

## ФИЗИОЛОГИЯ, БИОХИМИЯ, БИОФИЗИКА

УДК 519.22-24

*А. Г. Марков, А. Ю. Вешнякова***ЭКСПРЕССИЯ БЕЛКОВ ПЛОТНЫХ КОНТАКТОВ В ЭПИТЕЛИИ  
ТОЛСТОЙ КИШКИ КРЫСЫ<sup>1</sup>**

Транспорт веществ через одну из важнейших тканей организма — эпителий — является ключевым компонентом, обеспечивающим жизнеспособность организмов. Эпителий, являясь пограничной тканью, должен, с одной стороны, создавать барьер, препятствующий проникновению веществ в организм, а с другой — обеспечивать избирательный транспорт молекул, ионов и воды [3, 23]. Основные процессы всасывания питательных веществ и воды происходят в кишке, которая разделяется на два основных отдела — тонкую и толстую кишку, характеризующиеся различными функциями и свойствами. Так, в тонкой кишке происходит массивное всасывание питательных веществ и воды, в то время как в толстой кишке происходит всасывание воды за счет осмотического градиента, создаваемого эпителием толстой кишки. Еще в 1972 г. E. D. Frömter и J. M. Diamond предложили концепцию проницаемого («неплотного») и непроницаемого («плотного») эпителия [7]. В общих чертах проницаемый эпителий характеризуется низкими значениями трансэпителиальной разности потенциалов (от 0 до 11 мВ) и сопротивления (от 6 до 200 Ом/см<sup>2</sup>), наличием щеточной каймы на апикальной мембране, а также высоким уровнем изоосмотического транспорта жидкости. Напротив, непроницаемый эпителий обладает высокими значениями трансэпителиальной разности потенциалов (30–100 мВ) и сопротивления (300–2000 Ом/см<sup>2</sup>). У него отсутствует щеточная кайма на апикальной поверхности клеток. Исходя из вышеизложенного эпителий тонкой кишки можно отнести к проницаемому, а толстой кишки — к непроницаемому типам.

Плотные контакты — это апикальный компонент комплекса контактов между эпителиальными клетками. Свойства эпителия зависят от состава белков плотных контактов, из которых они состоят. Комплекс белков плотных контактов включает в себя окклюдин [9], молекулы адгезии — JAMs [14], трицеллюлин [11] и различные клаудины [10]. Известно, что семейство клаудина включает в себя 24 белка, а их экспрессия тканеспецифична [23, 24]. Клаудины, определяющие барьерные функции эпителия, способны формировать сеть из внутримембранных фибрилл, которая опоясывает клетку и разделяет мембрану на апикальную и базолатеральную части [4]. Было также показано, что белки плотных контактов активируют сигнальные белки, контролирующие клеточную пролиферацию, дифференциацию и полярность, действуя таким образом как многофункциональный комплекс [16, 21, 23]

<sup>1</sup> Работа выполнена при поддержке РФФИ (грант № 06-04-49054)

Ранее в тонкой кишке крысы и мыши были показаны различия в уровнях экспрессии отдельных белков семейства клаудина и субклеточной локализации клаудинов в направлении поверхность — крипта [1, 5, 8, 20, 22, 25]. Детального анализа экспрессии белков плотных контактов, которые определяют свойства эпителия толстой кишки как непроницаемого, не было. Кроме того, сравнительный анализ экспрессии и субклеточной локализации клаудинов в функционально различных отделах кишки может дать сведения об их вкладе в свойства эпителия.

Цель данного исследования — изучение экспрессии и локализации различных белков плотных контактов в эпителии толстой кишки крысы с помощью методов иммунофлуоресцентного окрашивания и Вестерн-блот анализа.

Различия в экспрессии белков семейства клаудина и их распределении в эпителии толстой кишки могут играть определяющую роль в межклеточном транспорте веществ и ионов. Более того нарушения транспортных процессов могут привести к весьма нежелательным последствиям для организма, что автоматически увеличивает значимость таких исследований, благодаря их возможному использованию в клинической медицине.

**Материалы и методы исследования.** Эксперименты проведены на крысах линии Вистар ( $n=6$ ) массой 250–300 г. Животные содержались на стандартном рационе вивария. Анестезия для крыс проводилась с помощью диэтилового эфира, затем извлекались сегменты толстой кишки.

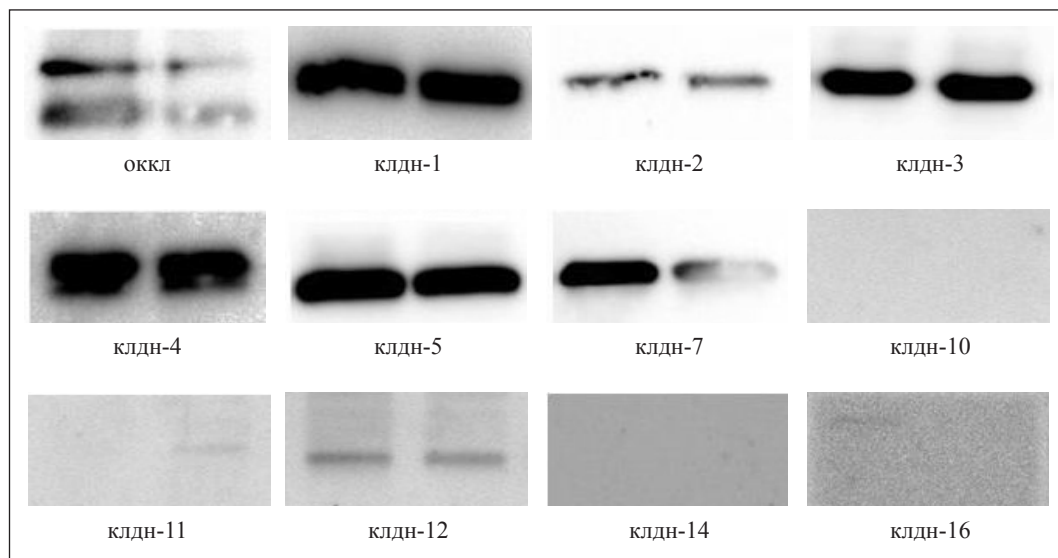
Для исследования экспрессии белков использовали Вестерн-блот, дающий представление о наличии белков в плазматической мембране, и метод иммунофлуоресцентного окрашивания с анализом изображения на конфокальном лазерном микроскопе, который позволяет судить об экспрессии локализации и характере распределения этих белков в эпителии.

*Вестерн-блот.* Эпителиальную ткань тонкой кишки гомогенизировали и выделяли белки клеточных мембран. В полиакриламидном геле с SDS проводили электрофорез проб ткани для идентификации белков, экспрессируемых в плотных контактах. После электрофореза белки переносили с геля на гидрофобную мембрану методом электропереноса в течение 60 мин при постоянном напряжении 100 В. Затем мембраны промывали в фосфатном буфере с детергентом и блокировали (120 мин) их в этом растворе с добавлением порошка сухого молока до конечной концентрации 5%. Далее мембраны инкубировали с крысинными антителами (Zymed Laboratories, США) к маркеру плотных контактов белку, окклюдину (1:2000), а так же клаудину-2 (1:1000), клаудину-1, -7, -8, -10, -11, -12, -14, -16 (1:2000), клаудину-3, -4, -5 (1:5000), а затем — с вторичными поликлональными антителами, которые конъюгированы с пероксидазой хрена (Roche Diagnostics, Германия). Для визуализации белков мембрану проявляли 5 мин в хемолуминесцентном растворе Lumilight (Roche Diagnostics, Германия), детекцию проводили в анализаторе изображений LAS 1000 (Fujifilm, Япония). Данные по Вестерн-блот анализу обрабатывали программным обеспечением AIDA.

*Иммунофлуоресцентное окрашивание.* Для иммунофлуоресцентной конфокальной микроскопии образцы ткани фиксировали в формалине и заключали в парафин. Срезы толщиной 4 мкм монтировали на предметные стекла, обезжировали в серии спиртов возрастающей концентрации, а затем кипятили в растворе ЭДТА (1мМ; pH 8,0) и промывали в фосфатном буфере. Для блокирования неспецифического связывания срезы инкубировали 30 мин в фосфатном буфере, содержащем 6% козьей сыворотки, 1% бычьего сывороточного альбумина при комнатной температуре. На срезы наносили (60 мин; 37 °C) раствор первых моноклональных антител (к окклюдину — мышинные, к клаудинам — кроличьи) в разведении 1:200 для окклюдина и 1:100 для клаудинов (исходная концентрация 20 мкг/мл, Zymed Laboratories, США). Применяли антитела к клаудинам-2, -3, -4, -5, -11, -12, -15, -18 и окклюдину. После этого срезы отмывали блокирующим раствором (2 смены по 5 мин) и для визуализации первых антител инкубировали (60 мин, 37 °C) в растворе вторых моноклональных антител (исходная концентрация 2 мкг/мл, MoViTec, Германия) в разведении 1:500, конъюгированных с Alexa Fluor 488 для окклюдина и Alexa Fluor 594 для клаудинов. После проведения реакции срезы тщательно отмывали блокирующим раствором, в течение 5 мин проводили окраску ядер DAPI (4,6-diamidino-2-phenylindole) в разведении 1:1000. Затем срезы отмывали 100%-ным этанолом и дистиллиро-

ванной водой и наносили покровные стекла. Препараты изучали с помощью конфокального лазерного микроскопа Zeiss LSM510 (Karl Zeiss, Германия) в Институте клинической физиологии Свободного Университета Берлина, используя возбуждающую длину волны 488 или 594 нм. Эмиссия Alexa Fluor 488 происходила в зеленой области спектра, а Alexa Fluor 594 — в красной. Регистрацию изображения осуществляли двумя независимыми каналами конфокального микроскопа. Результирующее изображение получали путем наложения двух изображений, зарегистрированных в разных (зеленой и красной) областях спектра. В случае колокализации этих белков в одном месте в результате интерференции испускаемых волн регистрируется желтое свечение. Данные по конфокальной микроскопии обрабатывали программным обеспечением LSM Image Browser.

**Результаты исследования и их обсуждение.** С помощью Вестерн-блот анализа при исследовании тринадцати белков плотных контактов (окклюдин, клаудины- 1, -2, -3, -4, -5, -7, -8, -10, -11, -12, -14 и -16) в эпителиальных клетках толстой кишки крысы были идентифицированы только десять из них: окклюдин, а также клаудины- 1,-2, -3, -4, -5, -7, -8 и -12. Окклюдин идентифицировался как белок с молекулярным весом 60 кДа, а клаудины — 23 кДа. Для клаудинов-10, -11, -14 и -16 Вестерн-блот не дал результатов (рис. 1). Возможно, в мембране эпителиальных клеток толстой кишки эти белки отсутствуют. Известно, что клаудины-3, -4, -7 и -8 уменьшают проницаемость эпителиальной ткани [8, 20], поэтому отдельно был проведен Вестерн-блот анализ для тонкой и толстой кишки и методом денситометрии сравнивалась интенсивность сигналов этих клаудинов. Для всех исследуемых клаудинов отмечалась более высокая интенсивность сигналов в толстой кишке крысы (рис. 2). Уровень экспрессии белков в толстой кишке вычислялся относительно тонкой, в которой экспрессия клаудинов принималась за 100%. Если для клаудина-3 интенсивность сигнала возрастает в 4 раза, то для клаудина-4 — в 7 раз, а для клаудинов-7 и -8 — в 13 и 56 раз соответственно. Возможно, данные предшественники семейства клаудина являются характерными для толстой кишки. Такая точка зрения подтверждается и другими авторами [8, 19, 26].



*Рис. 1.* Вестерн-блот для различных белков плотных контактов плазматической мембраны клеток толстой кишки крысы.

По каждому блоту представлены данные толстой кишки двух животных. Оккл — окклюдин, клдн — клаудин. Число обозначает порядковый номер клаудина.

*Иммунофлуоресцентное окрашивание.* Следует отметить, что окклюдин на всех препаратах давал зеленое свечение в области плотных контактов — на границе апикального и базолатерального доменов мембраны энтероцитов. Расположение окклюдина, в зависимости от плоскости прохождения ножа микротомы, определялось в виде точек, тонких линий или окружностей. Таким образом, окклюдин, присутствующий на всех имиджах, определяющийся именно в плотных контактах, является их маркером.

На имиджах клаудин-2 в криптах толстой кишки был локализован в апикальной части мембраны в плотных контактах. Их расположение в данной структуре не вызывает сомнения, так как хорошо прослеживается совпадение контуров клеток при распределении окклюдина и клаудина-2, а также наличие интенсивного желтого цвета в сборном имидже.

На поверхности кишки в зоне плотных контактов был идентифицирован только окклюдин, а флуоресцентная метка для клаудина-2 отсутствовала. Данный белок имел несколько иное распределение в тонкой кишке крысы, где он был обнаружен в зоне плотных контактов и на поверхности кишки, и в крипте [1]. Клаудин-2 известен как белок, формирующий поры для небольших катионов [20, 26]. Для некоторых заболеваний (болезнь Крона и язвенный колит) характерно повышение проницаемости эпителия, что обусловлено повышением экспрессии данного белка [8, 26].

Изучение иммуноокрашивания клаудинов на разных имиджах позволяет сделать заключение о том, что их локализация не ограничивается только областью плотных контактов. Например, при анализе продольных срезов эпителиального пласта можно сопоставить свечение окклюдина, находящегося в области плотных контактов апикальной части клеток, со свечением клаудинов и сделать вывод, что данные белки могут располагаться также в базолатеральной мембране вне зоны плотных контактов [1]. Так, красная метка клаудина-3 в криптах толстой кишки располагалась только в базолатеральной мембране эпителиальных клеток, а на поверхности кишки отсутствовала. Исследования N. Charoenphandhu и соавторов [6] показали, что в эпителии двенадцатиперстной кишки клаудин-3 в норме равномерно распределен по всей мембране энтероцитов, а в области плотных контактов его концентрация увеличивается при хроническом метаболическом ацидозе. Клаудин-3 имел схожее расположение с клаудином-4. Субклеточная локализация последнего также была ограничена только областью базолатеральной мембраны клеток в криптах, а на поверхности кишки сигнал маркера данного клаудина не был определен. Известно, что изменение интенсивности экспрессии клаудинов-3 и -4 может иметь различные клинические проявления. Так, например, было показано, что воспаление кишечника характеризуется снижением экспрессии и перераспределением этих белков на субклеточном уровне [19]. Поскольку данные белки обеспечивают непроницаемость эпителиальной ткани, возможно, изменение уровня их экспрессии трансформирует плотный эпителий толстой кишки в пропускающий.

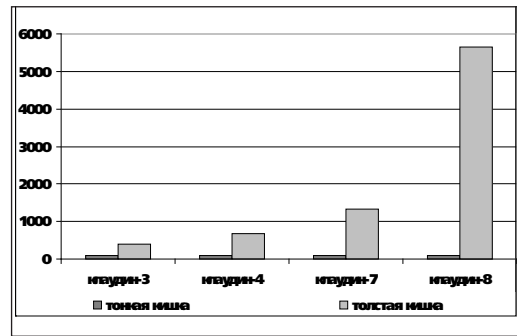


Рис. 2. Сравнение интенсивности сигналов клаудинов -3,-4,-7,-8 в толстой и тонкой кишке крысы методом денситометрии.

Уровень экспрессии белков в толстой кишке вычислялся относительно тонкой, в которой экспрессия клаудинов принималась за 100%. Для клаудина-3 интенсивность сигнала в эпителии толстой кишки возрастает в 4 раза по сравнению с эпителием тонкой кишки, клаудина-4 — в 7 раз, клаудина-7 — в 13 раз, клаудина-8 — в 56 раз соответственно.

При анализе субклеточной локализации красная метка клаудина-5 не была отмечена в области плотных контактов эпителиального пласта толстой кишки. В эпителии крипта толстой кишки и на ее поверхности в апикальной части клеточной мембраны в зоне плотных контактов был расположен только окклюдин — маркер плотных контактов, а клаудин-5, был обнаружен в базолатеральном мембранном домене. Функциональная роль клаудина-5 была определена на клеточных линиях эпителия толстой кишки. Таким образом, было показано, что данный белок вносит вклад в поддержание непроницаемости плотного эпителия. На линии клеток HT-29/B6, которая является производной от эпителия толстой кишки человека, была продемонстрирована экспрессия клаудина-5 и с помощью конфокальной микроскопии определена его локализация в плотных контактах. Данный белок отсутствовал в линиях клеток Caco-2, которая также является производной кишечного эпителия. После введения в Caco-2 клетки ДНК клаудина-5, в них отмечалась экспрессия экзогенного белка, который располагался в плотных контактах, вследствие чего увеличилось трансэпителиальное сопротивление. Данный факт позволил предположить, что присутствие клаудина-5 способствует увеличению размеров изолирующего слоя плотных контактов [2]. Известно, что разнообразие функций эпителиев может определяться наличием нескольких клаудинов, одновременная экспрессия которых может изменять функциональное значение этих белков и обеспечивать появление новых свойств эпителиальной ткани. Экспрессия клаудина-5 также была обнаружена в эндотелии сосудов [12] и в гематоэнцефалическом барьере [18].

Два белка — клаудины-12 и -18 продемонстрировали неестественную для представителей данного семейства белков локализацию. При анализе имиджей клаудин-12 не показал четкого расположения в какой-либо структуре эпителиальных клеток, а продемонстрировал диффузное окрашивание. Объяснить данный факт с точки зрения методической ошибки не представляется возможным, так как в таком случае диффузное окрашивание наблюдалось бы и на имиджах других клаудинов. Во-вторых, известно, что неспецифическое окрашивание обычно обнаруживается во всех структурах изучаемой ткани. На наших препаратах диффузное окрашивание наблюдается только в энтероцитах. В исследованиях S. Zeissig и соавторов [23] экспрессия клаудина-12 в энтероцитах сигмовидной кишки человека вовсе не была обнаружена. Поэтому субклеточная локализация клаудина-12 в эпителии толстой кишки остается спорным вопросом. Антитела к клаудину-18 в толстой кишке продемонстрировали такое же необычное распределение, как и в тонкой [1]. Иммунная реакция дала интенсивную компактную окраску вне зоны плотных контактов. Можно предположить, что окрашивание прошло в цитоплазме, так как на срезе реакция имела контур вакуолеподобной структуры. В некоторых местах реакция совпадала с областью ядра. Следует признать, что характер экспрессии клаудина-18 в эпителии толстой кишки свидетельствует о нетипичном для белков данного семейства распределении. Известно, что экспрессия клаудина-18 характерна для эпителия желудка [15] и мезотелия легких [17], но, возможно, для данного белка не свойственно присутствие в плотных контактах в энтероцитах толстой кишки.

Полученные данные не позволили дать определенный ответ на вопрос о наличии клаудинов-11 и -15 в толстой кишке. С помощью метода иммунофлуоресцентного окрашивания на имидже не было обнаружено флуоресцирующей метки клаудина-11, хотя Вестерн-блот анализ показал его присутствие в мембране эпителиальных клеток. Также нами не было обнаружено флуоресцентной метки для клаудина-15. На отсутствие этого белка указала и другая группа ученых [26]. Еще одной группой авторов был показан не только факт его присутствия в эпителиальных клетках толстой кишки, но и определен явный градиент экспрессии данного белка в направлении крипта — поверхность [13].

В данной работе была предпринята попытка проанализировать локализацию белков плотных контактов в эпителии толстой кишки крысы, где происходит всасывание воды. Данный вопрос рассматривался с двух точек зрения. Во-первых, изучалась субклеточная локализация отдельных белков семейства клаудина. Кроме того, рассматривали их распределение в эпителиальных клетках на поверхности толстой кишки и в ее криптах. Безусловно, возникает вопрос о физиологическом значении экспрессии различных клаудинов в эпителии толстой кишки. Клаудины демонстрируют различную пространственную локализацию в пределах энтероцитов, что может отражать их различие в функциональном значении. В эпителиальных клетках толстой кишки крысы методом Вестерн-блот анализа была обнаружена экспрессия не всех изучаемых нами белков плотных контактов, а только клаудинов- 1, -2, -3, -4, -5, -7, -8, -11 и -12, а также маркера плотных контактов — окклюдина, что свидетельствует о тканеспецифичной экспрессии данных белков. Уровень экспрессии отдельных белков семейства клаудина, которые обеспечивают непроницаемость эпителия, при сравнении с таковым в тонкой кишке, оказался гораздо выше. Данный факт подтверждает различие экспрессии отдельных клаудинов в двух типах эпителия — проницаемом и непроницаемом — в тонкой и толстой кишке соответственно. Метод иммуноцитохимического окрашивания показал, что в эпителии толстой кишки белки семейства клаудина локализованы по-разному. Некоторые из них локализованы в зоне плотных контактов в апикальной части мембраны. Такое расположение характерно для клаудина-2 в криптах толстой кишки. Другие белки (клаудины-3,-4,-5) локализованы в базолатеральной мембране, но их флуоресцентная метка не совпадает с маркером плотных контактов — окклюдина. Еще одна часть белков семейства клаудина была обнаружена в цитоплазме эпителиальных клеток толстой кишки. Так клаудин-12 и -18 в энтероцитах давали диффузную окраску или находились в вакуолеподобных структурах.

Таким образом, выяснено, что в эпителиальных клетках толстой кишки экспрессируется значительное количество белков семейства клаудина. Особенности субклеточной локализации этих белков могут отражать их различную роль в формировании структуры эпителиального пласта, а также в парацеллюлярном транспорте веществ и ионов в толстой кишке.

## Summary

*Markov A.G., Veshnyakova A.U.* Expression of tight junction proteins in rat colon epithelium.

Expression of tight junction proteins in a rat colon was analyzed by means of immunohistochemistry and Western blotting. Claudins-1,-2,-3,-4,-5,-7,-8,-10,-11,-12,-14,-15,-16,-18 and occludin were analyzed. Confocal laser-scanning microscopy revealed differences in the subcellular distributions of these proteins. Claudin-2 was localized within the tight junction complex and claudins-3,-4,-5,-11,-12,-15 and -18 were also detectable in subjunctional regions. Distributed subcellular localization of these proteins may reflect their different roles during formation of epithelial cell layers as well as in paracellular transport of ions in colon.

*Key words:* rat, colon, epithelium, tight junction, claudin, paracellular transport, immunofluorescence analysis, Western blot.

## Литература

1. Марков А. Г., Вешнякова А. Ю., Круг С., Милац С. Экспрессия белков плотных контактов в эпителии тонкой кишки крысы // Рос. физиол. журн. им. И. М. Сеченова. 2007. № 93 (9). С. 1043–1054. 2. Amasheh S., Schmidt T., Mahn M., Florian P., Mankertz J., Tavalali S., Gitter A. H., Schulzke J. D., Fromm M. Contribution of claudin-5 to barrier properties in tight junctions of epithelial cells // Cell Tissue Res. 2005. Vol. 321. P. 89–96. 3. Anderson J. M. Molecular structure of tight junctions and their role in epithelial transport // News Physiol. Sci. 2001. Vol. 16. P. 126–130. 4. Bent-

zel C., Fromm M., Palant C., Hegel U. Protamine alters structure and conductance of Necturus gallbladder tight junctions without major electrical effects on the apical cell membrane // *J. Membrane Biol.* 1987. Vol. 95. P. 9–20. **5.** Bürgel N., Bojarski C., Mankertz J., Zeitz M., Fromm M., Schulzke J.D. Mechanisms of diarrhea in collagenous colitis // *Gastroenterology.* 2002. Vol. 123. P. 433–443. **6.** Charoenphandhu N., Wongdee K., Tudpor K., Pandaranandaka J., Krishnamra N. Chronic metabolic acidosis upregulated claudin mRNA expression in duodenal enterocytes of female rats // *Life Sci.* 2007. Vol. 80(19). P. 1729–1737. **7.** Frömter E.D., Diamond J.M. Route of passive ion permeation in epithelia // *Nature New Biol.* 1972. Vol. 235. P. 9–13. **8.** Fujita H., Chiba H., Yokozaki H., Sakai N., Sugimoto K., Wada T., Kojima T., Yamashita T., Sawada N. Differential expression and subcellular localization of claudin-7, -8, -12, -13, and -15 along the mouse intestine // *J. Histochem. Cytochem.* 2006. Vol. 54 (8). P. 933–944. **9.** Furuse M., Hirase T., Itoh M., Nagafuchi A., Yonemura S., Tsukita S., Tsukita S. Occludin: a novel integral membrane protein at tight junctions // *J. Cell Biol.* 1993. Vol. 123. P. 1777–1788. **10.** Furuse M., Sasaki H., Fujimoto K., Tsukita S. A single gene product, claudin-1 or -2, reconstitutes tight junction strands and recruits occludin in fibroblasts // *J. Cell Biol.* 1998. Vol. 143. P. 391–401. **11.** Ikenouchi J., Furuse M., Furuse K., Sasaki H., Tsukita S., Tsukita S. Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells // *J Cell Biol.* 2005. Vol. 171. P. 939–945. **12.** Hewitt K.J., Agarwal R., Morin P.J. The claudin gene family expression in normal and neoplastic tissues // *BMC Cancer.* 2006. Vol. 6. P. 186–196. **13.** Inai T., Sengoku A., Guan X., Hirose E., Iida H., Shibata Y. Heterogeneity in expression and subcellular localization of tight junction proteins, claudin-10 and -15, examined by RT-PCR and immunofluorescence microscopy // *Arch. Histol. Cytol.* 2005. Vol. 68(5). P. 349–360. **14.** Martin-Padura I., Lostaglio S., Schneemann M., Williams L., Romano M., Fruscella P., Panzeri C., Stoppacciaro A., Ruco L., Villa A., Simmons D., Dejana E. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration // *J. Cell Biol.* 1998. Vol. 142. P. 117–127. **15.** Matsuda Y., Semba S., Ueda J., Fuku T., Hasuo T., Chiba H., Sawada N., Kuroda Y., Yokozaki N. Gastric and intestinal claudin expression at the invasive front of gastric carcinoma // *Cancer Sci.* 2007. Vol. 97(8). P. 1014–1019. **16.** Matter K, Aijaz S, Tsapara A, Balda M. S. Mammalian tight junctions in the regulation of epithelial differentiation and proliferation. 2005 // *Curr. Opin. Cell Biol.* Vol. 17. P. 453–458. **17.** Niimi T., Nagashima K., Ward J.M., Mino P., Zimonjic D.B., Popescu N.C., Kimura S. Claudin-18, a novel downstream target gene for the T/EBP/NKX2.1 homeodomain transcription factor, encodes lung- and stomach-specific isoforms through alternative splicing // *Mol. Cell Biol.* 2001. Vol. 21. P. 7380–7390. **18.** Ohtsuki S., Sato S., Yamaguchi H., Kamoi M., Asashima T., Terasaki T. Exogenous expression of claudin-5 induces barrier properties in cultured rat brain capillary endothelial cells // *J. Cell Physiol.* 2007. Vol. 210 (1). P. 81–86. **19.** Prasad S., Mingrino R., Kaukinen K., Hayes K.L., Powell R.M., MacDonald T.T., Collins J.E. Inflammatory processes have differential effects on claudins 2, 3 and 4 in colonic epithelial cells // *Lab. Invest.* 2005. Vol. 85. P. 1139–1162. **20.** Rahner, C., Mitic, L.L. and Anderson, J.M. Heterogeneity in expression and subcellular localization of claudins 2, 3, 4, and 5 in the rat liver, pancreas, and gut // *Gastroenterology.* 2001. Vol. 120. P. 411–422. **21.** Schneeberger E.E, Lynch R.D. The tight junction: a multifunctional complex // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2004. Vol. 286. P. 1213–1228. **22.** Tamagawa H., Takahashi I., Furuse M., Yoshitake-Kitano Y., Tsukita S., Ito T., Matsuda H., Kiyono H. Characteristics of claudin expression in follicle-associated epithelium of Payer's patches: preferential localization of claudin-4 at the apex of the dome region // *Lab. Invest.* 2003. Vol. 83. P. 1045–1053. **23.** Tsukita S., Furuse M., Itoh M. Multifunctional strands in tight junctions // *Nature Rev. Mol. Cell Biol.* 2001. Vol. 2. P. 285–293. **24.** Turksen K., Troy T.C. Barriers built on claudins // *J. Cell Sci.* 2004. Vol. 117. P. 2435–2447. **25.** Weng X.-H., Beyenbach W., Quaroni A. Cultured monolayers of the dog jejunum with the structural and functional properties resembling the normal epithelium // *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2005. Vol. 288. P. 705–717. **26.** Zeissig S., Bürgel N., Gunzel D., Richter J., Mankertz J., Wahnschaffe U., Kroesen A.J., Zeitz M., Fromm M., Schulzke J.D. 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. Vol. 56 (1). P. 61–72.

Статья принята к печати 15 мая 2007 г.