

# Роль дефектов аутофагии и значение адгезивно-инвазивных *Escherichia coli* в генезе болезни Крона

И.В. Маев<sup>1</sup>, Д.Н. Андреев<sup>1</sup>, Д.В. Ракитина<sup>2</sup>, Ю.П. Байкова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ГБОУ ВПО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава России, Москва, Российская Федерация

<sup>2</sup>ФГБУН «Научно-исследовательский институт физико-химической медицины» Федерального медико-биологического агентства, Москва, Российская Федерация

## Role of autophagy defects and significance of adherent-invasive *Escherichia coli* in Crohn's disease development

I.V. Mayev<sup>1</sup>, D.N. Andreyev<sup>1</sup>, D.V. Rakitina<sup>2</sup>, Yu.P. Baykova<sup>2</sup>

<sup>1</sup> State educational government-financed institution of higher professional education «Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry», Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Moscow, the Russian Federation

<sup>2</sup> State educational government-financed institution of continuing professional education «Scientific research institute of physical and chemical medicine», Federal Medical-Biological Agency, Moscow, the Russian Federation

**Цель обзора.** Представить новые данные о роли молекулярно-генетических нарушений врожденного иммунитета при болезни Крона (БК), а также осветить значение адгезивно-инвазивных *Escherichia coli* (АИЕС) как микроорганизмов, потенциально участвующих в генезе БК.

**Основные положения.** С современных позиций этиология БК носит комплексный характер и определяется такими компонентами, как генетическая предрасположенность, инфекционный агент и сре-

**The aim of review.** To present new data on a role of molecular genetic disorders of innate immunity at Crohn's disease (CD), and to demonstrate the role of adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) as the micro-organisms potentially involved in CD development.

**Summary.** According to modern concept, etiology of CD has complex nature and is determined by genetic predisposition, infectious agents and environmental factors. Alteration of autophagy process (defects of NOD2/CARD15, ATG16L1, IRGM genes) is one of genetically

**Маев Игорь Вениаминович** — доктор медицинских наук, профессор, заслуженный врач РФ, заслуженный деятель науки РФ, член-корреспондент РАН, проректор по учебной работе МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии

**Mayev Igor V** — MD, PhD, professor, honored doctor of the Russian Federation, honored scientist of the Russian Federation, corresponding member of the Russian Academy of Science, vice-rector for academic activity, Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry, Ministry of Healthcare of the Russian Federation, head of the chair of internal diseases propedeutics and gastroenterology

**Андреев Дмитрий Николаевич** — ассистент кафедры пропедевтики внутренних болезней и гастроэнтерологии МГМСУ им. А.И. Евдокимова Минздрава России. Контактная информация: dna-mit8@mail.ru

**Andreev Dmitry N** — assistant-professor, Chair of internal diseases propedeutics and gastroenterology, State educational government-financed institution of higher professional education «Yevdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry» Ministry of Healthcare of the Russian Federation. Contact information: dna-mit8@mail.ru

**Ракитина Дарья Викторовна** — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории протеомного анализа НИИ ФХМ ФМБА России

**Rakitina Darya V.** — Cand. Biol. Sci., senior research associate, Laboratory of proteomic analysis of scientific research institute, FHM FMBA of the Russian Federation

**Байкова Юлия Павловна** — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории протеомного анализа НИИ ФХМ ФМБА России

**Baykova Yuliya P.** — Cand. Biol. Sci., research associate, Laboratory of proteomic analysis of scientific research institute FHM FMBA of the Russian Federation

довые факторы. Одним из базовых для БК генетически-детерминированных нарушений врожденного иммунитета является альтерация процесса аутофагии (дефекты генов *NOD2/CARD15*, *ATG16L1*, *IRGM*). Помимо этого для БК характерны дисбиотические нарушения кишечника, ассоциированные с повышением количества микроорганизмов, обладающих патогенным потенциалом, в частности АИЕС. Данный фенотип микроорганизмов обладает способностями к адгезии к эпителиоцитам слизистой оболочки, внедрению в них, а также к активной репликации внутри макрофагов. У лиц с генетической предрасположенностью репликация АИЕС в макрофагах в условиях сниженного клиренса микроорганизмов за счет альтерации процесса аутофагии может индуцировать иррациональный иммунный ответ с развитием характерных для БК воспалительных изменений.

**Заключение.** В основе современной модели развития БК лежат дисбиотические нарушения кишечника, ассоциированные с повышением количества микроорганизмов, обладающих патогенным потенциалом (АИЕС), а также генетически-детерминированные дефекты механизмов врожденного иммунитета (альтерация аутофагии). Безусловно, такая модель скорее всего правомочна только для определенной части популяции пациентов с БК, тем не менее на настоящий момент она является базисом для дальнейшего изучения этиопатогенеза рассматриваемой патологии.

**Ключевые слова:** болезнь Крона, врожденный иммунитет, аутофагия, ксенофагия, микробиота, *NOD2/CARD15*, *ATG16L1*, *IRGM*, *Escherichia coli*, АИЕС.

Согласно современным представлениям *болезнь Крона* (БК) — это мультисистемное заболевание неизвестной этиологии, характеризующееся неспецифическим гранулематозным трансмуральным воспалением с сегментарным поражением любого отдела желудочно-кишечного тракта, а также развитием внекишечных и системных осложнений с поражением суставов, кожи, глаз и слизистых оболочек [1, 2]. Эпидемиологические данные свидетельствуют о том, что заболеваемость и распространенность БК характеризуются перманентной тенденцией к росту, особенно четко прослеживающейся в странах Северной Европы и Северной Америки [3, 4]. В этих регионах выявляемость заболевания в среднем составляет от 150 до 250 больных на 100 000 населения [3–5]. Тенденция к росту заболеваемости и распространенности БК в сочетании с преимущественным поражением лиц трудоспособного возраста возводит эту проблему в класс социально значимых, определяя ее повышенную актуальность [2, 6].

В арсенале клиницистов сегодня отсутствуют высокоэффективные методы лечения БК, что отчасти детерминировано неполным раскрытием

determined disorders of innate immunity typical for CD. Besides that intestinal dysbiotic disorders associated with elevation of quantity of microorganisms, possessing pathogenic potential, in particular АИЕС is characteristic for CD. This phenotype of microorganisms has capacity of adhesion to mucosal epithelial cells, invasion, and active replication inside macrophages. In patients with genetic predisposition АИЕС replication in macrophages at reduced clearance of microorganisms due to alteration of autophagy process can induce the unsound immune response with development inflammatory changes characteristic for CD.

**Conclusion.** Intestinal dysbiosis associated with elevation of quantity of microorganisms, possessing pathogenic potential (АИЕС), as well as genetically — determined defects of innate immunity (autophagy alteration) lay in a basis of up-to-date model of CD development. Undoubtedly, such model is most likely relevant only for selected part of CD patients, nevertheless for the present moment it is the basic for the further studying of CD etiopathogenesis.

**Key words:** Crohn's disease, innate immunity, autophagy, xenophagy, microbiota, *NOD2/CARD15*, *ATG16L1*, *IRGM*, *Escherichia coli*, АИЕС.

всех этиопатогенетических механизмов, задействованных в генезе данной патологии. Действительно, несмотря на существенные продвижения в области понимания молекулярно-генетического базиса БК, произошедшие в течение последних десятилетий, этиология этого заболевания остается достоверно неизвестной [6]. Тем не менее, опираясь на эпидемиологические, генетические и клинические исследования, проведенные к настоящему времени, можно сделать вывод, что этиология БК носит комплексный характер и определяется такими компонентами, как генетическая предрасположенность, инфекционный агент и средовые факторы [7]. На основании сказанного наиболее распространенная гипотеза генеза БК заключается в том, что заболевание возникает в результате иррационального агрессивного иммунного ответа на компоненты кишечной микробиоты у генетически предрасположенных лиц [7–9].

### Молекулярно-генетические дефекты аутофагии при БК

Изначально на роль генетического фактора в развитии БК указывали результаты много-

численных эпидемиологических исследований. В частности, многие наблюдения свидетельствуют, что у членов семьи больных БК нередко развивается данная патология [10, 11]. Более того, относительный риск ее формирования среди родственников первой степени родства практически в 14–15 раз выше, чем в общей популяции [11]. Примерно один из 5 пациентов с БК имеет, по крайней мере, одного родственника с указанной патологией [12]. В одном из последних мета-анализов, включившем несколько исследований с участием монозиготных близнецов, была продемонстрирована 30,3%-ная конкордантность (т. е. заболеваемость обоих близнецов) для БК [13]. В целом именно вышеперечисленные факты явились предпосылками к проведению геномных скринингов с целью идентификации локусов предрасположенности к БК.

Ранние генетические исследования БК существенно лимитировались научно-техническим прогрессом и их результаты фактически были несостоятельны, однако интеграция в медицинскую науку *полногеномных ассоциативных исследований* (ПГАИ; от англ. *genome-wide association study*, GWAS) явилась мощнейшим катализатором понимания концепции патогенеза заболевания [14, 15]. К настоящему времени в ПГАИ было идентифицировано более 140 локусов, в большей или меньшей степени определяющих предрасположенность к БК [16, 17]. При этом наиболее фундаментальное значение имело изучение ассоциации БК с мутациями генов, регулирующих процессы врожденного иммунитета, включая рекогницию бактериального паттерна и аутофагию [15, 16, 18].

Аутофагия представляет собой клеточный механизм утилизации избыточных или поврежденных белков, белковых комплексов и клеточных органелл, осуществляемый лизосомами той же клетки [19, 20]. Помимо этого, аутофагия играет важную роль в иммунной защите против вирусных, бактериальных и паразитарных инфекций путем селективной утилизации микроорганизмов в лизосомах; данный процесс называется ксенофагией [21]. Аутофагия является также интегральным звеном между врожденным и адаптивным иммунитетом, обеспечивая антигены для презентации главному комплексу гистосовместимости II класса (MHC-II) [22].

В начале 2001 г. двумя независимыми группами исследователей был идентифицирован первый локус предрасположенности к БК — ген *NOD2*, также известный как *CARD15* [23, 24]. Ген *NOD2/CARD15* кодирует цитозольный белок NOD2, который является внутриклеточным паттерн-распознающим рецептором, связывающим *мурамил-дипептид* (МДП) — компонент бактериального пептидогликана стенок грамположительных и грамотрицательных бактерий [25, 26]. Белок NOD2 экспрессируется преимущественно

в иммунокомпетентных клетках, таких как макрофаги, дендритные клетки, а также в клетках Панета [27]. К сегодняшнему дню определена роль NOD2 в процессах индукции аутофагии при непосредственном взаимодействии с другими белками-регуляторами данного процесса [28, 29].

На настоящий момент идентифицировано более 30 вариаций гена *NOD2/CARD15* [30]. Однако наиболее частыми аллельными вариантами, ассоциированными с БК в европейской и американской популяции, считаются две миссенс-мутации, представленные *однонуклеотидными полиморфизмами* (ОНП) — Arg702Trp, Gly908Arg, и одна мутация со сдвигом рамки считывания — Leu1007fsinsC [14, 15, 31]. Именно эти мутации представляют 82% всех вариаций гена *NOD2/CARD15*, ассоциированных с БК [32], причем каждая из них детерминирует различный риск формирования БК. Так, согласно мета-анализу S. Yazdanyar и соавт., отношение шансов развития БК составляет 2,2 (95% ДИ 2,0–2,5) для Arg702Trp; 2,6 (95% ДИ 2,2–2,9) для Gly908Arg и 3,8 (95% ДИ 3,4–4,3) для Leu1007fsinsC [32]. Перечисленные выше мутации гена *NOD2/CARD15* затрагивают регион рекогниции МДП — участок лейцин-обогащенного повторного мотива (LRR), нарушая процесс распознавания бактериальных паттернов и инициации аутофагии [15, 18, 33].

Помимо вариаций гена *NOD2/CARD15*, по результатам нескольких ПГАИ, было установлено, что ОНП гена *ATG16L1* (T300A) ассоциирован с высоким риском развития БК [34–36]. Продуктом данного гена является белок-модулятор аутофагии — ATG16L1, который в составе комплекса с ATG5–ATG12 отвечает за образование аутофагосомы (рис. 1) [37]. Считается, что мутации гена *ATG16L1* сопровождаются альтерацией активации ксенофагии, при распознавании паттернов внутриклеточных бактерий белком NOD2 [38, 39]. Помимо этого, дефекты *ATG16L1* приводят к дисрегуляции процесса экзоцитоза кишечных  $\alpha$ -дефензинов (пептиды с антибактериальным действием) из клеток Панета, что также может играть непосредственную роль в генезе БК [40].

ПГАИ идентифицировали и другой ген аутофагии, ассоциированный с БК, — *IRGM* [34, 41]. Данный ген кодирует белок — иммунитет-связанную гуанозин-трифосфатазу M (*IRGM*) [42]. Истинная функция и значение этого белка в процессе аутофагии до сих пор обсуждаются. Предполагается, что *IRGM* может принимать участие в защите клетки от внутриклеточной бактерии, а также в финальных этапах деградации субстрата аутолизосомы [37, 43].

Таким образом, молекулярные дефекты процесса аутофагии играют прямую роль в генезе БК. Это лишний раз подчеркивается иденти-

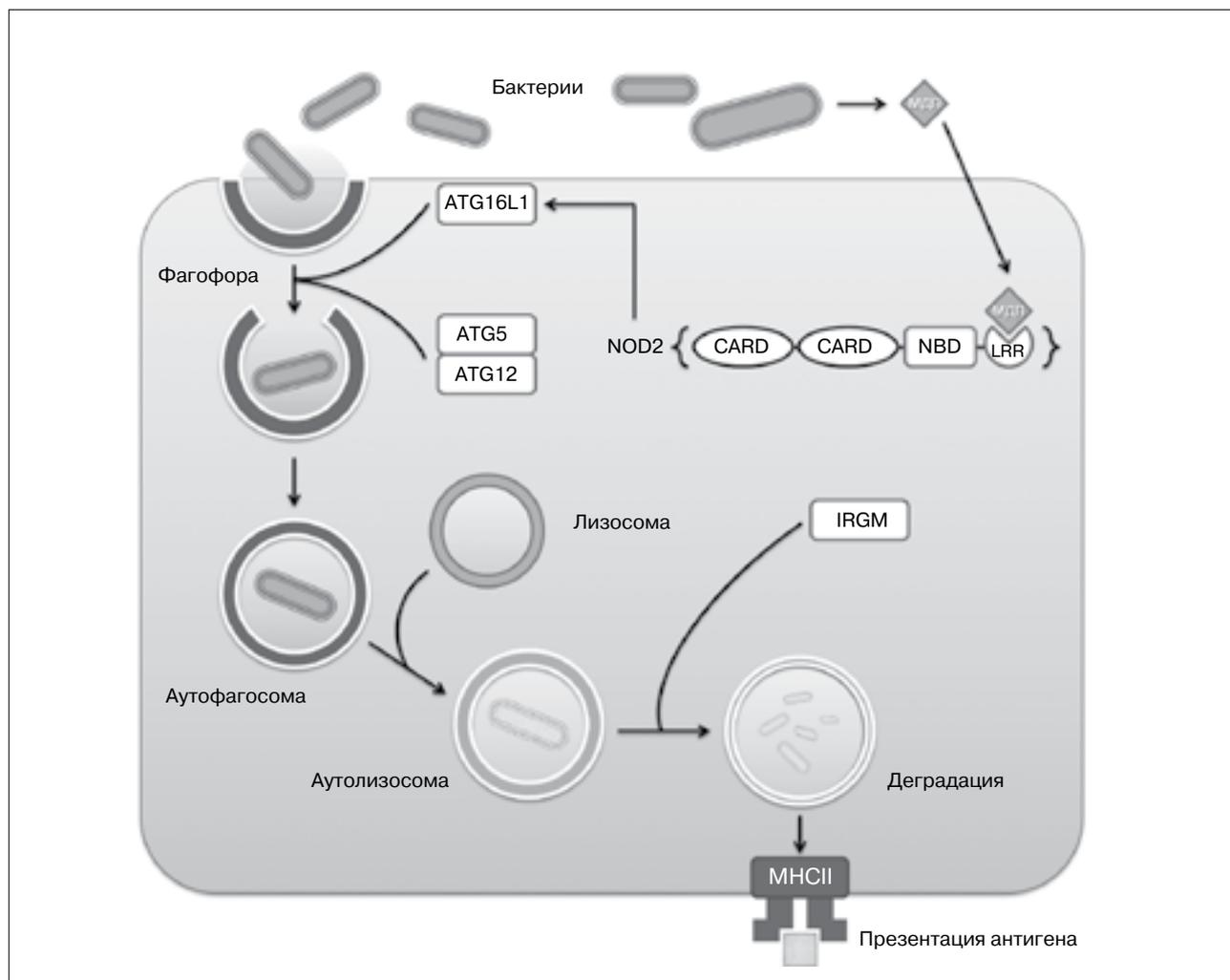


Рис. 1. Основные этапы аутофагии (ксенофагии) [15, 38]

фикацией в ПГАИ и генов, опосредованно принимающих участие в указанном процессе, таких как *ULK1*, *PTPN2*, *LRRK2*, *TLR4* [18]. В совокупности представленные данные свидетельствуют об альтерации аутофагии у пациентов с БК. Несостоятельность этого процесса может снижать клиренс ряда бактерий, в том числе обладающих патогенными свойствами. Ввиду наличия названных факторов сегодня активно исследуется взаимосвязь БК с возможными каузативными инфекционными агентами [7, 18, 37].

#### Адгезивно-инвазивные *Escherichia coli* и БК

К настоящему времени было показано, что у пациентов с БК имеются существенные отклонения микробиома кишечника, проявляющиеся дисбиозом [44]. Данные изменения характеризуются снижением количества большинства условно положительных видов бактерий (*Firmicutes* и *Bacteroidetes*) и повышением числа микроорганизмов, обладающих патогенным потенциалом (*Enterobacteriaceae*) [45–47]. Подобные

ассоциации также были выявлены в крупном исследовании при педиатрической форме БК с повышением в составе кишечной микрофлоры семейств *Enterobacteriaceae*, *Pasteurellaceae*, *Veillonellaceae* и *Fusobacteriaceae* [48]. Между тем пока достоверно не известно, являются ли дисбиотические изменения предшественниками БК или следствием воспалительного процесса. Однако существуют достоверные данные, что триггерами этих изменений могут являться средовые факторы, включая факторы образа жизни пациента [7]. К ним, в частности, относятся табакокурение, «западный» тип диеты (большое количество жиров и сахара в рационе в сочетании с низким количеством пищевых волокон), а также антибиотикотерапия [49–51].

Количественное повышение *Enterobacteriaceae* у пациентов с БК представляет отдельный интерес вследствие того, что ряд родов этого семейства обладает значительными патогенными свойствами. Действительно, стоит отметить, что *Escherichia coli* – наиболее изучаемый за последние 10–15 лет в контексте этиологии БК микроорганизм [52].

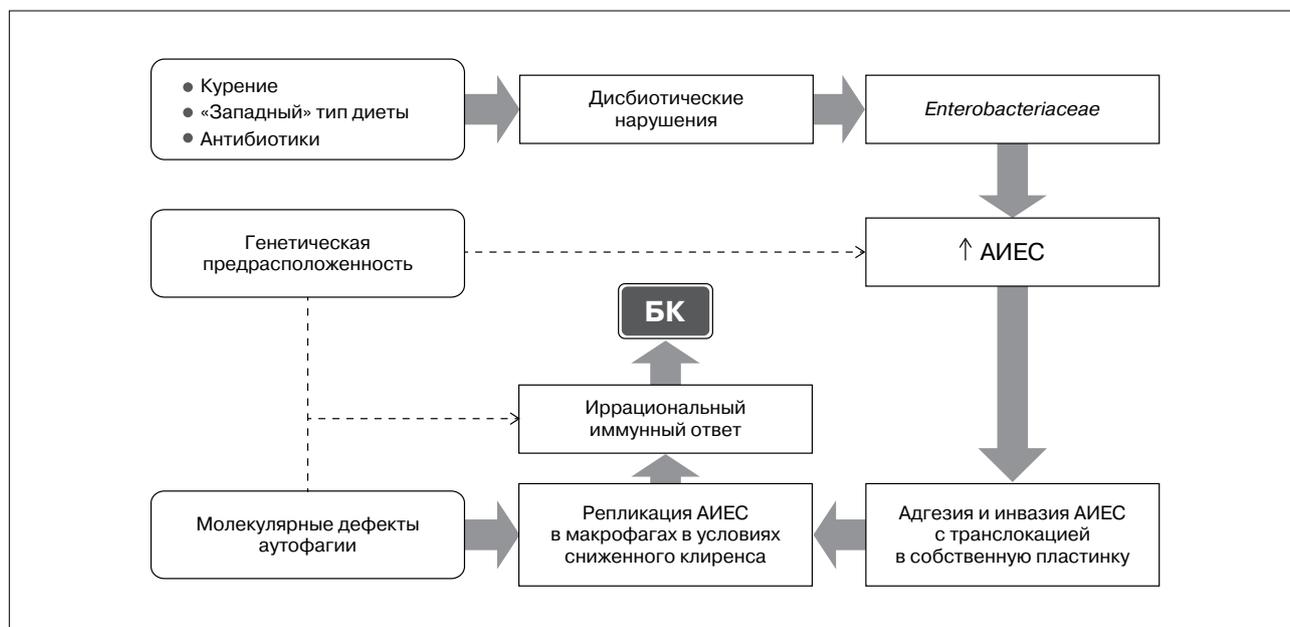


Рис. 2. Гипотеза этиопатогенеза БК

При БК слизистая подвздошной кишки колонизирована *E. coli* в 36,7% случаев по сравнению с 6,2% у здоровых лиц [53]. Более того, повышенные уровни anti-*E. coli* OmpC антител наблюдаются у 55% пациентов с БК и лишь у 5% здоровых людей [54, 55]. При этом содержание anti-*E. coli* OmpC антител нередко коррелирует с тяжестью заболевания [54].

Значимая часть *E. coli*, ассоциированных с БК, обладает способностями к адгезии к эпителиоцитам слизистой оболочки, внедрению в них, а также к активной репликации внутри макрофагов [53, 56, 57]. Данный фенотип микроорганизма получил название *адгезивно-инвазивные E. coli* (АИЕС) [57]. Установлено, что несмотря на общие фенотипические характеристики, штаммы АИЕС, выделенные от больных БК, обладают определенной гетерогенностью [58–61]. Наиболее изученным штаммом является LF82, и большинство патогенетических закономерностей ассоциации АИЕС с БК в литературе описано на его модели [52, 56].

АИЕС экспрессируют фимбрии 1-го типа (FimH), обеспечивающие адгезию к эпителиоцитам слизистой оболочки кишечника [62]. Данный процесс опосредуется связью фимбрий с поверхностным гликопротеином эпителиоцитов подвздошной кишки — CEACAM6, повышенная экспрессия которого наблюдается у 35% пациентов с БК [63, 64]. Кроме того, фимбрии 1-го типа обладают способностью к связи с белком GP2 на апикальной поверхности М-клеток, покрывающих пейеровы бляшки. Эта особенность в сочетании с экспрессией длинных полярных фимбрий (Lpf) позволяет АИЕС транслоцироваться в собственную пластинку слизистой оболочки, где они кон-

тактируют с макрофагами и дендритными клетками [65]. Следует сказать, что на процесс адгезии АИЕС могут оказывать влияние диетические факторы. Относительно недавно было показано, что мальтодекстрин — полисахарид, являющийся продуктом неполного гидролиза крахмала и используемый в качестве пищевой добавки, способствует увеличению экспрессии фимбрий 1-го типа АИЕС, приводя к усилению адгезивной способности микроорганизма [66].

Инвазия в эпителиальные клетки осуществляется посредством взаимодействия OmpC АИЕС и поверхностного гликопротеина GP96 энтероцитов [67]. Данный процесс ассоциируется с продукцией энтероцитами провоспалительных цитокинов, включая IL-8 и CCL20, что приводит к рекрутированию в зону контакта с инфектом макрофагов и антиген-представляющих клеток [68, 69]. Макрофаги, продуцируя TNF $\alpha$ , способствуют повышению экспрессии CEACAM6, усиливая потенциал к колонизации слизистой АИЕС [56, 64].

Важной особенностью АИЕС является их способность к выживанию и активной репликации внутри макрофагов [53, 56]. При этом в макрофагах не активируется процесс клеточной гибели, в том числе апоптоз [70]. На настоящий момент природа этих событий до конца не изучена. Отчасти эти явления могут объясняться дефектами аутофагии, за счет которых инактивируется клиренс АИЕС [71]. Действительно, при наличии ОНП гена *ATG16L1* (Т300А), ассоциированного с БК, клиренс АИЕС мононуклеарными клетками существенно снижен [72]. Более того, в недавнем экспериментальном исследовании было продемонстрировано, что АИЕС могут модулировать актив-

ность микроРНК (MIR30C и MIR130A), которые приводят к регрессии экспрессии белков ATG16L1 и IRGM, тем самым ингибируя процесс аутофагии [73]. Инактивация апоптоза макрофагов и дендритных клеток при инвазии АИЕС может опосредоваться альтерацией функции каспазы-3, играющей одну из ключевых ролей в программируемой клеточной гибели [74]. Репликация АИЕС внутри макрофагов приводит к перманентной активации иммунокомпетентных клеток, продукции TNF $\alpha$ , а также к формированию гранулемы — характерного признака БК [44, 75].

В недавних исследованиях также установлено, что АИЕС способны уклоняться от иммунного ответа за счет блокировки белка STAT-1, опосредованно влияющего на транскрипцию INF $\gamma$ -зависимых генов в эпителиоцитах кишечника, приводя к регрессии определенных звеньев иммунного ответа [76].

Таким образом, АИЕС обладают целым рядом свойств, которые можно охарактеризовать как вирулентные. Среди них одно из центральных мест в формировании воспалительной реакции, характерной для БК, принадлежит активной репликации АИЕС внутри макрофагов без гибели последних. Безусловно, в этих процессах остаются многие неизвестные переменные. Пока не совсем понятно и то, насколько все экспериментальные исследования *in vitro*, проведенные в этом контексте, воспроизводимы *in vivo*. Тем не менее, существующие модели на животных демонстрируют нам, что такие ассоциации вполне правомочны. Так, АИЕС (штамм LF82) способны индуцировать тяжелый колит, ассоциированный с низкой выживаемостью, потерей веса, ректальными кровотечениями на фоне эрозивного повреждения слизистой кишечника у трансгенных мышей, экспрессирующих человеческий гликопротеин CEACAM6. При этом наблюдается повышение провоспалительных цитокинов IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-17, а уровень противовоспалительного IL-10, наоборот, снижается [77].

Фактически такой же эффект был отмечен на модели хронической АИЕС-инфекции (штамм NRG857c) у нетрансгенных мышей с развитием трансмурального воспаления и фиброза на фоне повышения числа провоспалительных цитокинов TNF $\alpha$  и IL-17 [78].

Бесспорно, текущий теоретический базис позволяет рассматривать АИЕС как потенциальную терапевтическую мишень при БК. В исследованиях *in vitro* была показана эффективность фторхинолон-содержащих режимов антибактериальной терапии [79]. Однако важно отметить, что мультирезистентность АИЕС наблюдается в 65,5% случаев [80]. Более того, в условиях *in vivo* АИЕС обладают выраженной способностью к формированию биопленок [81], которые существенно снижают чувствительность микроорганизмов к антибактериальной терапии.

## Заключение

Резюмируя вышеизложенное, можно сделать вывод, что современная модель этиопатогенеза БК носит комплексный характер. В основе этой модели лежат дисбиотические нарушения кишечника, ассоциированные с повышением количества микроорганизмов, обладающих патогенным потенциалом (АИЕС), а также генетически-детерминированные дефекты механизмов врожденного иммунитета (альтерация аутофагии). Так, у лиц с генетической предрасположенностью репликация АИЕС в макрофагах в условиях сниженного клиренса микроорганизмов может индуцировать иррациональный иммунный ответ с развитием характерных для БК воспалительных изменений (рис. 2). Без сомнения такая модель скорее всего правомочна только для определенной части популяции пациентов с БК, тем не менее в настоящее время она является базисом для дальнейшего изучения этиопатогенеза рассматриваемой патологии.

## Список литературы

1. Рекомендации Российской гастроэнтерологической ассоциации по лечению болезни Крона у взрослых (проект). Рос. журн. гастроэнтерол. гепатол. колопроктол. 2012; 6:66-82.
1. The Russian Gastroenterological Association guidelines for Crohn's disease treatment in adults (the draft). Ross. zhurn. gastroenterol., gepatol., koloproktol. 2011; 6:66-82 (in Russian).
2. Маев И.В., Андреев Д.Н. Новые подходы к диагностике и лечению болезни Крона. Тер архив. 2014; 8:4-12.
2. Maev I.V., Andreev D.N. New approaches to diagnosing and treating Crohn's disease. Ter Arkh. 2014; 86(8):4-12 (in Russian).
3. Molodecky N.A., Soon I.S., Rabi D.M., et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. Gastroenterology. 2012; 142(1):46-54
4. Burisch J., Munkholm P. Inflammatory bowel disease epidemiology. Curr Opin Gastroenterol. 2013; 29 (4):357-62.
5. Kappelman M.D., Moore K.R., Allen J.K., Cook S.F. Recent trends in the prevalence of Crohn's disease and ulcerative colitis in a commercially insured US population. Dig Dis Sci. 2013; 58(2):519-25.
6. Парфенов А.И. Болезнь Крона: к 80-летию описания. Тер архив. 2013; 8:35-42.
6. Parfenov A.I. Crohn's disease: on the occasion of the 80th anniversary of description. Ter Arkh. 2013; 8:35-42 (in Russian).
7. Carrière J., Darfeuille-Michaud A., Nguyen H.T. Infectious etiopathogenesis of Crohn's disease. World J Gastroenterol. 2014; 20(34):12102-17.
8. Xavier R.J., Podolsky D.K. Unravelling the pathogenesis of inflammatory bowel disease. Nature. 2007; 448(7152):427-34.
9. Strober W., Fuss I., Mannon P. The fundamental basis of inflammatory bowel disease. J Clin Invest. 2007; 117(3):514-21.
10. Halme L., Paavola-Sakki P., Turunen U., Lappalainen M., Farkkila M., Kontula K. Family and twin studies in

- inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol.* 2006; 12:3668-3672.
11. Peeters M., Nevens H., Baert F., Hiele M., de Meyer A.M., Vlietinck R., Rutgeerts P. Familial aggregation in Crohn's disease: Increased age-adjusted risk and concordance in clinical characteristics. *Gastroenterology* 1996; 111:597-603.
  12. Dorn S.D., Abad J.F., Panagopoulos G., Korelitz B.I. Clinical characteristics of familial versus sporadic Crohn's disease using the Vienna Classification. *Inflamm Bowel Dis* 2004; 10:201-206.
  13. Brant S.R. Update on the heritability of inflammatory bowel disease: the importance of twin studies. *Inflamm Bowel Dis*. 2011; 17:1-5.
  14. Sands B.E., Siegel C.A. Crohn's disease. In: *Feldman M., Friedman L.S., Brandt L.J.*, eds. *Sleisenger & Fordtran's Gastrointestinal and Liver Disease*. 9th ed. Philadelphia, Pa: Saunders Elsevier; 2010: chap 111.
  15. Маев И.В., Андреев Д.Н. Молекулярно-генетические механизмы развития болезни Крона. *Молекулярная медицина*. 2014; 3:21-27.
  15. Maev I.V., Andreev D.N. Molecular genetic mechanisms of development of Crohn's disease. *Mol Med.* 2014; (3):21-27 (in Russian).
  16. Jostins L., Ripke S., Weersma R.K., Duerr R.H., McGovern D.P., Hui K.Y. Host-microbe interactions have shaped the genetic architecture of inflammatory bowel disease. *Nature*. 2012; 491:119-124.
  17. Liu J.Z., Anderson C.A. Genetic studies of Crohn's disease: past, present and future. *Best Pract Res Clin Gastroenterol.* 2014; 28(3):373-86.
  18. Nguyen H.T., Lapaquette P., Bringer M.A., Darfeuille-Michaud A. Autophagy and Crohn's disease. *J Innate Immun.* 2013; 5(5):434-43.
  19. Klionsky D.J., Emr S.D. Autophagy as a regulated pathway of cellular degradation. *Science*. 2000; 290(5497):1717-21.
  20. Kirkegaard K., Taylor M.P., Jackson W.T. Cellular autophagy: surrender, avoidance and subversion by microorganisms. *Nat Rev Microbiol.* 2004; 2(4):301-14.
  21. Levine B. Eating oneself and uninvited guests: autophagy-related pathways in cellular defense. *Cell*. 2005; 120(2):159-62.
  22. Schmid D., Pypaert M., Münz C. Antigen-loading compartments for major histocompatibility complex class II molecules continuously receive input from autophagosomes. *Immunity*. 2007; 26(1):79-92.
  23. Hugot J.P., Chamaillard M., Zouali H., Lesage S., Cézard J.P., Belaiche J., Almer S., Tysk C., O'Morain C.A., Gassull M., Binder V., Finkel Y., Cortot A., Modigliani R., Laurent-Puig P., Gower-Rousseau C., Macry J., Colombel J.F., Sahbatou M., Thomas G. Association of NOD2 leucine-rich repeat variants with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411:599-603.
  24. Ogura Y., Bonen D.K., Inohara N., Nicolae D.L., Chen F.F., Ramos R., Britton H., Moran T., Karaliuskas R., Duerr R.H., Achkar J.P., Brant S.R., Bayless T.M., Kirschner B.S., Hanauer S.B., Nuñez G., Cho J.H. A frameshift mutation in NOD2 associated with susceptibility to Crohn's disease. *Nature* 2001; 411:603-6.
  25. Girardin S.E., Boneca I.G., Viala J., Chamaillard M., Labigne A., Thomas G., Philpott D.J., Sansonetti P.J. Nod2 is a general sensor of peptidoglycan through muramyl dipeptide (MDP) detection. *J Biol Chem.* 2003; 278(11):8869-72.
  26. Grimes C.L., Ariyananda Lde Z., Melnyk J.E., O'Shea E.K. The innate immune protein Nod2 binds directly to MDP, a bacterial cell wall fragment. *J Am Chem Soc.* 2012; 134(33):13535-7.
  27. Lala S., Ogura Y., Osborne C., Hor S.Y., Bromfield A., Davies S., Ogunbiyi O., Nuñez G., Keshav S. Crohn's disease and the NOD2 gene: A role for paneth cells. *Gastroenterology* 2003; 125:47-57.
  28. Cooney R., Baker J., Brain O., Danis B, Pichulik T., Allan P., Ferguson D.J., Campbell B.J., Jewell D., Simmons A. NOD2 stimulation induces autophagy in dendritic cells influencing bacterial handling and antigen presentation. *Nat Med.* 2010; 16(1):90-7.
  29. Travassos L.H., Carneiro L.A., Ramjeet M., Hussey S., Kim Y.G., Magalhães J.G., Yuan L., Soares F., Chea E., Le Bourhis L., Boneca I.G., Allaoui A., Jones N.L., Nuñez G., Girardin S.E., Philpott D.J. Nod1 and Nod2 direct autophagy by recruiting ATG16L1 to the plasma membrane at the site of bacterial entry. *Nat Immunol.* 2010; 11:55-62.
  30. Lesage S., Zouali H., Cezard J.P., Colombel J.F., Belaiche J., Almer S., Tysk C., O'Morain C., Gassull M., Binder V., Finkel Y., Modigliani R., Gower-Rousseau C., Macry J., Merlin F., Chamaillard M., Jannot A.S., Thomas G., Hugot J.P. CARD15/NOD2 mutational analysis and genotype-phenotype correlation in 612 patients with inflammatory bowel disease. *Am J Hum Genet* 2002; 70:845-57.
  31. Tsianos E.V., Katsanos K.H., Tsianos V.E. Role of genetics in the diagnosis and prognosis of Crohn's disease. *World J Gastroenterol.* 2012; 18(2):105-18.
  32. Yazdanyar S., Weischer M., Nordestgaard B.G. Genotyping for NOD2 genetic variants and crohn disease: a metaanalysis. *Clin Chem.* 2009; 55(11):1950-7.
  33. Yamamoto S., Ma X. Role of Nod2 in the development of Crohn's disease. *Microbes Infect.* 2009; 11(12):912-918.
  34. Barrett J.C., Hansoul S., Nicolae D.L., Cho J.H., Duerr R.H., Rioux J.D., Brant S.R., Silverberg M.S., Taylor K.D., Barmada M.M., Bitton A., Dassopoulos T., Datta L.W., Green T., Griffiths A.M., Kistner E.O., Murtha M.T., Regueiro M.D., Rotter J.I., Schumm L.P., Steinhart A.H., Targan S.R., Xavier R.J., NIDDK IBD Genetics Consortium, Libioulle C., Sandor C., Lathrop M., Belaiche J., Dewit O., Gut I., Heath S., Laukens D., Mni M., Rutgeerts P., Van Gossum A., Zelenika D., Franchimont D., Hugot J.P., de Vos M., Vermeire S., Louis E.; Belgian-French IBD Consortium; Wellcome Trust Case Control Consortium, Cardon L.R., Anderson C.A., Drummond H., Nimmo E., Ahmad T., Prescott N.J., Onnie C.M., Fisher S.A., Marchini J., Ghori J., Bumpstead S., Gwilliam R., Tremelling M., Deloukas P., Mansfield J., Jewell D., Satsangi J., Mathew C.G., Parkes M., Georges M., Daly M.J. Genome-wide association defines more than 30 distinct susceptibility loci for Crohn's disease. *Nat Genet* 2008; 40:955-62.
  35. Hampe J., Franke A., Rosenstiel P., Till A., Teuber M., Huse K., Albrecht M., Mayr G., De La Vega F.M., Briggs J., Günther S., Prescott N.J., Onnie C.M., Häslner R., Sipos B., Fölsch U.R., Lengauer T., Platzer M., Mathew C.G., Krawczak M., Schreiber S. A genome-wide association scan of nonsynonymous SNPs identifies a susceptibility variant for Crohn's disease in ATG16L1. *Nat Genet* 2007; 39(2):207-11.
  36. Rioux J.D., Xavier R.J., Taylor K.D., Silverberg M.S., Goyette P., Huett A., Green T., Kuballa P., Barmada M.M., Datta L.W., Shugart Y.Y., Griffiths A.M., Targan S.R., Ippoliti A.F., Bernard E.J., Mei L., Nicolae D.L., Regueiro M., Schumm L.P., Steinhart A.H., Rotter J.I., Duerr R.H., Cho J.H., Daly M.J., Brant SR. Genome-wide association study identifies new susceptibility loci for Crohn disease and implicates autophagy in disease pathogenesis. *Nat Genet* 2007; 39:596-604.
  37. Marcuzzi A., Bianco A.M., Girardelli M., Tommasini A., Martelossi S., Monasta L., Crovella S. Genetic and functional profiling of Crohn's disease: autophagy mechanism and susceptibility to infectious diseases. *Biomed Res Int.* 2013; 2013:297501.
  38. Maev I.V., Andreev D.N. Role of mutations in NOD2/CARD15, ATG16L1, and IRGM in the pathogenesis of Crohn's disease. *International Journal of Biomedicine.* 2014; 4(1):7-10.
  39. Kuballa P., Huett A., Rioux J.D., Daly M.J., Xavier R.J. Impaired autophagy of an intracellular pathogen induced

- by a Crohn's disease associated ATG16L1 variant. *PLoS One*. 2008; 3(10):e3391
40. Cadwell K., Liu J.Y., Brown S.L., Miyoshi H., Loh J., Lennerz J.K., Kishi C., Kc W., Carrero J.A., Hunt S., Stone C.D., Brunt E.M., Xavier R.J., Sleckman B.P., Li E., Mizushima N., Stappenbeck T.S., Virgin H.W. 4th. A key role for autophagy and the autophagy gene Atg16l1 in mouse and human intestinal Paneth cells. *Nature*. 2008; 456(7219):259-63
  41. Parkes M., Barrett J.C., Prescott N.J., Tremelling M., Anderson C.A., Fisher S.A., Roberts R.G., Nimmo E.R., Cummings F.R., Soars D., Drummond H., Lees C.W., Khawaja S.A., Baghall R., Burke D.A., Todhunter C.E., Ahmad T., Onnie C.M., McArdle W., Strachan D., Bethel G., Bryan C., Lewis C.M., Deloukas P., Forbes A., Sanderson J., Jewell D.P., Satsangi J., Mansfield J.C.; Wellcome Trust Case Control Consortium, Cardon L., Mathew C.G. Sequence variants in the autophagy gene IRGM and multiple other replicating loci contribute to Crohn's disease susceptibility. *Nat Genet* 2007; 39:830-2.
  42. Taylor G.A., Feng C.G., Sher A. p47 GTPases: regulators of immunity to intracellular pathogens. *Nat Rev Immunol*. 2004; 4(2):100-9.
  43. Singh S.B., Davis A.S., Taylor G.A., Deretic V. Human IRGM induces autophagy to eliminate intracellular mycobacteria. *Science*. 2006; 313(5792):1438-41.
  44. Hold G.L., Smith M., Grange C., Watt E.R., El-Omar E.M., Mukhopadhyay I. Role of the gut microbiota in inflammatory bowel disease pathogenesis: what have we learnt in the past 10 years? *World J Gastroenterol*. 2014; 20(5):1192-210.
  45. Mondot S., Kang S., Furet J.P., Aguirre de Carcer D., McSweeney C., Morrison M., Marteau P., Doré J., Leclerc M. Highlighting new phylogenetic specificities of Crohn's disease microbiota. *Inflamm Bowel Dis*. 2011; 17:185-92.
  46. Baumgart M., Dogan B., Rishniw M., Weitzman G., Bosworth B., Yantiss R., Orsi R.H., Wiedmann M., McDonough P., Kim S.G., et al. Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. *ISME J*. 2007; 1:403-18
  47. Kotlowski R., Bernstein C.N., Sepelhi S., Krause D.O. High prevalence of *Escherichia coli* belonging to the B2+D phylogenetic group in inflammatory bowel disease. *Gut*. 2007; 56:669-75.
  48. Gevers D., Kugathasan S., Denson L.A., Vázquez-Baeza Y., Van Treuren W., Ren B., Schwager E., Knights D., Song S.J., Yassour M., Morgan X.C., Kostic A.D., Luo C., González A., McDonald D., Haberman Y., Walters T., Baker S., Rosh J., Stephens M., Heyman M., Markowitz J., Baldassano R., Griffiths A., Sylvester F., Mack D., Kim S., Crandall W., Hyams J., Huttenhower C., Knight R., Xavier R.J. The treatment-naïve microbiome in new-onset Crohn's disease. *Cell Host Microbe*. 2014; 15(3):382-92.
  49. Parkes G.C., Whelan K., Lindsay J.O. Smoking in inflammatory bowel disease: Impact on disease course and insights into the aetiology of its effect. *J Crohns Colitis*. 2014; 8:717-25.
  50. Chapman-Kiddell C.A., Davies P.S., Gillen L., Radford-Smith G.L. Role of diet in the development of inflammatory bowel disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2010; 16:137-151.
  51. Frolkis A., Dieleman L.A., Barkema H.W., Panaccione R., Ghosh S., Fedorak R.N., Madsen K., Kaplan G.G. Environment and the inflammatory bowel diseases. *Can J Gastroenterol*. 2013; 27:e18-e24.
  52. Smith E.J., Thompson A.P., O'Driscoll A., Clarke D.J. Pathogenesis of adherent-invasive *Escherichia coli*. *Future Microbiol*. 2013; 8(10):1289-300.
  53. Darfeuille-Michaud A., Boudeau J., Bulois P., Neut C., Glasser A.L., Barnich N., Bringer M.A., Szwedinski A., Beaugerie L., Colombel J.F. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. *Gastroenterology*. 2004; 127:412-21.
  54. Landers C.J., Cohavy O., Misra R., Yang H., Lin Y.C., Braun J., Targan S.R. Selected loss of tolerance evidenced by Crohn's disease-associated immune responses to auto- and microbial antigens. *Gastroenterology* 2002; 123(3):689-99.
  55. Mei L., Targan S.R., Landers C.J., Dutridge D., Ippoliti A., Vasiliauskas E.A., Papadakis K.A., Fleshner P.R., Rotter J.I., Yang H. Familial expression of anti-*Escherichia coli* outer membrane porin C in relatives of patients with Crohn's disease. *Gastroenterology* 2006; 130(4):1078-85.
  56. Martinez-Medina M., Garcia-Gil L.J. *Escherichia coli* in chronic inflammatory bowel diseases: An update on adherent invasive *Escherichia coli* pathogenicity. *World J Gastrointest Pathophysiol*. 2014; 5(3):213-27.
  57. Darfeuille-Michaud A. Adherent-invasive *Escherichia coli*: a putative new *E. coli* pathotype associated with Crohn's disease. *Int J Med Microbiol*. 2002; 292:185-193.
  58. Martinez-Medina M., Aldeguer X., Lopez-Siles M., González-Huix F., López-Oliu C., Dahbi G., Blanco J.E., Blanco J., Garcia-Gil L.J., Darfeuille-Michaud A. Molecular diversity of *Escherichia coli* in the human gut: new ecological evidence supporting the role of adherent-invasive *E. coli* (AIEC) in Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis*. 2009; 15(6):872-82.
  59. Vejborg R.M., Hancock V., Petersen A.M., Kroghfelt K.A., Klemm P. Comparative genomics of *Escherichia coli* isolated from patients with inflammatory bowel disease. *BMC Genomics*. 2011; 12:316.
  60. Sobieszczńska B.A., Duda-Madej A.B., Turniak M.B., Francizek R., Kasprzykowska U., Duda A.K., Rzeszutko M., Iwańczak B. Invasive properties, adhesion patterns and phylogroup profiles among *Escherichia coli* strains isolated from children with inflammatory bowel disease. *Adv Clin Exp Med*. 2012 Sep-Oct; 21(5):591-9.
  61. Conte M.P., Longhi C., Marazzato M., Conte A.L., Aleandri M., Lepanto M.S., Zagaglia C., Nicoletti M., Aloï M., Totino V., Palamara A.T., Schippa S. Adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) in pediatric Crohn's disease patients: phenotypic and genetic pathogenic features. *BMC Res Notes*. 2014 Oct 22; 7:748.
  62. Barnich N., Carvalho F.A., Glasser A.L., Darcha C., Jantscheff P., Allez M., Peeters H., Bommelaer G., Desreumaux P., Colombel J.F., et al. CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. *J Clin Invest*. 2007; 117:1566-74.
  63. Barnich N., Darfeuille-Michaud A. Role of bacteria in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2007; 13(42):5571-76.
  64. Barnich N., Darfeuille-Michaud A. Abnormal CEACAM6 expression in Crohn disease patients favors gut colonization and inflammation by adherent-invasive *E. coli*. *Virulence* 2010; 1(4):281-2.
  65. Chassaing B., Rolhion N., de Vallée A., Salim S.Y., Prorok-Hamon M., Neut C., Campbell B.J., Söderholm J.D., Hugot J.P., Colombel J.F., et al. Crohn disease-associated adherent-invasive *E. coli* bacteria target mouse and human Peyer's patches via long polar fimbriae. *J Clin Invest*. 2011; 121:966-75.
  66. Nickerson K.P., McDonald C. Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* adhesion is enhanced by exposure to the ubiquitous dietary polysaccharide maltodextrin. *PLoS One*. 2012; 7:e52132.
  67. Rolhion N., Barnich N., Bringer M.A., Glasser A.L., Ranc J., Hébuterne X., Hofman P., Darfeuille-Michaud A. Abnormally expressed ER stress response chaperone Gp96 in CD favours adherent-invasive *Escherichia coli* invasion. *Gut*. 2010; 59:1355-62.
  68. Subramanian S., Rhodes J.M., Hart C.A., Tam B., Roberts C.L., Smith S.L., Corkill J.E., Winstanley C., Virji M., Campbell B.J. Characterization of epithelial IL-8 response to inflammatory bowel disease mucosal *E.*

- coli and its inhibition by mesalamine. *Inflamm Bowel Dis.* 2008; 14:162-75.
69. Eaves-Pyles T., Allen C.A., Taormina J., Swojda A., Tutt C.B., Jezek G.E., Islas-Islas M., Torres A.G. *Escherichia coli* isolated from a Crohn's disease patient adheres, invades, and induces inflammatory responses in polarized intestinal epithelial cells. *Int J Med Microbiol.* 2008; 298:397-409.
70. Glasser A.L., Boudeau J., Barnich N., Perruchot M.H., Colombel J.F., Darfeuille-Michaud A. Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn's disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. *Infect Immun.* 2001; 69:5529-37.
71. Lapaquette P., Glasser A.L., Huett A., Xavier R.J., Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated adherent-invasive *E. coli* are selectively favoured by impaired autophagy to replicate intracellularly. *Cell Microbiol.* 2010; 12:99-113.
72. Sadaghian Sadabad M., Regeling A., de Goffau M.C., Blokzijl T., Weersma R.K., Penders J., Faber K.N., Harmsen H.J., Dijkstra G. The ATG16L1-T300A allele impairs clearance of pathosymbionts in the inflamed ileal mucosa of Crohn's disease patients. *Gut.* 2014 Sep 24. pii: gutjnl-2014-307289. doi
73. Nguyen H.T., Dalmaso G., Müller S., Carrière J., Seibold F., Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated adherent invasive *Escherichia coli* modulate levels of microRNAs in intestinal epithelial cells to reduce autophagy. *Gastroenterology.* 2014; 146(2):508-19.
74. Dunne K.A., Allam A., McIntosh A., Houston S.A., Cerovic V., Goodyear C.S., Roe A.J., Beatson S.A., Milling S.W., Walker D., et al. Increased S-nitrosylation and proteasomal degradation of caspase-3 during infection contribute to the persistence of adherent invasive *Escherichia coli* (AIEC) in immune cells. *PLoS One.* 2013; 8:e68386.
75. Meconi S., Vercellone A., Levillain F., Payré B., Al Saati T., Capilla F., Desreumaux P., Darfeuille-Michaud A., Altare F. Adherent-invasive *Escherichia coli* isolated from Crohn's disease patients induce granulomas in vitro. *Cell Microbiol.* 2007; 9:1252-61.
76. Ossa J.C., Ho N.K., Wine E., Leung N., Gray-Owen S.D., Sherman P.M. Adherent-invasive *Escherichia coli* blocks interferon- $\gamma$ -induced signal transducer and activator of transcription (STAT)-1 in human intestinal epithelial cells. *Cell Microbiol.* 2013; 15:446-57.
77. Carvalho F.A., Barnich N., Sivignon A., Darcha C., Chan C.H., Stanners C.P., Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease adherent-invasive *Escherichia coli* colonize and induce strong gut inflammation in transgenic mice expressing human CEACAM. *J Exp Med.* 2009; 206(10):2179-89.
78. Small C.L., Reid-Yu S.A., McPhee J.B., Coombes B.K. Persistent infection with Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* leads to chronic inflammation and intestinal fibrosis. *Nat Commun.* 2013; 4:1957.
79. Subramanian S., Roberts C.L., Hart C.A., Martin H.M., Edwards S.W., Rhodes J.M., Campbell B.J. Replication of Colonic Crohn's Disease Mucosal *Escherichia coli* Isolates within Macrophages and Their Susceptibility to Antibiotics. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008; 52(2):427-34.
80. Dogan B., Scherl E., Bosworth B., Yantiss R., Altier C., McDonough P.L., Jiang Z.D., Dupont H.L., Garneau P., Harel J., et al. Multidrug resistance is common in *Escherichia coli* associated with ileal Crohn's disease. *Inflamm Bowel Dis.* 2013; 19:141-150.
81. Martinez-Medina M., Naves P., Blanco J., Aldeguer X., Blanco J.E., Blanco M., Ponte C., Soriano F., Darfeuille-Michaud A., Garcia-Gil L.J. Biofilm formation as a novel phenotypic feature of adherent-invasive *Escherichia coli* (AIEC) *BMC Microbiol.* 2009; 9:202.