https://doi.org/10.22416/1382-4376-2021-31-1-20-30



# Методы оценки кишечной проницаемости: обзор литературы

А.А. Якупова<sup>1,\*</sup>, С.Р. Абдулхаков<sup>1,2</sup>, Р.К. Залялов<sup>1</sup>, А.Г. Сафин<sup>1</sup>, Р.А. Абдулхаков<sup>2</sup>

ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Российская Федерация
 ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Казань, Российская Федерация

Цель обзора: проанализировать данные по методам оценки кишечной проницаемости.

**Основные положения.** Кишечный барьер представляет собой функциональное образование, разделяющее просвет кишечника и внутреннюю среду организма, кишечная проницаемость позволяет оценивать функционирование кишечного барьера. Методы, используемые для оценки проницаемости и целостности кишечного барьера, различаются в зависимости от условий их применения (*in vivo* или *ex vivo*), объекта исследования (человек или животные), маркерных молекул, используемых для оценки проницаемости (ионы, углеводы различных размеров, макромолекулы и антигены, бактериальные продукты и бактерии), а также биоматериалов, используемых для измерения концентрации маркерных молекул (периферическая кровь, кровь из воротной вены, моча, кал). Несмотря на большое разнообразие методов оценки кишечной проницаемости, их применение в клинической практике требует дальнейшего изучения ввиду отсутствия их стандартизации, сложности проведения некоторых методик и порой недостаточно высокой достоверности результатов.

**Заключение**. Необходимо дальнейшее изучение и усовершенствование методов оценки кишечной проницаемости. Стандартизация методик и их результатов обеспечит возможность внедрения в практику при функциональных и органических заболеваниях кишечника, а также при аллергических заболеваниях, сахарном диабете, неалкогольной жировой болезни печени и ряде других заболеваний.

**Ключевые слова:** кишечная проницаемость, кишечный барьер, сахарный тест, липополисахарид, плотные контакты

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Благодарности:** Работа выполнена за счет средств субсидии, выделенной Казанскому федеральному университету для выполнения государственного задания 0671-2020-0058 в сфере научной деятельности.

**Для цитирования:** Якупова А.А., Абдулхаков С.Р., Залялов Р.К., Сафин А.Г., Абдулхаков Р.А. Методы оценки кишечной проницаемости: обзор литературы. Российский журнал гастроэнтерологии, гепатологии, колопроктологии. 2021;31(1):20–30. https://doi.org/10.22416/1382-4376-2021-31-1-20-30

# **Intestinal Permeability Assays: a Review**

Alina A. lakupova<sup>1,\*</sup>, Sayar R. Abdulkhakov<sup>1,2</sup>, Ramil K. Zalyalov<sup>1</sup>, Ayrat G. Safin<sup>1</sup>, Rustam A. Abdulkhakov<sup>2</sup>

**Aim.** A literature review of intestinal permeability assessment techniques.

**Key points.** The intestinal barrier is a functional entity separating the intestinal lumen and internal body, and intestinal permeability is a measure of the barrier functionality. The intestinal barrier integrity and permeability assays differ by the application setting (*in vivo* or *ex vivo*), subject (human or animal), marker molecules used to assess permeability (ions, various size carbohydrates, macromolecules, antigens, bacterial products and bacteria), biomaterial for the marker concentration assays (peripheral blood, portal venous blood, urine, stool). Despite a great variety of methods for assessing intestinal permeability, their clinical application requires further studies due to a lack of standardisation, the complexity of selected techniques and occasional limited reliability of results.

**Conclusion.** Further investigation and improvement of intestinal permeability assays is required. The assay and result standardisation will facilitate practice in functional and organic intestinal diseases, as well as allergies, diabetes mellitus, non-alcoholic fatty liver disease and some other illnesses.

Keywords: intestinal permeability, intestinal barrier, sugar test, lipopolysaccharide, tight junctions

**Conflict of interest:** the authors declare no conflict of interest.

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Kazan Federal University, Kazan, Russian Federation

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Kazan State Medical University, Kazan, Russian Federation

**Acknowledgments:** Research was funded by the Kazan Federal University within State Assignment 0671-2020-0058 in the field of science.

**For citation:** lakupova A.A., Abdulkhakov S.R., Zalyalov R.K., Safin A.G., Abdulkhakov R.A. Intestinal Permeability Assays: a Review. Russian Journal of Gastroenterology, Hepatology, Coloproctology. 2021;31(1):20–30. https://doi. org/10.22416/1382-4376-2021-31-1-20-30

Сейчас в изучении патогенеза различных заболеваний большое внимание уделяется барьерной функции желудочно-кишечного тракта (ЖКТ). Слизистая оболочка ЖКТ выполняет сложные функции, выступая в качестве полупроницаемого барьера, который позволяет всасывать питательные вещества и при этом ограничивать поступление пищевых антигенов и патогенных микроорганизмов. Выполнение этой задачи достигается путем взаимодействия структурных компонентов и молекулярных механизмов, обеспечивающих транспорт различных молекул в слизистой оболочке кишечника [1].

Барьерная функция ЖКТ может быть нарушена вследствие выраженного структурного повреждения любого из компонентов кишечного барьера [2]. Дефекты кишечного барьера связывают с патогенезом многих заболеваний, включая болезни ЖКТ (целиакию, синдром раздраженного кишечника (СРК), воспалительные заболевания кишечника (ВЗК), колоректальный рак), а также аллергические заболевания, сахарный диабет, неалкогольную жировую болезнь печени, ожирение, сепсис, ревматологические заболевания [1, 3–11]. Выдвигается гипотеза о том, что нарушение барьерной функции кишечника, повышенная проницаемость и прохождение люминальных антигенов (бактерий, пищевых аллергенов) усиливают иммунный ответ, тем самым инициируя воспаление как в кишечнике, так и в других органах [12].

В настоящее время разрабатывается ряд методов лечения, нацеленных на устранение повышенной проницаемости кишечника, которые включают пробиотики (предполагается, что механизм их действия заключается в усилении экспрессии белков плотных контактов), препараты, содержащие короткоцепочечные жирные кислоты, в частности бутират, который также участвует в экспрессии белков плотных контактов, и модуляторы плотного соединения (используются белки, полученные из токсина zonula occludens или энтеротоксина Clostridium perfringens, которые могут обратимо регулировать парацеллюлярный барьер путем связывания с белками плотных контактов) [13–16]. Кроме того, параметры проницаемости все чаще используются в качестве конечных точек при оценке эффективности лечения в клинических исследованиях. В связи с этим необходимы надежные, воспроизводимые и осуществимые методы измерения проницаемости кишечника в клинических условиях. В настоящее время существуют различные тесты in vivo, ex vivo и in vitro, некоторые

из которых применимы только в фундаментальных исследованиях [17]. В данном обзоре проанализирована и систематизирована имеющаяся на сегодняшний день информация по методам оценки кишечной проницаемости.

# Кишечный барьер и кишечная проницаемость: дефиниции

Прежде чем перейти к методам оценки кишечной проницаемости, следует остановиться на значении терминов «кишечный барьер», «кишечная проницаемость» и компонентах кишечного барьера.

По мнению S.C. Bischoff и др. (2014), термины «кишечный барьер» и «кишечная проницаемость» описывают два различных аспекта одной и той же анатомической структуры — кишечной стенки, состоящей из слизистой оболочки, подслизистой основы, мышечной и серозной оболочек [18].

Кишечный барьер представляет собой функциональное образование, разделяющее просвет кишечника и внутреннюю среду организма, кишечная проницаемость позволяет оценивать функционирование кишечного барьера. Нормальная кишечная проницаемость у лиц без признаков интоксикации, воспаления, нарушения функции кишечника характеризуется стабильностью; нарушенная проницаемость периодически нестабильна и может приводить к потере кишечного гомеостаза и развитию функциональных расстройств и органических заболеваний [18].

Проницаемость кишечника опосредована трансклеточными и парацеллюлярными путями. Для более крупных антигенов, к которым относят микроорганизмы и пищевые антигены, характерен трансклеточный путь транспорта путем эндоцитоза при помощи различных клеток эпителиального пласта. Парацеллюлярный путь участвует в транспортировке мелких молекул, ионов и растворенных веществ между эпителиальными клетками [18-20]. Кишечный барьер — это сложная многокомпонентная система, состоящая преимущественно из трех крупных структурных элементов: слизи, слоя эпителиальных клеток и собственной пластинки слизистой оболочки. В структуру кишечного барьера также входят микробиота, ряд клеток и молекул, относящихся к иммунной, сосудистой и нервной системам, которые связаны с ЖКТ.

Самый первый, наружный слой кишечного барьера — слой слизи, представляющий собой сетчатую структуру, которая покрывает апикальную Обзоры / Reviews www.gastro-j.ru

поверхность эпителиальных клеток и препятствует их непосредственному контакту с крупными частицами и бактериями. Основной компонент слизистого слоя — муцины, продуцируемые бокаловидными клетками [21, 22]. Помимо муцина в состав слизи входят антимикробные пептиды (такие как лизоцим, дефензины-а и -в, секреторная фосфолипаза A2 II типа и др.), секреторный IgA, гликопротеины и липиды, бактерии [5, 21, 23, 25, 26]. Следует отметить, что тонкая кишка имеет только один слой слизи, в то время как толстая — два: внешний, рыхлый слой, который участвует в колонизации симбионтных бактерий, и внутренний, плотный слой, содержащий меньшее количество бактерий [27, 28]. Кроме муцина бокаловидные клетки также продуцируют трефойловые факторы, в частности TFF-3 (trefoil factor family-3), резистиноподобную молекулу-в и IgG Fc-связывающий белок [29, 30].

Основу кишечного барьера составляет слой цилиндрических эпителиальных клеток. Выделяют пять видов кишечных эпителиоцитов, каждый из которых участвует в образовании кишечного барьера и выполняет определенные функции: столбчатые эпителиоциты (энтероциты), их разновидность — микроскладчатые клетки (М-клетки), бокаловидные клетки, эндокриноциты, клетки Панета и недифференцированные эпителиоциты [24, 25]. Под базальной мембраной эпителиального слоя располагается собственная пластинка слизистой оболочки, содержащая большое количество Т-лимфоцитов, плазматических клеток, которые продуцируют IgA, макрофагов и дендритных клеток [21].

Клетки эпителиального слоя связаны между собой различными по строению и функциям соединениями, такими как плотные контакты, адгезивные контакты и десмосомы. Большой интерес для изучения кишечной проницаемости представляют плотные контакты, основной функцией которых является обеспечение пропускной способности межклеточного пространства. Адгезивные соединения и десмосомы, лежащие глубже плотных контактов, в основном играют роль «соединителей» клеток между собой [5, 22, 31].

Некоторые исследователи относят к кишечному барьеру не только эпителиальный слой кишечной стенки, но и сосудистый компонент, так называемый кишечно-сосудистый барьер (gut-vascular barrier), состоящий из тесно взаимодействующих эндотелиальных, глиальных клеток и перицитов. Кишечно-сосудистый барьер представляет собой второй независимый барьер, который регулирует транслокацию люминальных бактерий и их лигандов, а также пищевых антигенов [32].

Микробиота кишечника, которая представлена двумя фракциями — мукозной и просветной, также является одним из основных компонентов интестинального барьера. Мукозная микробиота состоит преимущественно из бифидо- и лактобактерий,

которые обуславливают колонизационную резистентность кишки, препятствуя проникновению в слизистый слой патогенных и условно-патогенных бактерий [22, 23].

# Методы оценки проницаемости

Методы, используемые для оценки проницаемости и целостности кишечного барьера, различны в зависимости от условий (*in vivo* или *ex vivo*), объекта исследования (человек или животные), маркерных молекул, используемых для оценки проницаемости (ионы, углеводы различных размеров, макромолекулы и антигены, бактериальные продукты и бактерии), а также биоматериалов, используемых для измерения концентрации маркерных молекул (периферическая кровь, кровь из воротной вены, моча, кал) [18].

#### 1. Методы ех vivo

Камеры Уссинга применяются в электрофизиологических исследованиях для измерения трансэпителиальных электрических реакций в различных экспериментальных условиях. Современная камера состоит из двух половин, которые крепятся вместе и содержат образец ткани с изолированием апикальной и базолатеральной сторон. Две полукамеры заполнены равным количеством раствора Рингера. Активный перенос ионов создает разность потенциалов эпителия, для измерения которых используются электроды, и определяется ток короткого замыкания, который отражает активный перенос ионов через мембрану. Исходя из этого можно рассчитать электрическое сопротивление, которое отражает целостность ткани по отношению к парацеллюлярной проницаемости. К апикальной стороне камеры могут быть добавлены различные вещества: например, 51Сг-этилендиаминтетрауксусная кислота (51Cr-ЭДТА) или маннитол используют для измерения парацеллюлярной, а HRP (horseradish peroxidase) — трансцеллюлярной проницаемости [33].

Электрическое сопротивление и поток специфических веществ также могут быть измерены *in vitro* с использованием культур эпителиальных клеток. Клетки Сасо-2 служат наиболее часто используемой клеточной линией и культивируются в виде монослоя на проницаемых основах. Этот метод широко используется для скрининга поглощения *in vitro* новых лекарственных препаратов [18].

Возможность измерения проницаемости и переноса ионов в определенных областях ЖКТ является одним из основных преимуществ метода камеры Уссинга, но данный метод инвазивен, и проведение его *ex vivo*, а также использование культуры клеток может не отражать всей сложности процесса, происходящего *in vivo* [18].

# 2. Функциональные методы іп vivo

Функциональные методы оценки кишечной проницаемости представляют собой измерение экскреции перорально введенных разнообразных

молекул. К таким веществам относят лактулозу, маннитол, сукралозу, сахарозу, полиэтиленгликоль-4000/400 (PEG-4000/400), ЭДТА, меченый декстран, овальбумин. Однако все вещества, кроме олигосахаридов, чаще всего используются для работы с животными [18].

Считается, что молекула большого размера проходит парацеллюлярный путь только в том случае, если нарушена барьерная функция кишечника. В случае потери барьерной функции данные молекулы пересекают кишечный барьер, попадают в кровоток и могут быть обнаружены в моче в результате почечной экскреции. Молекула малого размера свободно пересекает кишечный барьер независимо от барьерной функции, и на ее экскрецию с мочой так же, как и в случае крупных молекул, влияют такие факторы, как моторика ЖКТ, состояние микробиоты кишечника, функция почек. Таким образом, соотношение концентрации в моче обеих молекул, измеренное через 5-6 ч после их введения, будет более точно отражать парацеллюлярный транспорт через кишечный барьер, чем изолированное измерение мочевых олигосахаридов [34, 35].

«Золотым стандартом» оценки тонкокишечной проницаемости является «двойной сахарный тест», который измеряет экскрецию с мочой двух перорально введенных неметаболизируемых сахаров (лактулозы и маннитола) в течение 6-часового периода [35]. Содержание сахаров в моче определяется при помощи высокоэффективной жидкостной хроматографии или сочетания этого метода с массспектрометрией.

Существуют различные вариации данного метода оценки кишечной проницаемости. Ввиду того что лактулоза и маннитол расщепляется бактериями толстой кишки, целесообразно для оценки толстокишечной проницаемости или кишечника в целом использовать «тройной сахарный тест», включающий пероральное введение маннитола, лактулозы и сукралозы. Считается, что экскреция лактулозы в течение 24 ч (вероятно, отражающая только проницаемость тонкой кишки), вычитаемая из 24-часовой экскреции сукралозы, дает изолированную оценку проницаемости толстой кишки [36, 37].

Главным преимуществом данного метода является его неинвазивность, однако этот метод достаточно трудоемкий, а индивидуальные различия в образе жизни, функции ЖКТ и почек могут влиять на показатели проницаемости, кроме того, отсутствуют стандартизированные протоколы его проведения [38—40].

Инвазивный метод «кишечной петли» применяют в эксперименте на животных. Суть метода заключается во введении флуоресцентного препарата в определенный отдел кишечника, изолированный с двух сторон при помощи клипс или зажимов, и оценке через фиксированное время его концентрации в крови [41].

#### 3. Бактериальные тесты

Липополисахарид (ЛПС) (эндотоксин) является структурным компонентом клеточной стенки грамотрицательных бактерий. По химической структуре эндотоксин представляет комплекс с молекулярной массой 2000—20 000 Da, который состоит из липида A и гидрофильного полисахарида [42]. Активация ЛПС иммунных клеток приводит к выбросу воспалительных медиаторов: цитокинов, хемокинов, ферментов, эйкозаноидов, адгезивных молекул и свободных радикалов, ответственных за развитие воспалительных реакций и способных вызывать различные патофизиологические процессы, включая септический шок [43].

Из числа методов, используемых для изучения динамики и кинетики ЛПС кишечных бактерий *in vivo*, следует назвать иммуноферментный анализ (ИФА), латекс-агглютинацию, коагглютинацию, LAL (Limulus amebocyte lysate)-тест, полимеразную цепную реакцию [44, 45].

Концентрация ЛПС наиболее высока в просвете кишечника. В норме ЛПС не проникает из просвета кишечника через кишечный барьер, но при нарушении проницаемости кишечника, в частности при поражении плотных контактов, происходит парацеллюлярный перенос ЛПС и других антигенов из люминального пространства [46, 47]. Вместе с тем, в то время как ЛПС довольно легко измеряется в крови воротной вены у животных, измерение ЛПС в периферической крови у человека остается сложной задачей и требует тщательной стандартизации метода [48—50].

В качестве альтернативы определения ЛПС было предложено измерение циркулирующих антител к ядру эндотоксина (Endotoxin core antibodies, EndoCAb) в сыворотке крови — метода, позволяющего количественно определять иммуноглобулины (IgG, IgM и IgA) в острую фазу повреждения кишечного барьера. В литературе чаще встречается определение уровня циркулирующих антител у послеоперационных больных или пациентов с острой хирургической патологией (в частности, с острым панкреатитом), у которых наблюдалось снижение их уровня [51, 52]. Измерение EndoCAb в сыворотке крови проводилось и для изучения патогенеза нарушения кишечного барьера и проницаемости у пациентов с другими заболеваниями [53]. В частности, в работе H. Kitabatake et al. (2017) была показана связь между уровнем ЛПС, EndoCAb и гистологическими признаками неалкогольной жировой болезни печени [54]; в исследовании S. Hawkesworth et al. (2013) повышение уровня EndoCAb описано у пациентов с ожирением и сахарным диабетом 2-го типа [55].

Некоторые ученые предлагают определять уровень D-лактата в плазме крови, поскольку D-лактат является бактериальным метаболитом. Низкие уровни D-лактата обнаруживают у здоровых людей, но в случае потери барьерной функции кишечника этот показатель может увеличиваться

Обзоры / Reviews www.gastro-j.ru

в результате повышенной бактериальной транслокации. Например, при болезни Крона отмечается статистически значимое повышение концентрации D-лактата по сравнению с группой контроля [56]. Однако результаты следует интерпретировать с осторожностью в тех случаях, когда наблюдается избыточный рост бактерий, поскольку это может привести к усилению ферментации непереваренных углеводов до уровня D-лактата; поэтому вопрос о пользе D-лактата плазмы крови в качестве маркера барьерной функции толстой кишки у человека является предметом дальнейших исследований [57].

Образование короткоцепочечных жирных кислот, таких как бутират, зависит от состава и активности кишечной микробиоты, образа жизни, питания и ряда других факторов. Было показано, что бутират уменьшает бактериальную транслокацию в клеточных моделях и модифицирует экспрессию белков плотных контактов клаудина-1 и клаудина-2 в пользу сохранения барьерной функции кишечной стенки [58–60], поэтому дефицит бутирата можно рассматривать как косвенный показатель нарушения барьерной функции толстой кишки. Помимо этого, некоторые исследователи предлагают определять бактериальный гемолизин, однако определение его и бутирата на данный момент не нашло широкого распространения.

Было показано, что в условиях, характеризующихся нарушением кишечного барьера, внутрипросветные бактерии проникают во внутренний слой слизи толстой кишки, обычно непроницаемый для комменсалов [61, 62], поэтому содержание бактерий во внутреннем слое слизи толстой кишки может служить новым маркером нарушения барьерной функции и повышенной проницаемости толстой кишки. Однако этот метод достаточно инвазивен, и на сегодняшний день отсутствуют протоколы его стандартизации [18].

4. Определение биомаркеров для оценки кишечной проницаемости

Выделяют две большие группы биомаркеров, позволяющих оценить кишечную проницаемость. К первой группе относятся маркеры повреждения эпителиальных клеток, такие как цитруллин, белки, связывающие жирные кислоты (fatty acidbinding proteins, FABP), α-глутатион S-трансфераза (α-GST), клаудины. Вторая группа — маркеры кишечного и иммунного воспаления: фекальный кальпротектин, α1-антитрипсин, секреторный IgA и др.

Цитруллин — это непротеиногенная аминокислота, продуцируемая энтероцитами тонкой кишки из глутамина, поступающего с пищей; является промежуточным продуктом метаболизма аминокислот, участвуя в аргининовом цикле. При воспалении слизистой оболочки кишечника масса энтероцитов уменьшается и уровень цитруллина также снижается, что позволяет считать его биомаркером массы энтероцитов и, следовательно, проницаемости

кишечника [63, 64]. Одно из первых клинических исследований, проведенное N.M. Blijlevens et al. (2004), показало, что низкий уровень цитруллина в сыворотке крови соответствуют тяжелому повреждению слизистой оболочки кишечника у пациентов, получавших трансплантацию гемопоэтических стволовых клеток [65—67]. Следует отметить, что чувствительность и специфичность цитруллинового теста выше, чем функциональных тестов с сахарами [68].

Белки, связывающие жирные кислоты (fatty acid-binding proteins, FABP), — это семейство небольших цитозольных водорастворимых белков, которые присутствуют в энтероцитах, в результате повреждения энтероцитов могут быть обнаружены, вследствие чего могут выступать в качестве биомаркеров гибели энтероцитов и атрофии слизистой оболочки кишечника. Данные белки участвуют в транспорте жирных кислот с апикальной мембраны энтероцита в эндоплазматический ретикулум, где и происходит синтез сложных липидов [69]. Белки семейства FABP могут быть использованы в качестве маркеров повреждения ткани, поскольку представляют собой низкомолекулярные растворимые белки, расположенные в цитоплазме и обладающие высокой тканевой специфичностью. В кишечнике присутствует три вида FABP: кишечный тип (I-FABP, intestinal fatty acid-binding protein) — экспрессируется больше в тонкой кишке, нежели в толстой; печеночный тип (L-FABP, liver fatty acid-binding protein) — экспрессируется в печени, в кишечнике и почках; и І-ВАВР (ileal bile acid-binding protein) — кишечный белок, связывающий желчные кислоты, экспрессируется только в подвздошной кишке. Эти белки могут быть обнаружены как в плазме крови, так и в моче при помощи ИФА [70]. Статистически значимое повышение уровня этих белков выявлено у пациентов с ишемией кишечника, синдромом системного воспалительного ответа, некротизирующим энтероколитом, а также у пациентов с ВЗК, ожирением и целиакией [71–74].

Глутатион S-трансферазы (GST) — это группа ферментов, участвующих в клеточной защите, детоксикации токсичных и чужеродных соединений внутри клетки путем конъюгации их с глутатионом. Эти ферменты делятся на четыре большие подгруппы: αGST, uGST, wGST и θGST. Наиболее интересным с точки зрения кишечной проницаемости является αGST, который присутствует в кишечнике, печени и почках и может выступать в качестве потенциального маркера повреждения кишечного эпителия [34]. Однако повышенный уровень aGST в плазме или моче может свидетельствовать о повреждении не только кишечника, но также печени и почек, и его определение будет достоверным только при подозрении на изолированное поражение кишечника [75, 76].

О целостности кишечного барьера можно также судить по состоянию белков плотных контактов.

Основное внимание уделяется трансмембранным белкам семейства клаудинов, некоторые из них содержатся в эпителии кишечника. Установлено, что распределение представителей семейства клаудинов в эпителии различных сегментов кишечника совпадает с их барьерными свойствами [77]. В настоящее время семейство клаудинов у людей включает 26 элементов, однако у других видов млекопитающих количество белков может варьировать [78]. По своему строению клаудины представляют собой четырехдоменные трансмембранные белки с двумя внеклеточными петлями и С- и N-внутриклеточными концами [79].

Основной функцией белков этого семейства является формирование парацеллюлярного барьера. По своим функциям эти белки можно подразделить на две группы: порообразующие клаудины -2, -7, -12, -15, -16 формируют селективные ионные поры, а клаудины -1, -3, -4, -5, -8, -14, -18, -19, наоборот, способны снижать проницаемость эпителия [79]. Одним из первых была определена роль клаудина-1, отсутствие которого у мышей приводило к гибели животных в течение суток после рождения в результате обезвоживания [80]. Исследования показывают, что экспрессия белка клаудина-1 значительно снижается у пациентов с ВЗК и коррелирует с продолжительностью заболевания; позже было определено, что экспрессия данного белка снижена в эпителиальных клетках, плотно прилегающих к нейтрофилам в местах поражения [81, 82]. Помимо этого, экспрессия клаудина-1 была снижена у пациентов с СРК [83]. Экспрессия клаудинов -2, -3 и -4 также отличается у пациентов видов с ВЗК по сравнению с контрольной группой [84–86].

В одном из исследований была показана связь между поражением плотных контактов и уровнем клаудина-3 в моче у пациентов с некротизирующим энтероколитом, ВЗК или после обширных оперативных вмешательств, что позволяет предположить информативность его определения в моче в качестве неинвазивного маркера поражения плотных контактов [87].

Язвенный колит, болезнь Крона, СРК, различные инфекции, аутоиммунные и аллергические заболевания, прием некоторых лекарственных препаратов могут привести к развитию воспаления кишечной стенки. Структурные дефекты или повышенная проницаемость слизистого барьера, в свою очередь, поддерживают воспаление в ответ на прохождение огромного количества люминальных бактерий и других антигенов через нарушенный кишечный барьер. Активированные нейтрофилы инфильтрируют слизистую оболочку, а обнаружение в кале продуктов их метаболизма используется для оценки выраженности воспалительной реакции. Были изучены многочисленные белки нейтрофильного происхождения, присутствующие в кале, включая кальпротектин, лактоферрин и эластазу. Наиболее перспективным маркером

является кальпротектин, поскольку он обладает высокой устойчивостью к протеолитической деградации и стабильностью в образцах кала. Кальпротектин высвобождается при активации клеток или их гибели и обладает антипролиферативной, антимикробной и иммуномодулирующей функциями [88, 89]. Фекальный кальпротектин показал диагностическую точность для дифференциального диагноза ВЗК и СРК и был предложен для контроля эффективности терапии [90-92]. Предполагается, что кальпротектин может быть использован в качестве диагностического маркера нарушения проницаемости, однако необходимы дальнейшие исследования для подтверждения данной гипотезы. На сегодня кальпротектин рассматривается в первую очередь в качестве маркера воспаления кишечной стенки, а не ее повышенной проницаемости.

Помимо кальпротектина в качестве маркеров кишечной проницаемости были предложены секреторный IgA и дефензины. Выявлено повышение секреторного IgA у пациентов с целиакией, изменение уровня дефензинов — в основном у пациентов с ВЗК [93, 94].

Важным регулятором проницаемости является зонулин, пептид с молекулярной массой 47 кДа. Открытие токсина zonula occludens (Zot) — энтеротоксина, экспрессируемого Vibrio cholerae, обратимо открывающего плотные контакты, расширило понимание механизмов, регулирующих проницаемость кишечника. Действие токсина опосредовано через каскад внутриклеточных реакций, приводящих к полимеризации актиновых филаментов и последующей «разборке» плотных контактов [95]. Комбинация очищенных antiZot-антител позволила идентифицировать гомолог Zot кишечника человека, который обозначается как зонулин [95, 96]. Введение рекомбинантного зонулина приводило к повышению проницаемости слизистой оболочки двенадцатиперстной и тонкой кишки при тестировании ex vivo [97]. Физиологическая роль системы зонулина окончательно не установлена, однако известно, что он задействован в регуляции плотных контактов, и чрезмерная активация продукции зонулина как по длительности, так и по выраженности может приводить к избыточному и нерегулируемому повышению проницаемости эпителиального барьера. Имеющиеся на сегодня данные о роли зонулина в регуляции плотных контактов позволили использовать его определение в сыворотке крови или кале для оценки состояния кишечной проницаемости [98, 99].

Имеются данные, что уровень сывороточного зонулина статистически значимо отличается у пациентов с целиакией, ВЗК и СРК по сравнению с группой контроля [95, 100–103]. Кроме того, уровень не только сывороточного, но и фекального зонулина у пациентов с ВЗК был статистически выше по сравнению с группой контроля [104]. Некоторые исследователи отводят возможную

Обзоры / Reviews www.gastro-j.ru

роль зонулину в патогенезе и таких заболеваний, как сахарный диабет 1-го типа, рассеянный склероз, бронхиальная астма [95, 105, 106]. Однако, по результатам исследования М. Ajamian et al. (2019), было выявлено, что ни один из методов определения зонулина не является достоверным, и следует быть осторожными при использовании его в качестве маркера нарушенной кишечной проницаемости [107].

Трефойловые факторы представляют собой пептиды, содержащие структурный домен в виде листа клевера. Они синтезируются во многих органах, но в наибольшем количестве обнаруживаются в слизистой оболочке ЖКТ: TFF-1 — в желудке, TFF-2 — в желудке и двенадцатиперстной кишке, TFF-3 — в кишечнике, где синтезируются бокаловидными клетками [108, 109]. Трефойловые факторы принимают участие в клеточной адгезии, восстановлении обратимо поврежденного эпителия, регуляции экспрессии провоспалительных и защитных факторов (в том числе оксида азота, цитокинов, дефензинов) [110-112]. Экспрессия трефойловых факторов при ВЗК меняется: уровень TFF-1 повышается, а TFF-3 снижается [113, 114]. Помимо ВЗК, изменение экспрессии этих факторов наблюдается при эрозивных гастродуоденитах, язвенной болезни, раке желудка, колоректальном раке и раке молочной железы [115-119].

## 5. Морфологические методы

Изменение плотного соединения может привести к нарушению проницаемости эпителия. Изменения в белках плотного соединения могут быть

#### Литература / References

- Salvo R.E., Alonso C.C., Pardo C.C., Casado B.M., Vicario M. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. Rev Esp Enferm Dig. 2015;107(11):686–96. DOI: 10.17235/reed.2015.3846/2015
- 2. Nalle S.C., Turner J.R. Intestinal barrier loss as a critical pathogenic link between inflammatory bowel disease and graft-versus-host disease. Mucosal Immunol. 2015;8(4):720–30. DOI: 10.1038/mi.2015.40
- 3. Cui Y., Wang Q., Chang R., Zhou X., Xu C. Intestinal Barrier Function-Non-alcoholic Fatty Liver Disease Interactions and Possible Role of Gut Microbiota. J Agric Food Chem. 2019;67(10):2754–62. DOI: 10.1021/acs. jafc.9b00080
- Camilleri M., Madsen K., Spiller R., Van Meerveld B. G., Verne G.N. Intestinal barrier function in health and gastrointestinal disease. Neurogastroenterol Motil. 2012;24(6):503–12. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01921.x
- Vancamelbeke M., Vermeire S. The intestinal barrier: a fundamental role in health and disease. Expert Rev Gastroenterol Hepatol. 2017;11(9):821–34. DOI: 10.1080/17474124.2017.1343143
- Боровик Т.Э., Макарова С.Г., Яцык Г.В., Степанова Т.Н., Грибакин С.Г. Роль нарушений барьерной функции кишечника в развитии пищевой аллергии у детей. Вопросы современной педиатрии. 2013;12(2):12—9. [Borovik T.E., Makarova S.G., Yatsyk G.V., Stepanova T.N., Gribakin S.G. The role of intestinal barrier function disorders in the development of food allergy in children. Questions of Modern Pediatrics. 2013;12(2):12—9 (In Russ.)].
- of Modern Pediatrics. 2013;12(2):12–9 (In Russ.)].
  7. Chang J., Leong R.W., Wasinger V., Ip M., Yang M., Phan T.G. Impaired intestinal permeability contributes to ongoing bowel symptoms in patients with inflamma-

количественно оценены иммуногистохимически в образцах тканей путем конфокального анализа однородных Z-срезов, перпендикулярных клеточной поверхности эпителия. Иммуногистохимическое исследование позволяет изучать локализацию белков плотных контактов, таких как клаудины и окклюдин, и их распределение в ткани. Так, например, у пациентов с СРК было показано снижение экспрессии клаудина-3 и клаудина-5 в биоптатах различных отделов тонкой и толстой кишки по сравнению с группой контроля [120]. Данный метод имеет высокое диагностическое значение, однако процесс забора, подготовки и оценки препарата достаточно трудоемок и в основном используется в лабораторных условиях. Имеются данные, что гистологически оценить кишечную проницаемость можно также при помощи оценки плотности бокаловидных клеток [18].

# Заключение

Несмотря на то что имеется большое разнообразие методов оценки кишечной проницаемости, не все они применимы в клинической практике ввиду отсутствия стандартизации большинства методов, длительности, сложности процедуры исследования и порой недостаточно высокой достоверности результатов. Необходимо дальнейшее изучение и усовершенствование имеющихся методов, их стандартизация и внедрение как в исследовательскую, так и в клиническую практику.

- tory bowel disease and mucosal healing. Gastroenterology. 2017;153:723—31.
- Antoni L., Nuding S., Wehkamp J., Stange E.F. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol. 2014;20(5):1165-79.
- Schoultz I., Keita Å.V. Cellular and Molecular Therapeutic Targets in Inflammatory Bowel Disease-Focusing on Intestinal Barrier Function. Cells. 2019;8(2):193. DOI: 10.3390/cells8020193
- Sikora M., Chrabąszcz M., Maciejewski C., Zaremba M., Waśkiel A., Olszewska M. Intestinalbarrier integrity in patients with plaque psoriasis. Dermatol. 2018;45(12):1468–70. DOI: 10.1111/1346-8138.14647
- 11. Кунст М.А, Якупова С.П., Зинкевич О.Д., Абдракипов Р.З., Афанасьева М.А., Сухорукова Е.В. Роль микробной инфекции и проницаемости кишечника в патогенезе ревматоидного артрита. Практическая медицина. 2014;4(80):25–56. [Kunst M.A., Yakupova S.P., Zinkevich O.D., Abdrakipov R.Z., Afanas'eva M.A., Suhorukova E.V. The role of microbial infection and intestinal permeability in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. Practical medicine. 2014;4(80):25–56 (In Russ )]
- 12. Linda C.Yu., Jin T.W., Shu-Chen W., Yen-Hsuan Ni. Host-microbial interactions and regulation of intestinal epithelial barrier function: From physiology to pathology. World J Gastrointest Pathophysiol. 2012;3(1):27–43. DOI: 10.4291/wigp.v3.i1.27
- DOI: 10.4291/wjgp.v3.i1.27

  13. Zakostelska Z., Kverka M., Klimesova K., Rossmann P., Mrazek J., Kopecny J., et al. Lysate of Probiotic Lactobacillus casei DN-114 001 Ameliorates Colitis by Strengthening the Gut Barrier Function and Changing the Gut Microenvironment. PLoS ONE. 2011; 6(11): e27961. DOI: 10.1371/journal.pone.0027961

- 14. Laval L., Martin R., Natividad J., Chain F., Miquel S., De Maredsous C.D., et al. Lactobacillus rhamnosus CNCM I-3690 and the commensal bacterium Faecalibacterium prausnitzii A2-165 exhibit similar protective effects to induced barrier hyper-permeability in mice. Gut Microbes. 2015;6:1–9. DOI: 10.4161/19490976.2014.990784
- Leffler D.A., Kelly C.P., Green P.H., Fedorak R.N., DiMarino A., Perrow W., et al. Larazotide acetate for persistent symptoms of celiac disease despite a glutenfree diet: a randomized controlled trial. Gastroenterology. 2015;148:1311-6. DOI: 10.1053/j.gastro.2015.02.008
- McCarville J.L., Caminero A., Verdu E.F. Pharmacological approaches in celiac disease. Curr Opin Pharmacol. 2015;25:7–12. DOI: 10.1016/j.coph.2015.09.002
- Galipeau J., Verdu E.F. The complex task of measuring intestinal permeability in basic and clinical science. Neurogastroenterol Motil. 2016;28:957

  –65. DOI: 10.1111/nmo.12871
- 18. Stephan C.B., Giovanni B., Wim B., Theo O., Jörg-Dieter S., Matteo Serino., et al. Intestinal permeability a new target for disease prevention and therapy. BMC Gastroenterol. 2014;14:189. DOI: 10.1186/s12876-014-0189-7
- De Santis S., Cavalcanti E., Mastronardi M., Jirillo E., Chieppa M. Nutritional keys for intestinal barriermodulation. Front Immunol. 2015;6:612.
- 20. Menard S., Cerf-Bensussan N., Heyman M. Multiple facets of intestinal permeability and epithelial handling of dietary antigens. Mucosal Immunol. 2010;3:247–59.
- Luciana R.M., Camille K., Garabet Y. Intestinal antimicrobial peptides during homeostasis, infection, and disease. Front Immunol. 2012;3:310. DOI: 10.3389/fimmu.2012.00310
- 22. Assimakopoulos S.F., Triantos C., Maroulis I., Gogos C. The Role of the Gut Barrier Function in Health and Disease. Gastroenterology Res. 2018;11(4):261–3. DOI: 10.14740/gr1053w
- Turner J.R. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. Nature reviews. Immunology. 2009;9(11):799– 809. DOI: 10.1038/nri2653
- 24. Подопригора Г.И., Кафарская Л.И., Байнов Н.А., Шкопоров А.Н. Бактериальная транслокация из кишечника: микробиологические, иммунологические и патофизиологические аспекты. Вестник РАМН. 2015; 70 (6): 640—50. [Podoprigora G.I., Kafarskaya L.I., Bainov N.A., Shkoporov A.N. Bacterial Translocation from Intestine: Microbiological, Immunological and Pathophysiological Aspects. Vestnik Rossiiskoi Akademii Meditsinskikh Nauk = Annals of the Russian Academy of Medical Sciences. 2015; 70 (6): 640—50. (In Russ.)] DOI: 10.15690/vramn564
- 25. Gassler N. Paneth cells in intestinal physiology and pathophysiology. World J Gastrointest Pathophysiol. 2017;8(4):150–60. DOI: 10.4291/wjgp.v8.i4.150
- 26. Быков В.Л. Клетки Панета: история открытия, структурно-функциональные характеристики и роль в поддержании гомеостаза в тонкой кишке. Морфология. 2014;145(1):67—80. [Bykov V.L. Paneth cells: history of discovery, structural and functional characteristics and the role in the maintenance of homeostasis in the small intestine. Morphology. 2014;145(1):67—80 (In Russ.)].
- McGuckin M.A., Lindén S.K., Sutton P., Florin T.H. Mucin dynamics and enteric pathogens. Nat Rev Microbiol. 2011;9(4):265–78. DOI: 10.1038/nrmicro2538
- Johansson M.E., Sjövall H., Hansson G.C. The gastrointestinal mucus system in health and disease. Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2013;10(6):352–61. DOI: 10.1038/nrgastro.2013.35
- 29. Hansson G.C. Role of mucus layers in gut infection and inflammation. Curr Opin Microbiol. 2012;15(1):57–62. DOI: 10.1016/j.mib.2011.11.002
- 30. Kim Y.S., Ho S.B. Intestinal goblet cells and mucins in health and disease: recent insights and progress. Curr Gastroenterol Rep. 2010;12(5):319–30. DOI: 10.1007/s11894-010-0131-2
- 31. Rindi G., Leiter A.B., Kopin A.S., Bordi C., Solcia E. The "normal" endocrine cell of the gut: changing concepts

- and new evidences. Ann N Y Acad Sci. 2004;1014:1–12. DOI: 10.1196/annals.1294.001
- 32. Spadoni I., Zagato E., Bertocchi A., Paolinelli R., Hot E., Di Sabatino A., et al. A gut-vascular barrier controls the systemic dissemination of bacteria. Science. 2015;350:830–4. DOI: 10.1126/science.aad0135
- 33. *Hartsock A., Nelson W.J.* Adherens and tight junctions: Structure, function and connections to the actin cytoskeleton. Biochim Biophys Acta. 2008;1778:660–9.
- 34. Clarke L.L. A guide to Ussing chamber studies of mouse intestine. Am J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol. 2009;296:1151-66.
- 35. Grootjans J., Thuijls G., Verdam F., Derikx J.P., Lenaerts K., Buurman W.A. Noninvasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. World J Gastrointest Surg. 2010;2:61–9.
- 36. Anderson A.D., Jain P.K., Fleming S., Poon P., Mitchell C.J., MacFie J. Evaluation of a triple sugar test of colonic permeability in humans. Acta Physiol. Scand. 2004;182:171–7.
- 37. Camilleri M., Nadeau A., Lamsam J., Nord S.L., Ryks M., Burton D., et al. Understanding measurements of intestinal permeability in healthy humans with urine lactulose and mannitol excretion. Neurogastroenterol Motil. 2010;22(1):15–26. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2009.01361.x
- 38. Sequeira I.R., Lentle R.G., Kruger M.C., Hurst R.D. The effect of aspirin and smoking on urinary excretion profiles of lactulose and mannitol in young women: toward a dynamic, aspirin augmented, test of gut mucosal permeability. Neurogastroenterol Motil. 2012;24(9):401–11. DOI: 10.1111/j.1365-2982.2012.01969.x
- 39. Quigley E. Leaky gut concept or clinical entity? Curr Opin. Gastroenterol. 2016;32:74—9.
- 40. Sequeira I.R., Lentle R.G., Kruger M.C., Hurst R.D. Differential trafficking of saccharidic probes following aspirin in clinical tests of intestinal permeability in young healthy women. Clin Exp Pharmacol Physiol. 2014;41:107–17.
- 41. Sequeira I.R., Lentle R.G., Kruger M.C., Hurst R.D. Standardising the lactulose mannitol test of gut permeability to minimise error and promote comparability. PLoS One. 2014;5:9(6):99256. DOI: 10.1371/journal.pone.0099256
- 42. Wang L., Llorente C., Hartmann P., Yang A.M., Chen P., Schnabl B. Methods to determine intestinal permeability and bacterial translocation during liver disease. J Immunol Methods. 2015;421:44–53. DOI: 10.1016/j.jim.2014.12.015
- 43. Rietschel E.T., Kirikae T., Schade F.U. The chemical structure of bacterial endotoxin in relation to bioactivity. Immunobiology. 1993;187:169–90. DOI: 10.1016/S0171-2985(11)80338-4
- 44. Marshall J.C. Lipopolysaccharide: an endotoxin or an exogenous hormone? Clin Infect Dis. 2005;41(7):470–80. DOI: 10.1086/432000
- 45. Gragg S.E., Loneragan G.H., Nightingale K.K. Substantial within-animal diversity of Salmonalla isolates fromlymph nodes, feces, and hides of cattle at slaughter. Appl Environ Microbiol. 2013;79(15):4744—50.
- 46. Rossignol D., Lynn M., Wittek A., Rose J. Elevated plasma levels of limulus amoebocyte lysate — reactive material. J Infect Dis. 2006;194:1340.
- 47. Benoit R., Rowe S., Watkins S.C., Boyle P., Garrett M., Alber S., et al. Pure endotoxin does not pass across the intestinalepithelium in vitro. Shock. 1998;10(1):43–8. DOI: 10.1097/00024382-199807000-00008
- 48. Ge Y., Ezzell R.M., Warren H.S. Localization of endotoxin in the rat intestinal epithelium. J. Infect Dis. 2000;182(3):873–981. DOI: 10.1086/315784
- 49. Bates D.W., Parsonnet J., Ketchum P.A., Miller E.B., Novitsky T.J., Sands K., et al. Limulus amebocyte lysate assay for detection of endotoxin in patients with sepsis syndrome. AMCC Sepsis Project Working Group. Clin Infect Dis. 1998;27(3):582–91. DOI: 10.1086/514713

- 50. Bergheim I., Weber S., Vos M., Krämer S., Volynets V., Kaserouni S., et al. Antibiotics protect against fructose-induced hepatic lipid accumulation in mice: role of endotoxin. J Hepatol. 2008;48:983—92. DOI: 10.1016/j.jhep.2008.01.035
- 51. Thuy S., Ladurner R., Volynets V., Wagner S., Strahl S., Königsrainer A., et al. Nonalcoholic fatty liver disease in humans is associated with increased plasma endotoxin and plasminogen activator inhibitor 1 concentrations and with fructose intake. J Nutr. 2008;138:1452–5. DOI: 10.1093/jn/138.8.1452
- 52. Strutz F., Heller G., Krasemann K., Krone B., Müller G.A. Relationship of antibodies to endotoxin core to mortality in medical patients with sepsis syndrome. Intensive Care Med. 1999;25:435–44. DOI: 10.1007/s001340050877
- 53. Munford R.S. Endotoxemia-menace, marker, or mistake? J Leukoc Biol. 2016;100(4):687–98. DOI: 10.1189/jlb.3RU0316-151R
- 54. Kitabatake H., Tanaka N., Fujimori N., Komatsu M., Okubo A., Kakegawa K., et al. Association between endotoxemia and histological features of nonalcoholic fatty liver disease. World journal of gastroenterology. 2017;23(4):712–22. DOI: 10.3748/wjg.v23.i4.712
- 55. Hawkesworth S., Moore S.E., Fulford A.J., Barclay G.R., Darboe A.A., Mark H., et al. Evidence for metabolic endotoxemia in obese and diabetic Gambian women. Nutrition & diabetes. 2013;3(8):83. DOI: 10.1038/nutd.2013.24
- Bennett-Guerrero E., Barclay G.R., Weng P.L., Bodian C.A., Feierman D.E., Vela-Cantos F., et al. Endotoxinneutralizing capacity of serum from cardiac surgical patients. J Cardiothorac Vasc Anesth. 2001;15:451–4. DOI: 10.1053/jcan.2001.24980
- 57. Cai J., Chen H., Weng M., Jiang S., Gao J. Diagnostic and Clinical Significance of Serum Levels of D-Lactate and Diamine Oxidase in Patients with Crohn's Disease Gastroenterol Res Pract. 2019;19:8536952. DOI: 10.1155/2019/8536952
- 58. Grootjans J., Thuijls G., Verdam F., Derikx J.P., Lenaerts K., Buurman W.A. Noninvasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. World J Gastrointest Surg. 2010;2:61–9. DOI: 10.4240/wjgs.v2.i3.61
- 59. Ploger S., Stumpff F., Penner G.B., Schulzke J.D., Gäbel G., Martens H., et al. Microbial butyrate and its role for barrier function in the gastrointestinal tract. Ann N Y Acad Sci. 2012;1258:52–9. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06553.x
- 60. Lewis K., Lutgendorff F., Phan V., Söderholm J.D., Sherman P.M., McKay D.M. Enhanced translocation of bacteria across metabolically stressed epithelia is reduced by butyrate. Inflamm Bowel Dis. 2010;16:1138–48. DOI: 10.1002/ibd.21177
- 61. Wang H.B., Wang P.Y., Wang X., Wan Y.L., Liu Y.C. Butyrate enhances intestinal epithelial barrier function via up-regulation of tight junction protein Claudin-1 transcription. Dig Dis Sci. 2012;57:3126—35. DOI: 10.1007/s10620-012-2259-4
- 62. Johansson M.E., Gustafsson J.K., Holmén-Larsson J., Jabbar K.S., Xia L., Xu H. Bacteria penetrate the normally impenetrable inner colon mucus layer in both murine colitis models and patients with ulcerative colitis. Gut. 2014;63(2):281–91. DOI: 10.1136/gutjnl-2012-303207
- 63. Fukunishi S., Sujishi T., Takeshita A. Lipopolysaccharides accelerate hepatic steatosis in the development of nonalcoholic fatty liver disease in Zucker rats. J Clin Biochem Nutr. 2014;54(1):39–44. DOI: 10.3164/jcbn.13-49
- 64. Barzal J.A., Szczylik C., Rzepecki P., Jaworska M., Anuszewska E. Plasma citrulline level as a biomarker for cancer therapyinduced small bowel mucosal damage. Acta Biochim. 2014;61:615–31.
- 65. Crenn P., Coudray-Lucas C., Thuillier F., Cynober L., Messing B. Postabsorptive plasma citrulline concentration is a marker of absorptive enterocyte mass and intestinal failure in humans. Gastroenterology. 2000;119:1496–505. DOI: 10.1053/gast.2000.20227

- 66. Blijlevens N.M., Lutgens L.C., Schattenberg A.V., Donnelly J.P. Citrulline: a potentially simple quantitative marker of intestinal epithelial damage following myeloablative therapy. Bone Marrow Transplant. 2004;34:193–6. DOI: 10.1038/sj.bmt.1704563
- 67. Derikx J.P., Blijlevens N.M., Donnelly J.P., Fujii H., Kanda T., van Bijnen A.A. Loss of enterocyte mass is accompanied by diminished turnover of enterocytes after myeloablative therapy in haematopoietic stem-cell transplant recipients. Ann Oncol. 2009;20:337–42. DOI: 10.1093/annonc/mdn579
- 68. Lutgens L.C., Deutz N., Granzier-Peeters M., Beets-Tan R., DeRuysscher D., Gueulette J. Plasma citrulline concentration: a surrogate end point for radiation-induced mucosal atrophy of the small bowel. A feasibility study in 23 patients. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2004;60:275— 85. DOI: 10.1016/j.ijrobp.2004.02.052
- 69. Lutgens L.C., Blijlevens N.M., Deutz N.E., Donnelly J.P., Lambin P. Monitoring myeloablative therapy-induced small bowel toxicity by serum citrulline concentration: a comparison with sugar permeability tests. Cancer. 2005;103:191–9. DOI: 10.1002/cncr.20733
- Pelsers M.M., Namiot Z., Kisielewski W., Namiot A., Januszkiewicz M., Hermens W.T. Intestinaltype and liver-type fatty acid-binding protein in the intestine. Tissue distribution and clinical utility. Clin Biochem. 2003;36:529–35. DOI: 10.1016/s0009-9120(03)00096-1
- 71. Funaoka H., Kanda T., Fujii H. Intestinal fatty acid-binding protein (I-FABP) as a new biomarker for intestinal diseases. Rinsho Byori. 2010;58(2):162–8.
- 72. Reisinger K.W., Derikx J.P., Thuijls G., van der Zee D.C., Brouwers H.A., van Bijnen A.A. Noninvasive measurement of intestinal epithelial damage at time of refeeding can predict clinical outcome after necrotizing enterocolitis. Pediatr Res. 2013;73:209–13. DOI: 10.1038/pr.2012.160
- 73. Monbaliu D., de Vries B., Crabbé T., van Heurn E., Verwaest C., Roskams T., Fevery J. Liver fatty acid-binding protein: an earlyand sensitive plasma marker of hepatocellular damage and a reliable predictor of graft viability after liver transplantation from non-heartbeating donors. Transplant Proc. 2005;37:413—6. DOI: 10.1016/j. transproceed.2004.12.103
- 74. Vreugdenhil A.C., Wolters V.M., Adriaanse M.P., Van den Neucker A.M., van Bijnen A.A., et al. Additional value of serum I-FABP levels for evaluating celiac disease activity in children. Scand J Gastroenterol. 2011;46:1435—41. DOI: 10.3109/00365521.2011.627447
- 75. Adriaanse M.P., Tack G.J., Passos V.L., Damoiseaux J.G., Schreurs M.W., van Wijck K. Serum I-FABP as marker for enterocyte damage in coeliac disease and its relation to villous atrophy and circulating autoantibodies. Aliment Pharmacol. Ther. 2013;37:482–90. DOI: 10.1111/apt.12194
- 76. Delaney C.P., O'Neill S., Manning F., Fitzpatrick J.M., Gorey T.F. Plasma concentrations of glutathione S-transferase isoenzyme are raised in patients with intestinal ischaemia. Br J Surg. 1999;86:1349–53. DOI: 10.1046/j.1365-2168.1999.01245.x
- 77. Gearhart S.L., Delaney C.P., Senagore A.J., Banbury M.K., Remzi F.H., Kiran R.P. Prospective assessment of the predictive value of alphaglutathione S-transferase for intestinal ischemia. Am Surg. 2003;69:324–9.
- Markov A.G., Veshnyakova A., Fromm M., Amasheh M., Amasheh S. Segmental expression of claudin proteins correlates with tight junction barrier properties in rat intestine. J Comp Physiol B. 2010;180(4):591–8. DOI: 10.1007/s00360-009-0440-7
- Günzel D., Yu A.S. Claudins and the modulation of tight junction permeability. Physiol Rev. 2013;93(2):525–69.
   DOI: 10.1152/physrev.00019.2012
- 80. Furuse M., Fujita K., Hiiragi T., Fujimoto K., Tsukita S. Claudin-1 and -2: novel integral membrane proteins localizing at tight junctions with no sequence similarity to occludin. J Cell Biol. 1998;141(7):1539—50. DOI: 10.1083/jcb.141.7.1539

81. Furuse M., Hata M., Furuse K. Claudin-based tight junctions are crucial for the mammalian epidermal barrier: a lesson from claudin-1-deficient mice. J Cell Biol. 2002;156(6):1099–111. DOI: 10.1083/jcb.200110122

82. Ivanov A.I., Nusrat A., Parkos C.A. The epithelium in inflammatory bowel disease: potential role of endocytosis of junctional proteins in barrier disruption. Novartis Found

Symp. 2004;263:115–218.

83. Kucharzik T., Walsh S.V., Chen J., Parkos C.A., Nusrat A. Neutrophil transmigration in inflammatory bowel disease is associated with differential expression of epithelial intercellular junction proteins. Am J Pathol. 2001;159(6):2001—9. DOI: 10.1016/S0002-9440(10)63051-9

- 84. Bertiaux-Vandaële N., Youmba S.B., Belmonte L., Lecleire S., Antonietti M., Gourcerol G. 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(12):2165-73. DOI: 10.1038/aig 2011 257
- 85. Prasad S., Mingrino R., Kaukinen K. Inflammatory processes have differential effects on claudins 2, 3 and 4 in colonic epithelial cells. Lab Invest. 2005;85(9):1139–62. DOI: 10.1038/labinvest.3700316
- 86. Zeissig S., Bürgel N., Günzel 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;56(1):61–72. DOI: 10.1136/gut.2006.094375
- 87. Amasheh S., Dullat S., Fromm M., Schulzke J.D., Buhr H.J., Kroesen A.J. Inflamed pouch mucosa possesses altered tight junctions indicating recurrence of inflammatory bowel disease. Int J Colorectal Dis. 2009;24(10):1149—56. DOI: 10.1007/s00384-009-0737-8
- 88. Thuijls G., Derikx J.P., de Haan J.J. Urine-based detection of intestinal tight junction loss. J Clin Gastroenterol. 2010;44(1):14–9. DOI: 10.1097/MCG.0b013e31819f5652
- 89. Fagerhol M.K. Calprotectin, a faecal marker of organic gastrointestinal abnormality. Lancet. 2000;356:1783—4. DOI: 10.1016/S0140-6736(00)03224-4
- 90. Lundberg J.O., Hellström P.M., Fagerhol M.K., Weitzberg E., Roseth A.G. Technology insight: calprotectin, lactoferrin and nitric oxide as novel markers of inflammatory bowel disease. Nat Clin Pract. Gastroenterol. Hepatol. 2005;2:96–102. DOI: 10.1038/ncpgasthep0094
- 91. Damms A., Bischoff S.C. Validation and clinical significance of a new calprotectin rapid test for the diagnosis of gastrointestinal diseases. Int J Colorectal Dis. 2008;23:985–92. DOI: 10.1007/s00384-008-0506-0
- 92. Лазебник Л.Б., Гусейн-заде М.Г., Ефремов Л.И., Сагынбаева В.Э., Киязев О.В. Фекальный кальпротектин как биомаркер эффективности различных медицинских вмешательств у больных воспалительными заболеваниями кишечника. ЭиКГ. 2013;8:11—7. [Lazebnik L.B., Gusejn-zade M.G., Efremov L.I., Sagynbaeva V.E., Knyazev O.V. Fecal calprotectin as a biomarker of the effectiveness of various medical interventions in patients with inflammatory bowel diseases. EiKG. 2013;8:11—7 (In Russ.)].
- 93. Lebreton C., Ménard S., Abed J., Moura I.C., Coppo R., Dugave C. Interactions among secretory immunoglobulin A, CD71, and transglutaminase-2 affect permeability of intestinal epithelial cells to gliadin peptides. Gastroenterology. 2012;143:698–707. DOI: 10.1053/j.gastro.2012.05.051
- 94. Wehkamp J., Koslowski M., Wang G., Stange E.F. Barrier dysfunction due to distinct defensin deficiencies in small intestinal and colonic Crohn's disease. Mucosal Immunol. 2008;1:67–74. DOI: 10.1038/mi.2008.48
- 95. Tripathi A., Lammers K.M, Goldblum S. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. Proc Natl Acad Sci USA. 2009;106:16799–804. DOI: 10.1073/pnas.0906773106
- 96. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmun-

- ity, and cancer. Physiol Rev. 2011;91(1):151–75. DOI: 10.1152/physrev.00003.2008
- 97. Lammers K.M., Lu R., Brownley J. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3. Gastroenterology. 2008;135:194–204. DOI: 10.1053/j.gastro.2008.03.023
- 98. Aasbrenn M., Lydersen S., Farup P.G. Changes in serum zonulin in individuals with morbid obesity after weightloss interventions: a prospective cohort study. BMC Endocr Disord. 2020;:20(1):108. DOI: 10.1186/s12902-020-00594-5
- 99. Martinez E.E., Zurakowski D., Pereira L., Freire R., Emans J.B., Nurko S., et al. Interleukin-10 and Zonulin Are Associated With Postoperative Delayed Gastric Emptying in Critically Ill Surgical Pediatric Patients: A Prospective Pilot Study. JPEN J Parenter Enteral Nutr. 2020;44(8):1407–16. DOI: 10.1002/jpen.1874
- 100. Edelblum K.L., Turner J.R. The tight junction in inflammatory disease: Communication breakdown. Curr Opin Pharmacol. 2009;9:715–20. DOI: 10.1016/j.coph.2009.06.022
- 101. Fasano A., Shea-Donohue T. Mechanisms of disease: the role of intestinal barrier function in the pathogenesis of gastrointestinal autoimmune diseases. Nat Clin Pract. Gastroenterol Hepatol. 2005;2:416–22. DOI: 10.1038/ncpgasthep0259
- 102. Barbaro M.R., Cremon C., Caio G., Bellacosa L., De Giorgio R., Volta U., et al. The role of zonulin in nonceliac gluten sensitivity and irritable bowel syndrome. United Euro Gastroenterol J. 2015;3:A87
- 103. Arrieta M.C., Madsen K., Doyle J., Meddings J. Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse. Gut. 2009;58(1):41–8. DOI: 10.1136/gut.2008.150888
- 104. Malíčková K., Francová I., Lukáš M., Kolář M., Králíková E., Bortlík M., et al. Fecal zonulin is elevated in Crohn's disease and in cigarette smokers. Pract Lab Med. 2017:23;39–44. DOI: 10.1016/j.plabm.2017.09.001 bm.2017.09.001
- Singh P., Silvester J., Chen X. Serum zonulin is elevated in IBS and correlates with stool frequency in IBS-D. United European Gastroenterol J. 2019;7(5):709-15.
   DOI: 10.1177/2050640619826419
- 106. Sapone A., de Magistris L., Pietzak M., Clemente M.G., Tripathi A., Cucca F., et al. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. Diabetes. 2006;55:1443–1449. DOI: 10.2337/db05-1593
- 107. Watts T., Berti I., Sapone A., Gerarduzzi T., Not T., Zielke R., et al. Role of the intestinal tight junction modulator zonulin in the pathogenesis of type I diabetes in BB diabetic-prone rats. Proc Natl Acad Sci. 2005;102:2916—21. DOI: 10.1073/pnas.0500178102
- 108. Ajamian M., Steer D., Rosella G., Gibson P.R. Serum zonulin as a marker of intestinal mucosal barrier function: May not be what it seems. PLoS One. 2019;14(1):0210728. DOI: 10.1371/journal.pone.0210728
- 109. Ortiz-Masiá Ď., Hernández C., Quintana E., Velázquez M., Cebrián S., Riaño A., et al. iNOS-derived nitric oxide mediates the increase in TFF2 expression associated with gastric damage: role of HIF-1. FASEB J. 2010;24(1):136–45. DOI: 10.1096/fj.09-137489
- 110. Xue L., Aihara E., Wang T.C., Montrose M.H. Trefoil factor 2 requires Na/H exchanger 2 activity to enhance mouse gastric epithelial repair. J Biol Chem. 2011;286(44):38375–82. DOI: 10.1074/jbc.M111.268219
  111. Fitzgerald A.J., Pu M., Marchbank T., Westley B.R.,
- 111. Fitzgerald A.J., Pu M., Marchbank T., Westley B.R., May F.E., Boyle J., et al. Synergistic effects of systemic trefoil factor family 1 (TFF1) peptide and epidermal growth factor in a rat model of colitis. Peptides. 2004;25:793–801. DOI: 10.1016/j.peptides.2003.12.022
- 112. Emami S., Le Floch M., Bruyneel E., Thim L., May F., Westley B., et al. Induction of scattering and cellular invasion by trefoil peptides in src- and RhoA-transformed

kidney and colonic epithelial. FASEB J. 2001;15:351-61. DOI: 10.1096/fj.00-0355com

113. Rodrigues S., Nguyen Q.D., Faivre S., Bruyneel E., Thim L., Westley B., et al. Activation of cellular invasion by trefoil peptides and src is mediated by cyclooxygenase- and thromboxane A2 receptor-dependent signaling pathways. FASEB J. 2001;15:1517–28.

114. Hensel K.O., Boland V., Postberg J., Zilbauer M., Heuschkel R., Vogel S., et al. Differential expression of mucosal trefoil factors and mucins in pediatric inflammatory bowel diseases. Sci Rep. 2014;4:7343. DOI: 10.1038/

srep07343

115. Srivastava S., Kedia S., Kumar S., Pratap Mouli V., Dhingra R., Sachdev V., et al. Serum trefoil factor 3 is a biomarker for mucosal healing in ulcerative colitis patients with minimal disease activity. J Crohns Colitis. 2015;9(7): 575–9. DOI: 10.1093/ecco-jcc/jjv075

116. Шестопалов А.В., Трофименко О.В., Шестопалова М.А. Уровень трефоиловых пептидов (TFF-1 и TFF-2) у детей с хроническими гастродуоденитами. Фундаментальные исследования. 2012;10(2):363-6.

## Сведения об авторах

\*Якупова Алина Айратовна — врач-ординатор кафедры фундаментальных основ клинической медицины ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». Контактная информация: alinayakupova96@yandex.ru; 420012, Казань, ул. Карла Маркса, д. 76. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3347-5283

Абдулхаков Сайяр Рустамович — кандидат медицинских наук, заведующий кафедрой фундаментальных основ клинической медицины ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», доцент кафедры поликлинической терапии и общей врачебной практики ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Контактная информация: sayarabdul@yandex.ru; 420012, Казань, ул. Карла Маркса, д. 76. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9542-3580

Залялов Рамиль Камилевич — врач-эндоскопист ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». Контактная информация: romazzol@mail.ru; 420043, Казань, ул. Чехова, д. 1а.

ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2062-0058

Сафин Айрат Габбасович — врач-эндоскопист, заведующий эндоскопическим отделением ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет». Контактная информация: tabibrkb2@gmail.com; 420043, Казань, Чехова, д. 1а. ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4689-7058

Абдулхаков Рустам Аббасович — доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры госпитальной терапии ФГБОУ ВО «Казанский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Контактная информация: rustemabdul@mail.ru; 420012, Казань, ул. Бутлерова, д. 49.

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1509-6776

[Shestopalov A.V., Trofimenko O.V., Shestopalova M.A. The level of trefoil peptides (TFF-1 and TFF-2) in children with chronic gastroduodenitis. Fundamental'nye issledovaniya. 2012;10(2):363-6 (In Russ.)].

117. Aihara E., Engevik K.A., Montrose M.H. Trefoil factor peptides and gastrointestinal function. Ann Rev 2017;79:357–80. DOI: 10.1146/annurev-physi-

ol-021115-105447

118. Busch M., Dünker N. Trefoil factor family peptides friends or foes? Biomol. Concepts. 2015;6(5):343-59. DOI: 10.1515/bmc-2015-0020

119. Feng G., Zhang Y., Yuan H., Bai R., Zheng J., Zhang J., et al. DNA methylation of tretoil factor 1 (TFF1) is associated with the tumorogenesis of gastric carcinoma. Mol Med Rep. 2014;9(1):109-17. DOI: 10.3892/ mmr.2013.1772

120. Kurbatova A., Poluektova E., Demura T., Kuchumova S., Konkov M., Gorev M., Sheptulin A., Kogan E., Shifrin O. Ivashkin V. Cytokines and tight junction proteins expression changes in patients with irritable bowel syndrome. Gastroenterology. 2012;142(5):807.

#### Information about the authors

\*Alina A. Iakupova — Resident Physician, Chair of Fundamentals of Clinical Medicine, Kazan Federal University. Contact information: alinayakupova96@yandex.ru; 420012, Kazan, Karla Marksa str., 76. ORCID: https://orcid.org/0000-0003-3347-5283

Savar R. Abdulkhakov — Cand. Sci. (Med.), Head of the Chair of Fundamentals of Clinical Medicine, Kazan Federal University, associate professor, Department (Chair) of Outpatient Therapy and General Medical Practice, Kazan State Medical University.

Contact information: sayarabdul@yandex.ru; 420012, Kazan, Karla Marksa str., 76. ORCID: https://orcid.org/0000-0001-9542-3580

Ramil K. Zalvalov – Physician (endoscopy), Kazan Federal University.

Contact information: romazzol@mail.ru; 420043, Kazan, Chekhova str., 1A.

ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2062-0058

Ayrat G. Safin – Physician (endoscopy), Head of the Department of Endoscopy, Kazan Federal University. Contact information: tabibrkb2@gmail.com; 420043, Kazan, Chekhova str., 1A.

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-4689-7058

**Rustam A. Abdulkhakov** – Dr. Sci. (Med.), Prof., Chair of Hospital Therapy, Kazan State Medical University.

Contact information: rustemabdul@mail.ru;

420012, Kazan, Butlerova str., 49.

ORCID: https://orcid.org/0000-0002-1509-6776

Поступила: 22.11.2020 Принята: 17.01.2021 Опубликована: 28.02.2021 Submitted: 22.11.2020 Accepted: 17.01.2021 Published: 28.02.2021

<sup>\*</sup> Автор, ответственный за переписку / Corresponding author