera intestinal se ha asociado al desarrollo de enfermedades inflamatorias en el tracto digestivo (celiaquía, enfermedad inflamatoria intestinal, síndrome del intestino irritable), pero también a otras patologías extradi digestivas como la esquizofrenia, la diabetes o la sepsis, entre otras (5,6). Este artículo describe los elementos que componen la función

barrera intestinal en condiciones de homeostasis, así como en patologías gastrointestinales asociadas a su disfunción.

ANATOMÍA DE LA BARRERA INTESTINAL

Los elementos que componen la barrera intestinal se clasifican en diferentes niveles de protección, los cuales, en función de su naturaleza y su localización anatómica, se agrupan en elementos extracelulares y celulares (Fig. 1).

Elementos extracelulares

La primera línea de defensa del tracto gastrointestinal se encuentra en la propia luz intestinal, donde los microorganismos y antígenos son degradados de manera inespecífica por acción del pH, las secreciones gástricas, pancreáticas y

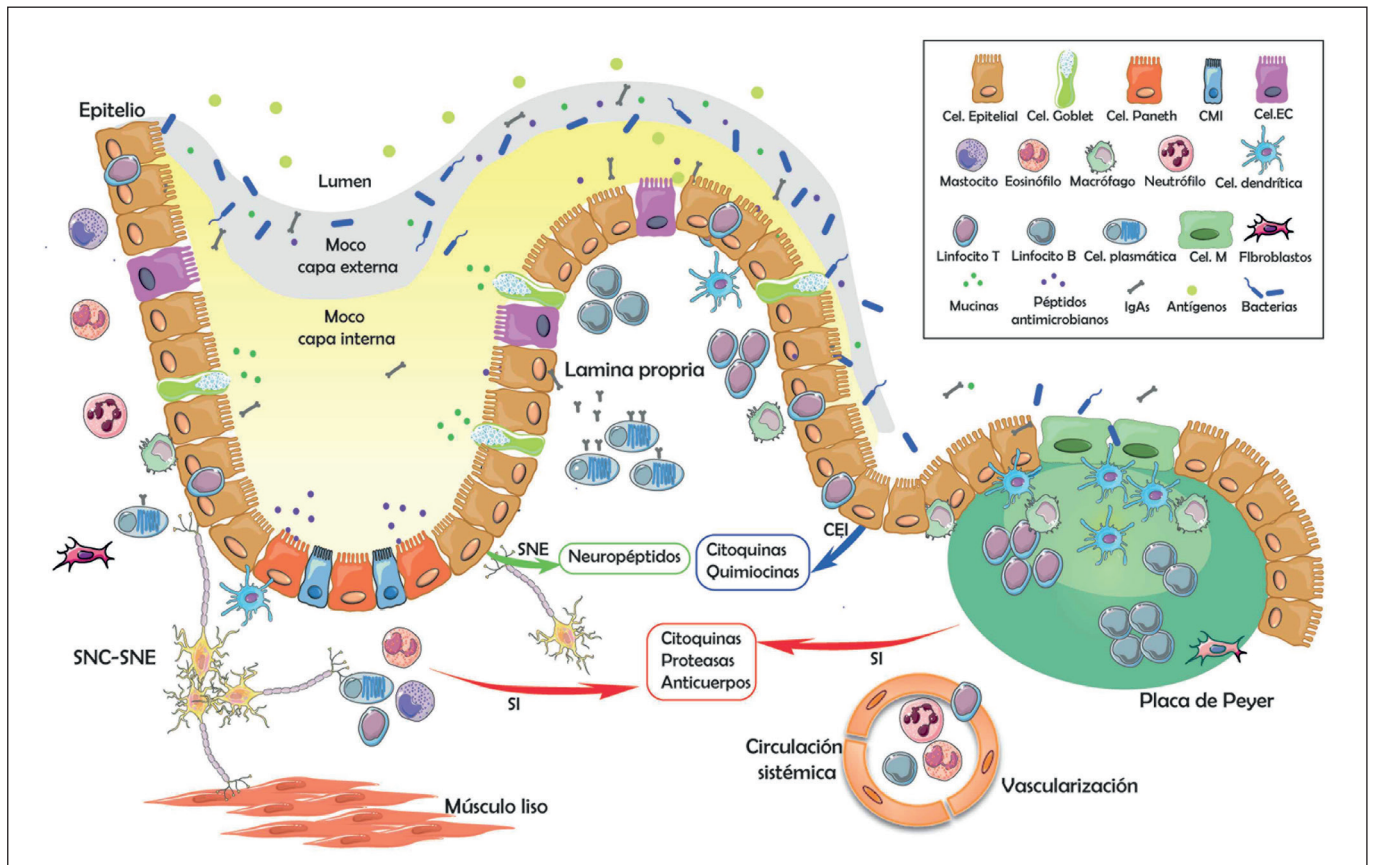


Fig. 1. Anatomía y componentes de la barrera intestinal. La mucosa intestinal se compone de una monocapa de células epiteliales columnares polarizadas, así como de la región subepitelial que contiene la lamina propia, el sistema nervioso entérico, el tejido conectivo y las capas musculares. En el epitelio están presentes los enterocitos, las células de Goblet, que sintetizan y liberan mucina, las células de Paneth, que sintetizan péptidos antimicrobianos, las células enterocromafines, que producen hormonas y otras sustancias, y las células madre intestinales. Por encima de la barrera epitelial se encuentra la capa de moco no agitada, que contiene glicocáliz, y a continuación la capa de moco agitada, que contiene la microbiota, IgA secretora, mucinas y péptidos antimicrobianos. Los linfocitos intraepiteliales se encuentran por encima de la membrana basal, subyacentes a la unión estrecha. La lamina propia contiene el tejido linfóide difuso compuesto de macrófagos, células dendríticas, células plasmáticas, linfocitos de la lamina propia y, en algunos casos, neutrófilos, y el tejido linfóide organizado, compuesto de estructuras linfoides como la placa de Peyer, que contiene células M, células dendríticas y linfocitos (SNC: sistema nervioso central; SNE: sistema nervioso entérico; SI: sistema inmunitario; CEI: célula epitelial intestinal; CMI: célula madre intestinal; Cel. EC: célula enterocromafín; IgAs: IgA secretora).

biliares. Las enzimas digestivas, principalmente proteasas, lipasas, amilasas y nucleasas, ejercen una acción tóxica sobre los microorganismos a través de la destrucción de la pared celular (7), consiguiendo eliminar en un primer paso una gran parte de los microorganismos procedentes de la dieta. Recubriendo el epitelio intestinal se encuentra un microclima consistente en una capa de moco, agua y glicocálix de aproximadamente unas 100 micras de espesor, secretado fundamentalmente por las células caliciformes o células de Goblet con propiedades hidrófobas y tensoactivas, que previene la adhesión de las bacterias entéricas al epitelio intestinal (8). Dentro de la propia capa mucosa se puede diferenciar una capa más externa (capa de moco agitada), que contribuye a la retención de secreciones mucosas ricas en péptidos antibacterianos y previene la adhesión a la mucosa y la invasión transepitelial posterior por parte de microorganismos (9,10). Esta capa contiene inmunoglobulina A secretora (IgAs) (11) sintetizada por células plasmáticas de la *lamina propria* y productos antimicrobianos secretados por las células de Paneth, como fosfolípidos, mucinas cargadas negativamente y péptidos con actividad frente a bacterias, levaduras, hongos, virus e incluso células tumorales, como los péptidos trébol (*trefoil factor family*, TFF), catelicidinas, ribonucleasas y defensinas (9).

Los péptidos antimicrobianos provocan la lisis bacteriana mediante la formación de poros en la membrana, aunque también algunos de estos péptidos, como por ejemplo las criptidinas 2 y 3, son capaces de inducir un aumento en la secreción de agua en la luz intestinal, arrastrando las bacterias presentes en la superficie epitelial (12,13) (Fig. 2). Las defensinas también participan en la modulación de la composición de la microbiota y, por lo tanto, en la conformación de la respuesta inmunitaria adaptativa (14). Adherida al epitelio se encuentra la capa de moco no agitada, más densa, llamada también glicocálix, que facilita la absorción de nutrientes, mantiene la hidratación epitelial y protege el revestimiento epitelial de las fuerzas de cizallamiento lumbales y de las enzimas digestivas (15). El glicocálix también participa en la renovación y diferenciación epitelial, así como en el mantenimiento de la tolerancia oral, limitando la inmunogenicidad de los antígenos intestinales mediante la producción de señales tolerogénicas (16). Por otra parte, la secreción de cloro y agua a la luz intestinal, llevada a cabo principalmente por los enterocitos, impide la colonización bacteriana y ralentiza la translocación de antígenos a la *lamina propria* ya que ejerce un efecto de dilución sobre el contenido intestinal (17). Finalmente, el peristaltismo, ejercido por las capas musculares del intes-

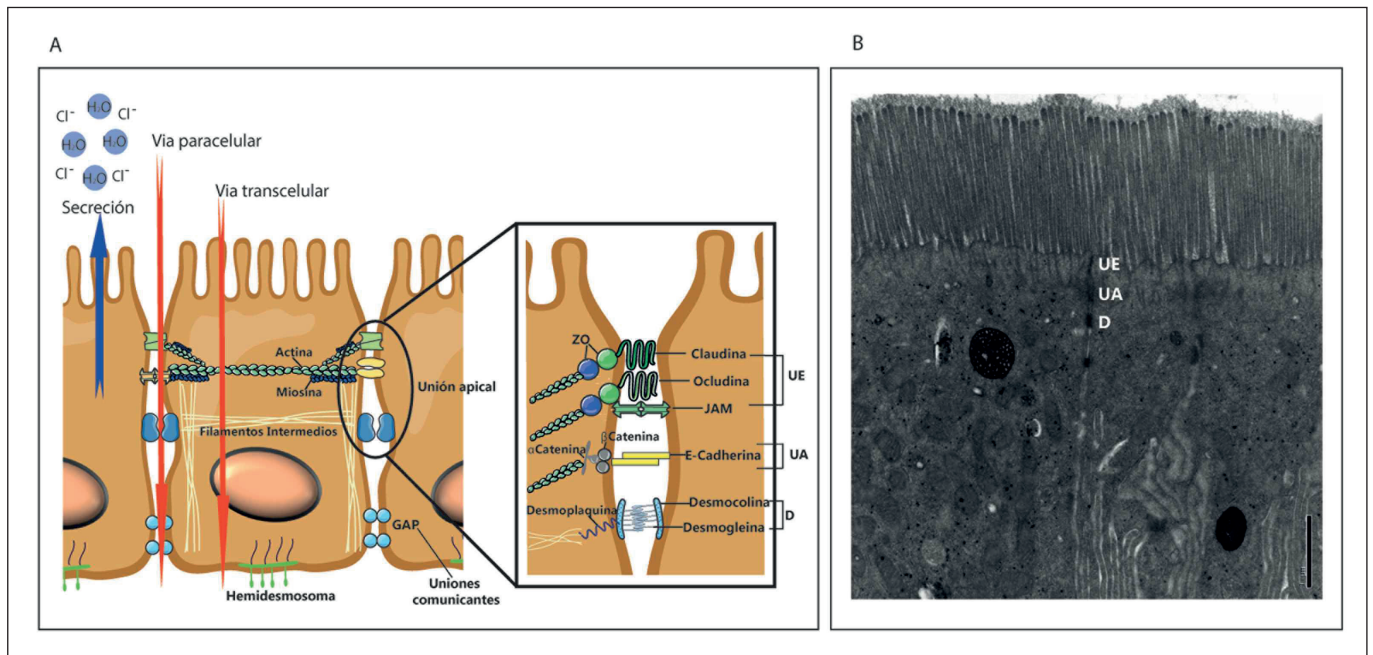


Fig. 2. Representación de las uniones intercelulares. A. Los enterocitos son las células más abundantes del epitelio intestinal. Principalmente, se encargan de la absorción de nutrientes y la secreción de agua y cloro al lumen intestinal. Las sustancias que se encuentran en la luz intestinal pueden atravesar el epitelio a través de la ruta transcelular, o entre las células a través de la ruta paracelular. Los complejos de unión intercelulares, compuesto por uniones estrechas, uniones adherentes, uniones comunicantes y desmosomas, son estructuras dinámicas que restringen el paso de macromoléculas de más de 50 Å. La integridad y la estructura de la célula epitelial es modulada en gran parte por el citoesqueleto, principalmente por actina, miosina y filamentos intermedios. Las células se adhieren a la membrana basal a través de los hemidesmosomas. Se indica en detalle el complejo de unión apical: las uniones estrechas se componen principalmente de caludinas, ocludinas y proteínas JAM, las cuales se asocian a las *zonula ocludens* que conectan con el citoesqueleto. Las uniones adherentes se componen de caderinas, como la E-caderina, la cual se une a las cateninas (α y β cateninas) que conectan con el citoesqueleto. Los desmosomas están compuestos principalmente por desmocolina y desmogleína, las cuales interaccionan con la desmoplaquina que está conectada a los filamentos intermedios. B. Imagen de microscopía electrónica de transmisión correspondiente al complejo de unión apical de enterocitos del intestino humano (UE: unión estrecha; UA: unión adherente; D: desmosoma).

tino, evacúa el contenido luminal, disminuyendo su tiempo de permanencia, y por lo tanto, el de posibles sustancias tóxicas/patógenas presentes en la luz del intestino.

ELEMENTOS CELULARES

Los elementos celulares actúan de forma específica o inespecífica. En la parte más externa se encuentra la flora intestinal o microbiota, componente esencial de la barrera intestinal que influye en el metabolismo, la proliferación y el mantenimiento de la barrera epitelial (18). La flora comensal, además, limita la colonización por parte de agentes patógenos compitiendo por los nutrientes y por el nicho ecológico, modificando el pH y produciendo sustancias antimicrobianas que permiten la comunicación entre especies y la optimización de la cantidad de microorganismos beneficiosos (18). La microbiota intestinal ofrece otras funciones cruciales para el huésped, como la adquisición de nutrientes y la regulación de la energía (19), e influye en procesos tales como la respuesta inflamatoria, la reparación epitelial y la angiogénesis (20). El epitelio intestinal está compuesto por una monocapa de células epiteliales especializadas y polarizadas que se renueva continuamente cada 3 a 5 días. Las células madre epiteliales intestinales pluripotentes residen en la base de las criptas (criptas de Lieberkuhn) y generan células que migran hacia la punta de la vellosidad donde tiene lugar la diferenciación final (21). Aunque la mayoría de las células que forman la monocapa son enterocitos (alrededor del 80%), la diversidad de funciones que el epitelio intestinal lleva a cabo se pone de manifiesto por la presencia de otros tipos celulares especializadas en la secreción de moco (células de Goblet), de defensinas (células de Paneth), de hormonas y neuropéptidos (células enterocromafines) y células especializadas en la captación de antígenos de la luz intestinal, situadas en la superficie de agregados linfoides (células M) (22). Los enterocitos son elementos clave del revestimiento epitelial, adaptados para desarrollar la función digestiva, metabólica y el mantenimiento de la integridad física de la barrera. También intervienen en el desarrollo de la actividad inmunológica ya que expresan receptores implicados en la respuesta inmunitaria innata (23), actúan como células presentadoras de antígeno no profesionales y liberan varias citocinas y quimiocinas, como la linfopoyetina estromal tímica, el factor de crecimiento transformante- β 1 (*transforming growth factor* β 1, TGF- β 1) (24), interleuquina (IL) 25 (25), el factor estimulador de la proliferación de células B (*a proliferation inducing ligand*, APRIL) y el factor activador de células B (*B cell activating factor*, BAFF) (26,27), participando en el reclutamiento y la activación de leucocitos y en la regulación de la respuesta inmunitaria local. En la región subepitelial se encuentra la *lamina propria*, que alberga células del sistema inmunitario, sistema nervioso entérico y tejido conectivo. Las células inmunitarias del tracto gas-

trointestinal conforman el denominado tejido linfóide asociado al intestino (*gut-associated lymphoid tissue*, GALT), que se divide en dos compartimentos: GALT organizado, inductor de la respuesta inmunitaria y GALT difuso, efector de la respuesta inmunitaria. El GALT organizado está compuesto de estructuras linfoides, principalmente folículos linfoides, placas de Peyer y ganglios mesentéricos (28). El epitelio que cubre las placas de Peyer contiene células M, otro tipo de célula epitelial especializada que desempeña un papel en la monitorización de la luz intestinal y en el mantenimiento de la función barrera intestinal ya que sus características físicas únicas, como la formación de micropliegues o la reducida capa de moco, facilitan la captura de antígenos y microorganismos lumbales y su presentación a las células inmunitarias subyacentes (29,30). Por su parte, el GALT difuso se compone de dos poblaciones de leucocitos distribuidos a ambos lados de la membrana basal. Los linfocitos intraepiteliales, mayoritariamente células T CD8⁺, se encuentran entre las células epiteliales, por encima de la membrana basal, cuya función principal es supervisar y responder frente a las bacterias y otros antígenos lumbales. Los linfocitos de la *lamina propria* residen junto a otros tipos leucocitarios, tales como eosinófilos, células dendríticas, mastocitos y macrófagos, principalmente. Estos linfocitos constituyen una población heterogénea, siendo aproximadamente el 50% células plasmáticas y el 30% linfocitos T, que a su vez se pueden subdividir en distintos tipos según el patrón de citoquinas secretado (31). El tejido conectivo es el tejido adyacente al epitelio, en el que residen células inmunitarias, neuronas, vasos sanguíneos y fibroblastos. Los fibroblastos mantienen la matriz extracelular, principalmente mediante la secreción de colágeno y metaloproteinasas, y ejercen un papel fundamental en la proliferación del epitelio intestinal gracias a la producción del factor de crecimiento de hepatocitos (32), contribuyendo activamente al mantenimiento de la función barrera intestinal.

Por último, el sistema nervioso central (SNC) y el sistema nervioso entérico (SNE), coordinan las funciones digestivas y el mantenimiento de la homeostasis intestinal directamente a través de la liberación de neurotransmisores e, indirectamente, a través de la interacción neuro-inmunológica. El SNE está organizado en una red interconectada de neuronas y células gliales que se agrupan en los ganglios situados en dos grandes plexos: el plexo mientérico (de Auerbach) y el plexo submucoso (de Meissner). El SNE está en estrecho contacto con las células epiteliales intestinales y las células neuroendocrinas, modula la respuesta inflamatoria y colabora con el sistema inmunológico en la respuesta a patógenos. El SNE se compone de neuronas sensoriales, interneuronas y neuronas motoras, que controlan el peristaltismo, los cambios locales en el flujo de sangre y la secreción de agua y electrolitos (33). También contiene células gliales entéricas, que forman una gran red en todas las capas del tracto gastrointestinal y sirven como intermediarios en el procesamiento de la

neurotransmisión y la información entérica (34). La participación del SNE en la función barrera es fundamental gracias al control de la actividad motora y secretora así como en la microcirculación y la actividad inmunológica, lo que le permite participar en el control de la homeostasis intestinal. Esta comunicación se lleva a cabo a través de mediadores químicos, tales como neuropéptidos, neurohormonas, neurotransmisores, citocinas, quimiocinas, factores de crecimiento y otras moléculas reguladoras (35).

EL EPITELIO INTESTINAL

Las células epiteliales forman una monocapa continua polarizada, donde las membranas de las células individuales están conectadas entre sí y unidas a la membrana basal mediante complejos proteicos que proporcionan al epitelio la integridad estructural y la actividad celular necesarias para llevar a cabo sus funciones específicas. Estas uniones intercelulares se clasifican en tres grupos funcionales: uniones estrechas, uniones de anclaje y uniones comunicantes.

Uniones estrechas

El paso de moléculas pequeñas solubles en agua a través del epitelio se realiza a través de las uniones estrechas que sellan los espacios entre las células epiteliales. Las uniones estrechas (UE) son las uniones intercelulares más apicales y su función es primordial en el mantenimiento de la barrera y de la polaridad epitelial, limitando la difusión de iones y la translocación de antígenos lumenales (microorganismos y sus toxinas) desde la región apical hacia la región basolateral de las membranas que limita (36,37). Se componen de complejos multiproteicos constituidos por cuatro familias de proteínas transmembrana: ocludina, claudinas, moléculas de adhesión (*junctional adhesion molecules*, JAM) y tricelulina (Fig. 2), y se expresan predominantemente en células epiteliales y endoteliales, aunque también se encuentra en astrocitos, neuronas, macrófagos, células dendríticas y/o leucocitos (38,39).

- La ocludina participa en el ensamblaje y desensamblaje de las UE y su localización en la membrana está regulada por la fosforilación de los residuos específicos de Ser, Thr y Tyr. La ocludina altamente fosforilada en estos residuos está situada en las UE, mientras que la desfosforilada se encuentra redistribuida en el citoplasma, por lo que la alteración en el patrón de fosforilación de esta proteína puede llevar a la desestabilización de las UE e incrementar la permeabilidad paracelular (40,41).
- Las claudinas son el principal factor que determina la función de barrera de las UE, controlando el paso de iones a través del espacio paracelular (42) y también están reguladas mediante la fosforilación

específica en residuos de Ser y Thr. Estas proteínas forman canales con propiedades biofísicas similares a los canales iónicos, que permiten el paso preferente de ciertos iones (42). La composición de claudinas varía considerablemente entre los segmentos intestinales debido a su función fisiológica específica, mostrando una disminución general de la permeabilidad en las regiones distales del tracto gastrointestinal (43).

- Las JAM son una subfamilia de inmunoglobulinas expresadas por células epiteliales y endoteliales, así como por leucocitos y plaquetas. Las proteínas JAM de las UE epiteliales son JAM-A, JAM-C, CAR, ESAM y JAM4, las cuales se asocian lateralmente a otras proteínas en los contactos intercelulares para facilitar el ensamblaje y la formación de UE funcionales y polarizadas (44) (44). Las JAM están implicadas en la regulación de la permeabilidad intestinal y en la inflamación (45).
- La tricelulina se localiza en los contactos intercelulares entre tres células adyacentes, facilitando la estabilidad y la formación de la barrera epitelial, sellando específicamente las láminas de células epiteliales frente al paso de macromoléculas, sin afectar significativamente la permeabilidad de iones (46,47).

Las proteínas transmembrana de las UE, claudinas, ocludina, y las JAM, están vinculadas a las fibras de actomiosina del citoesqueleto por miembros de la familia de proteínas adaptadoras *zonula occludens* (ZO)-1, ZO-2 y ZO-3. Estas proteínas desempeñan un papel fundamental en la permeabilidad celular, así como en la regulación de la adhesión, en la formación y estabilización de las UE y en la transmisión de señales desde las uniones intercelulares hacia el interior de la célula para la regulación de procesos celulares como la migración celular (48).

Uniones de anclaje

Las uniones de anclaje conectan el citoesqueleto de cada célula con los de células vecinas o a la matriz extracelular, lo que les permite constituirse como unidades estructurales resistentes.

- Las uniones adherentes regulan la adhesión entre células adyacentes mediante receptores de adhesión transmembrana y sus proteínas reguladoras asociadas a la actina. Esta unión del citoesqueleto de actina de ambas células se realiza a través de moléculas de adhesión transmembrana de la superfamilia de las cadherinas y cateninas y de complejos proteicos asociados a estas, que conectan con el citoesqueleto. Son necesarias para el ensamblaje y mantenimiento de las UE y varias proteínas reguladoras pueden afectar este componente estructural, como factores de crecimiento (EGFR) y proteínas reguladoras de la actina (Rho, GTPasas, miosina).

- Los desmosomas, compuestos principalmente por desmogleína, desmocolina y desmoplaquina, son uniones intercelulares que proporcionan una fuerte adhesión entre las células, aunque son estructuras dinámicas cuya adhesividad puede cambiar entre estados de alta o baja afinidad durante procesos como el desarrollo embrionario y la curación de heridas. Debido a que también vinculan intracelularmente a los filamentos intermedios del citoesqueleto de las células vecinas, forman una red transcelular que confiere resistencia mecánica a los tejidos y permite que las células mantengan su morfología. Además, son centros de señalización y participan en varios procesos celulares como la diferenciación, la proliferación y la morfogénesis (50).

Uniones comunicantes

Las uniones comunicantes (*GAP junction*) permiten la comunicación entre los citoplasmas de las células vecinas a través de la formación de un canal que atraviesa las membranas. Están formados por 6 proteínas transmembrana llamadas conexasinas, que median el intercambio recíproco de iones y moléculas pequeñas de menos de 1 kDa. Las conexasinas están consideradas también por tener un papel crucial en el desarrollo, crecimiento y diferenciación de las células epiteliales, además de estar asociadas a las UE y a las uniones adherentes (51), por lo que desarrollan un papel relevante en el mantenimiento de la función barrera.

ACTIVACIÓN DEL SISTEMA INMUNITARIO INTESTINAL

La barrera epitelial, la secreción de agua y sustancias antimicrobianas y la motilidad intestinal, principalmente, restringen el paso de antígenos y microorganismos desde la luz intestinal hacia el medio interno. Sin embargo, estos mecanismos inespecíficos no siempre son suficientes y es necesario un sistema de vigilancia, llevado a cabo por el sistema inmunitario, que permita una respuesta rápida y coordinada. Así, el sistema inmunitario, a la vez que adquiere tolerancia frente a antígenos inocuos, como los procedentes de la dieta o la microbiota comensal, actúa frente a agentes nocivos, encontrándose, por lo tanto, en un estado de activación constante denominado “inflamación fisiológica” (52). La primera respuesta inmunitaria que se activa es inespecífica y la lleva a cabo el sistema inmunitario innato, que está ampliamente representado en el tracto gastrointestinal por las propias células epiteliales, células dendríticas, macrófagos y células *natural killer* (NK). Estas células reconocen patrones asociados a patógenos (*pathogen-associated molecular patterns*, PAMPs) de componentes específicos de bacterias, hongos y virus, entre los cuales se encuentran los recepto-

res de reconocimiento de patrones (*pattern recognition receptors*, PRRs) como los tipo *Toll* (*toll-like receptor*, TLR) y los receptores dominio de oligomerización de unión a nucleótido (*nucleotide-binding oligomerization domain receptors*, NOD), entre otros. Estos receptores tienen una función dual y, gracias a la naturaleza polarizada del epitelio intestinal, permiten su segregación anatómica y, tanto *in vitro* como en modelos *in vivo*, demuestran la capacidad de respuesta diferencial de las células epiteliales entre la estimulación por la parte apical frente a la estimulación basolateral (53,54). Así, en condiciones normales, la activación apical de los PRRs por parte de las bacterias comensales ayuda a la secreción de sustancias antibacterianas y a mantener cierta tolerancia a la inflamación (55). Cuando existe una alteración estructural en la barrera epitelial, las bacterias pueden penetrar y es necesaria una respuesta proinflamatoria que se da a través de la activación de los PRRs de la parte basolateral y a través de la activación de los PRRs de las células del sistema inmunitario innato (56). Por su parte, las células dendríticas continuamente detectan bacterias y otros antígenos que internalizan en fagosomas y procesan para su presentación mediante el complejo principal de histocompatibilidad tipo II. Estas determinarán el desarrollo de respuestas inmunitarias tanto celulares como humorales por parte del sistema inmunitario adaptativo (57). Por lo tanto, deben diferenciar entre las señales derivadas de microorganismos patógenos o comensales y antígenos inocuos, para la generación de una respuesta inflamatoria local adecuada (58). Se cree que los PAMPs de microorganismos simbióticos tienen una menor afinidad por los PRRs que los microorganismos patógenos, o bien, que es necesaria la confluencia de otra señal patógena, como por ejemplo toxinas para desencadenar la respuesta inmunitaria (59). El sistema inmunitario innato está formado por varias subpoblaciones celulares y su activación depende de las citoquinas presentes en el ambiente. Sin embargo, existen subpoblaciones específicas, como las NKT innatas, que responden a glicolípidos tales como los lípidos intracelulares de los enterocitos apoptóticos liberados durante la inflamación, glicolípidos dietéticos modificados por las enzimas no fisiológicas y glicolípidos de las bacterias presentes en la luz intestinal (60).

El sistema inmunitario adaptativo incluye los linfocitos T y B e induce una respuesta específica y de memoria frente a ciertos antígenos. En condiciones homeostáticas, la diversidad de la comunidad bacteriana se mantiene en un determinado equilibrio por mecanismos complejos que implican la producción de diversos repertorios de IgAs, que son seleccionadas en los centros germinales por antígenos y células T. Estas células B IgA⁺ se diferencian a células plasmáticas que producen gran cantidad de IgA que, cuando se secreta a la luz intestinal, recubre las bacterias para controlar su expansión o invasión más allá del epitelio (61). Las células T CD4⁺ o Th (*T helper*) se distribuyen en la *lamina propria* y los folículos linfoides de los

intestinos delgado y grueso, y tanto las células efectoras Th1 como las Th17, se encuentran en el intestino en condiciones homeostáticas (62). Sus propiedades pro-inflamatorias son normalmente contrarrestadas por las células T reguladoras (Treg) que expresan Foxp3, ayudando al mantenimiento de una inflamación fisiológica controlada. En respuesta a diferentes señales y estímulos, el sistema inmunitario adaptativo desarrollará un tipo de respuesta u otra. Los linfocitos encargados de dirigir estas respuestas se clasifican en diferentes tipos, dependiendo del perfil de citoquinas resultante, dando lugar a: Th1, Th2, Th17, Th25 y/o Treg (63).

PERMEABILIDAD INTESTINAL

La permeabilidad intestinal se puede definir como la capacidad de la superficie de la mucosa a ser penetrada por las sustancias específicas. El paso de los nutrientes y la absorción de agua e iones se realiza a través del epitelio intestinal gracias a procesos de transporte activo (mediante transportadores) o pasivos (mediante difusión) de la luz intestinal al interior de la mucosa, desde donde pueden acceder al torrente circulatorio. Los enterocitos presentan una elevada actividad transportadora gracias a que poseen canales iónicos, transportadores y bombas en las membranas apical y basolateral. El transporte neto es el resultado del balance entre la absorción y la secreción. Este transporte se lleva a cabo de forma selectiva mediante dos vías principales: la vía paracelular y la vía transcelular (Fig. 2).

- La *vía paracelular* permite el 85% del total del flujo pasivo transepitelial de moléculas a través del espacio entre dos células epiteliales adyacentes y está regulado por las uniones estrechas, que presentan poros de diferente tamaño, limitando la entrada de partículas. Esta vía constituye una barrera efectiva para el paso de antígenos lumenales y es determinante en el establecimiento de la permeabilidad intestinal (64).
- La *vía transcelular* permite el transporte de solutos a través de la membrana del enterocito. Existen diferentes mecanismos que median el paso de moléculas por la ruta transcelular. Los compuestos lipofílicos e hidrofílicos de pequeño tamaño difunden, por transporte pasivo, a través de la bicapa lipídica de la membrana de los enterocitos. Además, la permeabilidad epitelial viene condicionada por el transporte activo, mediado por transportadores y diferentes mecanismos de endocitosis, transcitosis y exocitosis para iones, aminoácidos o determinados antígenos. Las sustancias de gran tamaño, como proteínas y productos bacterianos, son captadas por las células mediante endocitosis y son transportadas activamente mediante el proceso de transcitosis vectorial, a través del citoplasma, para su posterior procesamiento y presentación, como parte de la respuesta inmunológica intestinal (65). Las bacterias, los virus y otras partículas

aprovechan estos mecanismos de entrada al huésped, mediante de endocitosis o fagocitosis, implicando la unión de moléculas a la membrana celular a través de receptores (66).

Regulación de la permeabilidad intestinal

La barrera intestinal no es un elemento estático, sino que se encuentra regulada por diversos estímulos fisiológicos, farmacológicos y patológicos. La permeabilidad a partículas dependerá de su tamaño, su carga y su naturaleza. Aunque la permeabilidad varía entre regiones proximales y distales, así como entre las criptas y las vellosidades,

los mecanismos moleculares que regulan el paso de sustancias a través del epitelio son similares a lo largo de todo el intestino e incluyen la interacción de proteínas de las uniones intercelulares, el citoesqueleto de actina y los procesos de endocitosis y de señalización intracelular. Los cambios rápidos en la permeabilidad se realizan a través del citoesqueleto y están regulados por la fosforilación de la cadena ligera de la miosina (*myosin light chain kinase*, MLCK) y por la endocitosis de proteínas de las UE (6,67). Los cambios más duraderos implican la regulación en la expresión de las proteínas de las UE, la apoptosis de las células epiteliales y la aparición de alteraciones estructurales en el epitelio (68,69).

El control de la barrera resulta de la interacción entre la microbiota, las células epiteliales, el sistema inmunitario y el SNE. Así, por ejemplo, en condiciones homeostáticas, la activación apical de los PRRs por parte de las bacterias comensales también promueve la proliferación y la supervivencia de las células epiteliales (70). El sistema inmunitario, por medio de diversas citoquinas como por ejemplo el factor de necrosis tumoral alfa (*tumor necrosis factor alpha*, TNF- α), y el interferón gamma (IFN- γ), IL-8 o IL-10, también regula la barrera intestinal a través de reordenamientos en las UE (71). Un perfil citoquínico aumentado o inapropiado causa un incremento en la permeabilidad (72,73). Por otra parte, las neuronas entéricas tienen un papel en el control de la permeabilidad paracelular y en la proliferación de las células epiteliales. Por ejemplo, la liberación del péptido vasoactivo intestinal (*vasoactive intestinal peptide*, VIP) por las neuronas entéricas inhibe la proliferación de las células epiteliales y mantiene la integridad de la barrera epitelial, a través de la inducción de la expresión de ZO-1 (74). Las células gliales del SNE parecen regular también la función barrera intestinal mediante la liberación de S-nitrosoglutatión, que regula la expresión de las proteínas de UE (75). La actividad del nervio vago también puede modular esta función defensiva a través de la liberación de neuropéptidos como la acetilcolina y el VIP. Por otra parte, las células del sistema inmunitario innato expresan una amplia gama de receptores para neuropéptidos y la interacción directa y bidireccional entre los nervios y células como los mastocitos y los eosinófilos,

modula la permeabilidad intestinal, tanto en condiciones homeostáticas como en condiciones patológicas.

DISFUNCIÓN DE LA BARRERA INTESTINAL EN ENFERMEDADES DIGESTIVAS

La barrera intestinal es un sistema dinámico en el que intervienen diferentes factores y el aumento del paso de sustancias por incremento de la permeabilidad no implica necesariamente su disfunción. La progresión desde el aumento de la permeabilidad intestinal hasta la aparición de la enfermedad implica un desequilibrio de los diversos factores que mantienen la función barrera, siendo el sistema inmunitario el principal candidato a ejercer un mayor efecto sobre esta, dada la asociación entre inflamación y disfunción de la barrera en diferentes enfermedades digestivas. En condiciones normales, el aumento de la permeabilidad es insuficiente para causar enfermedad intestinal ya que la barrera epitelial tiene la capacidad de restablecerse una vez ha cesado el estímulo inductor. No obstante, en ciertas condiciones patológicas, esta capacidad de autorregulación se puede perder y contribuir al incremento de la permeabilidad, facilitando la inflamación intestinal crónica (Tabla I).

Aunque se desconoce la etiología de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), los pacientes presentan mayor permeabilidad intestinal que los sujetos sanos. Se ha identificado que ello es debido a alteraciones estructurales en las proteínas de las UE, principalmente a la reducción en la expresión de claudina-3, 4, 5 y 8 y de ocludina, así como una mayor expresión de claudina-2 y de la fosforilación de la MLCK, lo que facilita la contracción del citoesqueleto (68,76,78). Sin embargo, estas alteraciones en las uniones celulares en la EII activa no se detectan en los pacientes con EII en remisión (76), lo cual sugiere que la alteración en las UE es una consecuencia de la enfermedad. La respuesta inflamatoria exagerada sería, presumiblemente, la causante de estas alteraciones, dado el aumento de IFN- γ y TNF- α

en estos pacientes (78) y el efecto que estas citoquinas presentan sobre la barrera epitelial *in vitro* (79). Por lo tanto, la conjunción de factores, genéticos, medioambientales y defectos en la función barrera, es la que finalmente predispone al individuo a una respuesta inmunológica anómala y a una mayor susceptibilidad para desarrollar inflamación intestinal. De hecho, se ha relacionado la aparición de la EII con la presencia de proteínas mutadas como la proteína-1 ligadora de la caja X (*X-box binding protein 1*, XBP1), o mutaciones en el gen NOD-2 relacionado con la menor producción de IL-10 o una tolerancia inmunitaria inadecuada a los antígenos lumenales y a productos microbianos (80-82).

La enfermedad celiaca es un proceso de naturaleza autoinmunitaria, de origen conocido, producido por intolerancia al gluten y que aparece, normalmente, en individuos genéticamente susceptibles. La celiacía puede causar una enteropatía como consecuencia de la respuesta anómala de linfocitos T intestinales a la gliadina, proceso al que contribuye el sistema inmunitario innato, mediante el reclutamiento activo y procesamiento de los antígenos del gluten por parte de las células dendríticas (83). Esta respuesta causa alteraciones estructurales en las UE, permitiendo así la entrada de esta proteína a la mucosa, provocando una respuesta inmunitaria sostenida que facilita el incremento en la permeabilidad intestinal. Se ha observado que estos pacientes presentan una reorganización de los filamentos de actina y una expresión alterada de ocludina, claudina-3 y claudina-4, ZO-1 y la proteína de unión adherente E-cadherina (84,85). Se ha demostrado que el incremento en la permeabilidad está asociado a un aumento en la proteína zonulina, la cual induce la reorganización del citoesqueleto por medio de PKC, la infra-regulación de ZO-1 y ocludina y la disrupción de la integridad del complejo de la UE (86,87).

La alteración en la barrera intestinal también se ha involucrado en la fisiopatología de la alergia alimentaria, ya que estos pacientes muestran un aumento de la permeabilidad intestinal, incluso en ausencia de alérgenos alimen-

Tabla I. Enfermedades gastrointestinales asociadas a alteraciones en la función barrera intestinal y el mecanismo propuesto

Enfermedad	Alteraciones en la función barrera	Mecanismo de aumento de la permeabilidad	Referencias
Enfermedad Inflamatoria intestinal	<ul style="list-style-type: none"> - Disminución claudina-3, claudina-4, claudina-5, y claudina-8. Aumento de claudina-2. Fosforilación de la MLCK - Mutaciones en gen NOD-2 y XBP1 y disminución IL-10 	<ul style="list-style-type: none"> - Alteración en las uniones intercelulares asociado al incremento de TNF-α e IFN-γ en la mucosa - Disminución tolerancia inmunitaria 	(68,76-78) (80-82)
Enfermedad celiaca	<ul style="list-style-type: none"> - Expresión alterada de ocludina, claudina-3 y claudina-4, ZO-1 y E-cadherina 	<ul style="list-style-type: none"> - Alteración en las uniones intercelulares asociado a la zonulina 	(84-87)
Alergia alimentaria	<ul style="list-style-type: none"> - No descritas 	<ul style="list-style-type: none"> - Activación de los mastocitos e inflamación 	(88,89)
Síndrome del intestino irritable	<ul style="list-style-type: none"> - Expresión alterada de ZO y ocludina, incremento en claudina-2 y en la fosforilación de MLCK 	<ul style="list-style-type: none"> - Alteración en las uniones intercelulares asociado a la activación de los mastocitos y al estrés psicológico 	(92,93)

tarios (88). Aunque se postula que no es la causa primaria de la alergia, la presencia de ciertos factores ambientales (infección, estrés), aumenta la permeabilidad intestinal y el paso de sustancias que, en condiciones normales, no atravesarían la barrera epitelial. Ello puede favorecer la respuesta alérgica a antígenos alimentarios en individuos susceptibles (89).

El síndrome del intestino irritable (SII) es un trastorno funcional crónico, cuyos mecanismos fisiopatológicos se desconocen. A pesar de los diferentes subtipos clínicos, en función del patrón deposicional (diarrea, estreñimiento o mixto), un denominador común es el aumento de la permeabilidad intestinal en estos pacientes (90). Esta disfunción de la barrera se ha asociado a cambios en la integridad de las UE que, a su vez, se asocian con la activación del mastocito de la mucosa intestinal y con la sintomatología, principalmente en el SII con predominio de diarrea (91). Las principales alteraciones en la expresión de proteínas de la UE son la disminución de ZO y ocludina, así como un incremento en claudina-2 y en la fosforilación de la cadena ligera de la miosina (92,93).

CONCLUSIONES

La función barrera intestinal es esencial para el mantenimiento de la homeostasis intestinal y para la prevención de respuestas inmunitarias exageradas que faciliten la inflamación intestinal crónica. Esta función de defensa está llevada a cabo por numerosos elementos de diferente naturaleza y localización anatómica y su finalidad es preservar la integridad intestinal. Las uniones estrechas determinan de forma crítica la función barrera, por lo que el conocimiento de su regulación y la forma en que modulan los cambios en las células epiteliales es esencial para entender su contribución a la patogénesis de enfermedades gastrointestinales asociadas a la disfunción de la barrera. Por lo tanto, las estrategias terapéuticas dirigidas al restablecimiento de esta función defensiva son una vía prometedora para la recuperación de la homeostasis intestinal y la salud general.

BIBLIOGRAFÍA

- Artis D. Epithelial-cell recognition of commensal bacteria and maintenance of immune homeostasis in the gut. *Nat Rev Immunol* 2008;8:411-20. DOI: 10.1038/nri2316
- Turner J. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:799-809. DOI: 10.1038/nri2653
- Caricilli A, Castoldi A, Cámara N. Intestinal barrier: A gentlemen's agreement between microbiota and immunity. *World J Gastrointest Pathophysiol* 2014;5:18-32. DOI: 10.4291/wjgp.v5.i1.18
- Rescigno M. The intestinal epithelial barrier in the control of homeostasis and immunity. *Trends Immunol* 2011;32:256-64. DOI: 10.1016/j.it.2011.04.003
- Pascual S, Martínez J, Pérez-Mateo M. The intestinal barrier: Functional disorders in digestive and non-digestive diseases. *Gastroenterol Hepatol* 2001;24:256-67. DOI: 10.1016/S0210-5705(01)70167-7
- Shen L, Turner J. Role of epithelial cells in initiation and propagation of intestinal inflammation. Eliminating the static: Tight junction dynamics exposed. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2006;290:G577-82. DOI: 10.1152/ajpgi.00439.2005
- Sarker S, Gyr K. Non-immunological defence mechanisms of the gut. *Gut* 1992;33(7):987-93. DOI: 10.1136/gut.33.7.987
- Qin X, Caputo F, Xu D, et al. Hydrophobicity of mucosal surface and its relationship to gut barrier function. *Shock* 2008;29:372-6.
- Bevins C, Salzman N. Paneth cells, antimicrobial peptides and maintenance of intestinal homeostasis. *Nat Rev Microbiol* 2011;9: 356-68. DOI: 10.1038/nrmicro2546
- Antoni L, Nuding S, Weller D, et al. Human colonic mucus is a reservoir for antimicrobial peptides. *J Crohns Colitis* 2013;7:652-64. DOI: 10.1016/j.crohns.2013.05.006
- Brandtzaeg P. Molecular and cellular aspects of the secretory immunoglobulin system. *APMIS* 1995;103:1-19. DOI: 10.1111/j.1699-0463.1995.tb01073.x
- Elphick D, Mahida Y. Paneth cells: Their role in innate immunity and inflammatory disease. *Gut* 2005;54:1802-9. DOI: 10.1136/gut.2005.068601
- Lence WI, Cheung G, Strohmeier G, et al. Induction of epithelial chloride secretion by channel-forming cryptidins 2 and 3. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1997;94:8585-9. DOI: 10.1073/pnas.94.16.8585
- Salzman N, Hung K, Haribhai D, et al. Enteric defensins are essential regulators of intestinal microbial ecology. *Nat Immunol* 2010;11(1):76-83. DOI: 10.1038/ni.1825
- Ugolev A, De Laey P. Membrane digestion. A concept of enzyme hydrolysis on cell membranes. *Biochim Biophys Acta* 1973;300:105-28. DOI: 10.1016/0304-4157(73)90001-4
- Shan M, Gentile M, Yeiser J, et al. Mucus enhances gut homeostasis and oral tolerance by delivering immunoregulatory signals. *Science* 2013;342:447-53. DOI: 10.1126/science.1237910
- Chang E, Rao M. Intestinal water and electrolyte transport: Mechanisms of physiological and adaptive responses. In: Johnson LR, ADH. *Physiology of the Gastrointestinal Tract*. 3rd ed. New York: Raven, Lippincott Williams & Wilkins; 1994. p. 2027-81.
- Neish A. Microbes in gastrointestinal health and disease. *Gastroenterology* 2009;136:65-80. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.10.080
- Palmer C, Bik E, DiGiulio D, et al. Development of the human infant intestinal microbiota. *PLoS Biol* 2007;5:e177. DOI: 10.1371/journal.pbio.0050177
- Tappenden K, Deutsch A. The physiological relevance of the intestinal microbiota-contributions to human health. *J Am Coll Nutr* 2007;26:679S-83S. DOI: 10.1080/07315724.2007.10719647
- Booth C, Potten C. Gut instincts: Thoughts on intestinal epithelial stem cells. *J Clin Invest* 2000;105:1493-9. DOI: 10.1172/JCI10229
- Van Der Flier L, Clevers H. Stem cells, self-renewal, and differentiation in the intestinal epithelium. *Annu Rev Physiol* 2009;71:241-60. DOI: 10.1146/annurev.physiol.010908.163145
- Pott J, Hornef M. Innate immune signalling at the intestinal epithelium in homeostasis and disease. *EMBO Rep* 2012;13:684-98. DOI: 10.1038/embor.2012.96
- Zeuthen L, Fink L, Frokiaer H. Epithelial cells prime the immune response to an array of gut-derived commensals towards a tolerogenic phenotype through distinct actions of thymic stromal lymphopoietin and transforming growth factor-beta. *Immunology* 2008;123:197-208.
- Zaph C, Du Y, Saenz S, et al. Commensal-dependent expression of IL-25 regulates the IL-23-IL-17 axis in the intestine. *J Exp Med* 2008;205:2191-8. DOI: 10.1084/jem.20080720
- He B, Xu W, Santini P, et al. Intestinal bacteria trigger T cell-independent immunoglobulin A(2) class switching by inducing epithelial-cell secretion of the cytokine APRIL. *Immunity* 2007;26:812-26. DOI: 10.1016/j.immuni.2007.04.014
- Xu W, He B, Chiu A, et al. Epithelial cells trigger frontline immunoglobulin class switching through a pathway regulated by the inhibitor SLPI. *Nat Immunol* 2007;8:294-303. DOI: 10.1038/ni1434
- Cerutti A, Rescigno M. The biology of intestinal immunoglobulin A responses. *Immunity* 2008;28:740-50. DOI: 10.1016/j.immuni.2008.05.001
- Corr S, Gahan C, Hill C. M-cells: Origin, morphology and role in mucosal immunity and microbial pathogenesis. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2008;52:2-12. DOI: 10.1111/j.1574-695X.2007.00359.x
- Miller H, Zhang J, Kuolee R, et al. Intestinal M cells: the fallible sentinels? *World J Gastroenterol* 2007;13:1477-86.

31. Gill N, Wlodarska M, Finlay B. Roadblocks in the gut: Barriers to enteric infection. *Cell Microbiol* 2011;13:660-9. DOI: 10.1111/j.1462-5822.2011.01578.x
32. Göke M, Kanai M, Podolsky D. Intestinal fibroblasts regulate intestinal epithelial cell proliferation via hepatocyte growth factor. *Am J Physiol* 1998;274:G809-18. DOI: 10.1016/S0016-5085(98)70583-9
33. Furness J. Types of neurons in the enteric nervous system. *J Auton Nerv Syst* 2000;81:87-96. DOI: 10.1016/S0165-1838(00)00127-2
34. Rühl A. Glial cells in the gut. *Neurogastroenterol Motil* 2005;17:777-90. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2005.00687.x
35. Flemström G, Sjöblom M. Epithelial cells and their neighbors. New perspectives on efferent signaling between brain, neuroendocrine cells, and gut epithelial cells. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005;289:G377-80.
36. Balda M, Matter K. Tight junctions at a glance. *J Cell Sci* 2008;121:3677-82. DOI: 10.1242/jcs.023887
37. Schulzke J, Fromm M. Tight junctions: Molecular structure meets function. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1165:1-6. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04925.x
38. Bauer H, Stelzhammer W, Fuchs R, et al. Astrocytes and neurons express the tight junction-specific protein occludin in vitro. *Exp Cell Res* 1999;250:434-8. DOI: 10.1006/excr.1999.4558
39. Blank F, Wehrli M, Lehmann A, et al. Macrophages and dendritic cells express tight junction proteins and exchange particles in an in vitro model of the human airway wall. *Immunobiology* 2011;216:86-95. DOI: 10.1016/j.imbio.2010.02.006
40. Rao R. Occludin phosphorylation in regulation of epithelial tight junctions. *Ann N Y Acad Sci* 2009;1165:62-8. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2009.04054.x
41. Dörfel M, Huber O. Modulation of tight junction structure and function by kinases and phosphatases targeting occludin. *J Biomed Biotechnol* 2012;2012:807356. DOI: 10.1155/2012/807356
42. Hartsock A, Nelson W. Adherens and tight junctions: Structure, function and connections to the actin cytoskeleton. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:660-9. DOI: 10.1016/j.bbame.2007.07.012
43. Escaffit F, Boudreau F, Beaulieu J. Differential expression of claudin-2 along the human intestine: Implication of GATA-4 in the maintenance of claudin-2 in differentiating cells. *J Cell Physiol* 2005;203:15-26. DOI: 10.1002/jcp.20189
44. Liu Y, Nusrat A, Schnell F, et al. Human junction adhesion molecule regulates tight junction resealing in epithelia. *J Cell Sci* 2000;113:2363-74.
45. Laukoetter M, Nava P, Lee W, et al. JAM-A regulates permeability and inflammation in the intestine in vivo. *J Exp Med* 2007;204:3067-76. DOI: 10.1084/jem.20071416
46. Ikenouchi J, Furuse M, Furuse K, et al. Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *J Cell Biol* 2005;171:939-45. DOI: 10.1083/jcb.200510043
47. Mariano C, Sasaki H, Brites D, et al. A look at tricellulin and its role in tight junction formation and maintenance. *Eur J Cell Biol* 2011;90:787-96. DOI: 10.1016/j.ejcb.2011.06.005
48. Umeda K, Ikenouchi J, Katahira-Tayama S, et al. ZO-1 and ZO-2 independently determine where claudins are polymerized in tight-junction strand formation. *Cell* 2006;126:741-54. DOI: 10.1016/j.cell.2006.06.043
49. Niessen C, Gottardi C. Molecular components of the adherens junction. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:562-71. DOI: 10.1016/j.bbame.2007.12.015
50. Garrod D, Chidgey M. Desmosome structure, composition and function. *Biochim Biophys Acta* 2008;1778:572-87. DOI: 10.1016/j.bbame.2007.07.014
51. Kojima T, Murata M, Go M, et al. Connexins induce and maintain tight junctions in epithelial cells. *J Membr Biol* 2007;217:13-9. DOI: 10.1007/s00232-007-9021-4
52. Macdonald T, Monteleone G. Immunity, inflammation, and allergy in the gut. *Science* 2005;307:1920-5. DOI: 10.1126/science.1106442
53. Rhee S, Im E, Riegler M, et al. Pathophysiological role of Toll-like receptor 5 engagement by bacterial flagellin in colonic inflammation. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2005;102:13610-5. DOI: 10.1073/pnas.0502174102
54. Lee J, Mo J, Katakura K, et al. Maintenance of colonic homeostasis by distinctive apical TLR9 signalling in intestinal epithelial cells. *Nat Cell Biol* 2006;8:1327-36. DOI: 10.1038/ncb1500
55. Yan F, Polk D. Disruption of NF-kappaB signalling by ancient microbial molecules: Novel therapies of the future? *Gut* 2010;59:421-6.
56. Sansonetti P. War and peace at mucosal surfaces. *Nat Rev Immunol* 2004;4:953-64. DOI: 10.1038/nri1499
57. Bernardo D. Human intestinal dendritic cells as controllers of mucosal immunity. *Rev Esp Enferm Dig* 2013;105:279-90. DOI: 10.4321/S1130-01082013000500006
58. Blander J, Sander L. Beyond pattern recognition: five immune checkpoints for scaling the microbial threat. *Nat Rev Immunol* 2012;12:215-25. DOI: 10.1038/nri3167
59. Sansonetti P. To be or not to be a pathogen: That is the mucosally relevant question. *Mucosal Immunol* 2011;4:8-14. DOI: 10.1038/mi.2010.77
60. Montalvillo E, Garrote J, Bernardo D, et al. Innate lymphoid cells and natural killer T cells in the gastrointestinal tract immune system. *Rev Esp Enferm Dig* 2014;106:334-45.
61. Kato L, Kawamoto S, Maruya M, et al. The role of the adaptive immune system in regulation of gut microbiota. *Immunol Rev* 2014;260:67-75. DOI: 10.1111/imr.12185
62. Maynard C, Weaver C. Intestinal effector T cells in health and disease. *Immunity* 2009;31:389-400. DOI: 10.1016/j.immuni.2009.08.012
63. Khor B, Gardet A, Xavier R. Genetics and pathogenesis of inflammatory bowel disease. *Nature* 2011;474:307-17. DOI: 10.1038/nature10209
64. Turner J. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9:799-809. DOI: 10.1038/nri2653
65. Keita A, Söderholm J. The intestinal barrier and its regulation by neuro-immune factors. *Neurogastroenterol Motil* 2010;22:718-33. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2010.01498.x
66. Conner S, Schmid S. Regulated portals of entry into the cell. *Nature* 2003;422:37-44. DOI: 10.1038/nature01451
67. Utech M, Mennigen R, Bruewer M. Endocytosis and recycling of tight junction proteins in inflammation. *J Biomed Biotechnol* 2010;2010:484987. DOI: 10.1155/2010/484987
68. Prasad S, Mingrino R, Kaukinen K, et al. Inflammatory processes have differential effects on claudins 2, 3 and 4 in colonic epithelial cells. *Lab Invest* 2005;85:1139-62. DOI: 10.1038/labinvest.3700316
69. Schulzke J, Bojarski C, Zeissig S, et al. Disrupted barrier function through epithelial cell apoptosis. *Ann N Y Acad Sci* 2006;1072:288-99. DOI: 10.1196/annals.1326.027
70. Wells J, Rossi O, Meijerink M, et al. Epithelial crosstalk at the microbiota-mucosal interface. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2011;114:607-14. DOI: 10.1073/pnas.1000092107
71. Wang F, Graham W, Wang Y, et al. Interferon-gamma and tumor necrosis factor-alpha synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol* 2005;166:409-19. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)62264-X
72. Al-Sadi R, Ye D, Dokladny K, et al. Mechanism of IL-1beta-induced increase in intestinal epithelial tight junction permeability. *J Immunol* 2008;180:5653-61. DOI: 10.4049/jimmunol.180.8.5653
73. Al-Sadi R, Boivin M, Ma T. Mechanism of cytokine modulation of epithelial tight junction barrier. *Front Biosci* 2009;14:2765-78. DOI: 10.2741/3413
74. Neunlist M, Toumi F, Oreschkova T, et al. Human ENS regulates the intestinal epithelial barrier permeability and a tight junction-associated protein ZO-1 via VIPergic pathways. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2003;285:G1028-36. DOI: 10.1152/ajpgi.00066.2003
75. Savidge T, Newman P, Pothoulakis C, et al. Enteric glia regulate intestinal barrier function and inflammation via release of S-nitroso-glutathione. *Gastroenterology* 2007;132:1344-58. DOI: 10.1053/j.gastro.2007.01.051
76. Zeissig S, Bürgel N, Günzel D, et al. Changes in expression and distribution of claudin 2, 5 and 8 lead to discontinuous tight junctions and barrier dysfunction in active Crohn's disease. *Gut* 2007;56:61-72. DOI: 10.1136/gut.2006.094375
77. Blair S, Kane S, Clayburgh D, et al. Epithelial myosin light chain kinase expression and activity are upregulated in inflammatory bowel disease. *Lab Invest* 2006; 86: 191-201. DOI: 10.1038/labinvest.3700373
78. MacDonald T, Hutchings P, Choy M, et al. Tumour necrosis factor-alpha and interferon-gamma production measured at the single cell level in normal and inflamed human intestine. *Clin Exp Immunol* 1990;81:301-5. DOI: 10.1111/j.1365-2249.1990.tb03334.x

79. Madara J, Stafford J. Interferon-gamma directly affects barrier function of cultured intestinal epithelial monolayers. *J Clin Invest* 1989;83:724-7. DOI: 10.1172/JCI113938
80. Kaser A, Lee A, Franke A, et al. XBP1 links ER stress to intestinal inflammation and confers genetic risk for human inflammatory bowel disease. *Cell* 2008;134:743-56. DOI: 10.1016/j.cell.2008.07.021
81. Fisher S, Tremelling M, Anderson C, et al. Genetic determinants of ulcerative colitis include the ECM1 locus and five loci implicated in Crohn's disease. *Nat Genet* 2008;40:710-2. DOI: 10.1038/ng.145
82. Watanabe T, Asano N, Murray P, et al. Muramyl dipeptide activation of nucleotide-binding oligomerization domain 2 protects mice from experimental colitis. *J Clin Invest* 2008;118:545-59.
83. Comino I, Suligoj T, Al-Hassi H, et al. Constitutive gut-homing capacity on circulating myeloid dendritic cells in coeliac disease. *Rev Esp Enferm Dig* 2014;106:64-5. DOI: 10.4321/S1130-01082014000100013
84. Pizzuti D, Bortolami M, Mazzon E, et al. Transcriptional downregulation of tight junction protein ZO-1 in active coeliac disease is reversed after a gluten-free diet. *Dig Liver Dis* 2004;36:337-41. DOI: 10.1016/j.dld.2004.01.013
85. Sander G, Cummins A, Henshall T, et al. Rapid disruption of intestinal barrier function by gliadin involves altered expression of apical junctional proteins. *FEBS Lett* 2005;579:4851-5. DOI: 10.1016/j.febslet.2005.07.066
86. Fasano A, Not T, Wang W, et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000;355:1518-9. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3
87. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol* 2006;41:408-19. DOI: 10.1080/00365520500235334
88. Ventura M, Polimeno L, Amoroso A, et al. Intestinal permeability in patients with adverse reactions to food. *Dig Liver Dis* 2006;38:732-6. DOI: 10.1016/j.dld.2006.06.012
89. Heyman M. Gut barrier dysfunction in food allergy. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2005;17:1279-85. DOI: 10.1097/00042737-200512000-00003
90. Camilleri M, Lasch K, Zhou W. Irritable bowel syndrome: methods, mechanisms, and pathophysiology. The confluence of increased permeability, inflammation, and pain in irritable bowel syndrome. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2012; 303: G775-85. DOI: 10.1152/ajpgi.00155.2012
91. Martínez C, González-Castro A, Vicario M, et al. Cellular and molecular basis of intestinal barrier dysfunction in the irritable bowel syndrome. *Gut Liver* 2012;6:305-15. DOI: 10.5009/gnl.2012.6.3.305
92. Martínez C, Lobo B, Pigrau M, et al. Diarrhoea-predominant irritable bowel syndrome: An organic disorder with structural abnormalities in the jejunal epithelial barrier. *Gut* 2013;62:1160-8. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-302093
93. Bertiaux-Vandaële N, Youmba S, Belmonte L, et al. The expression and the cellular distribution of the tight junction proteins are altered in irritable bowel syndrome patients with differences according to the disease subtype. *Am J Gastroenterol* 2011;106:2165-73. DOI: 10.1038/ajg.2011.257