

¹ Московский
клинический
научно-практический
центр
им. А.С. Логинова

² Научно-
исследовательский
институт
организации
здравоохранения
и медицинского
менеджмента
Департамента
здравоохранения
г. Москвы

Роль неинвазивных маркеров повреждения энтероцитов и повышенной проницаемости в патогенезе целиакии

С.В. Быкова, к.м.н.^{1,2}, Е.А. Сабельникова, д.м.н.¹, А.А. Новиков, д.б.н.¹,
А.А. Бабанова¹, Е.В. Бауло¹, А.И. Парфенов, д.м.н., проф.¹

Адрес для переписки: Светлана Владимировна Быкова, s.bykova@mknc.ru

Для цитирования: Быкова С.В., Сабельникова Е.А., Новиков А.А. и др. Роль неинвазивных маркеров повреждения энтероцитов и повышенной проницаемости в патогенезе целиакии // Эффективная фармакотерапия. 2021. Т. 17. № 4. С. 68–75.

DOI 10.33978/2307-3586-2021-17-4-68-75

Целиакия – это иммуноопосредованная энтеропатия, характеризующаяся атрофией/повреждением слизистой оболочки тонкой кишки (СОТК) у генетически предрасположенных лиц в ответ на введение глютена. При целиакии на морфологическом уровне атрофия носит гиперрегенераторный характер, то есть является результатом повышенного апоптоза энтероцитов в связи с аутоиммунным воспалением. Поскольку энтероцит представляет собой анатомическую и функциональную единицу слизистой оболочки тонкой кишки, ответственную за барьерную функцию и поглощение питательных веществ, для понимания патогенеза целиакии изучение процессов восстановления СОТК имеет первостепенное значение. Серологические маркеры, такие как антитела к тканевой трансглутаминазе, антитела к деамидированным пептидам глиадина, антитела к эндомизию, используемые для мониторинга активности заболевания и представляющие собой иммунный ответ организма, только косвенно могут указывать на степень повреждения/восстановления энтероцитов. При гистологическом исследовании СОТК не всегда можно оценить степень повреждения на клеточном уровне, принимая во внимание сложности интерпретации морфологических изменений и мозаичность поражения СОТК. В последние годы большое внимание исследователей уделяется новым маркерам проницаемости СОТК, к которым можно отнести I-FABP (Fatty-Acid-Binding Protein – белок, связывающий жирные кислоты) – маркер, отражающий повреждение энтероцитов; цитруллин – маркер функциональной массы энтероцитов; зонулин – маркер повышенной проницаемости СОТК и альфа-1-антитрипсин – маркер, отражающий несостоятельность барьерной функции тонкой кишки и потерю белка. Считается, что применение данных маркеров поможет оптимизировать алгоритм неинвазивной диагностики целиакии, улучшить мониторинг активности заболевания, а также откроет новые возможности для понимания процессов восстановления СОТК.

Ключевые слова: I-FABP, зонулин, цитруллин, альфа-1-антитрипсин, целиакия, неинвазивная диагностика целиакии, проницаемость, восстановление энтероцитов, аглютеновая диета

Целиакия – это иммуноопосредованная энтеропатия, характеризующаяся атрофией/повреждением слизистой оболочки тонкой кишки (СОТК) у генетически предрасположенных лиц в ответ на употребление глютена. При целиакии на морфологическом уровне атрофия носит гиперрегенераторный характер, то есть является результатом повышенного апоптоза энтероцитов в связи с аутоиммунным воспалением. При этом важно учитывать морфологические изменения СОТК не только при постановке диагноза, но и при мониторинге восстановления СОТК у пациентов, соблюдающих аглютеновую диету (АГД).

Представление о сроках восстановления СОТК, о процессах функционирования энтероцитов после начала соблюдения АГД в настоящее время отсутствует. По данным некоторых авторов, восстановление СОТК у взрослых происходит медленнее, чем у детей, кроме того, у части больных не наблюдается полноценного восстановления, несмотря на строгое соблюдение АГД. Этим и можно объяснить длительную персистенцию клинических симптомов, таких как неустойчивый стул, периодическое вздутие и урчание в животе, диспепсические явления у больных целиакией на фоне соблюдения АГД.

Изучение процессов восстановления СOTК имеет первостепенное значение в понимании патогенеза целиакии, поскольку энтероцит представляет собой анатомическую и функциональную единицу СOTК, ответственную за барьерную функцию и усвоение питательных веществ. Ограниченное представление о восстановлении функции энтероцитов при соблюдении АГД связано с отсутствием надежных неинвазивных методов оценки состояния энтероцитов и проницаемости СOTК при целиакии.

Серологические маркеры, такие как антитела к тканевой трансглутаминазе, антитела к деамидированным пептидам глиадина, антитела к эндомизию, которые могут быть использованы для мониторинга активности заболевания, представляя собой оценку иммунного ответа организма и не в полной мере отражают степень повреждения/восстановления энтероцитов [1–5]. Также и морфологическое исследование СOTК, выполняемое после проведения биопсии при эзофагогастродуоденоскопии, не всегда позволяет оценить степень повреждения на клеточном уровне, учитывая сложность интерпретации морфологических изменений СOTК и мозаичность поражения тонкой кишки при целиакии.

Для оптимизации алгоритма неинвазивной диагностики и улучшения мониторинга активности заболевания в настоящее время изучаются различные тесты. По мнению ученых, для оценки степени повреждения энтероцитов и состояния барьерной функции тонкой кишки, в том числе ее проницаемости, могут применяться следующие маркеры:

- 1) I-FABP (Fatty-Acid-Binding Protein) – белок, связывающий жирные кислоты, – маркер, отражающий повреждение энтероцитов;
- 2) цитруллин – маркер, отражающий функциональную массу энтероцитов;
- 3) зонулин – маркер повышенной проницаемости СOTК;

4) альфа-1-антиприпсин – маркер, отражающий несостоятельность барьерной функции тонкой кишки и потерю белка.

Одним из актуальных методов оценки целостности энтероцита является метод обнаружения в плазме эндогенных белков энтероцитов. Представителем таких белков является I-FABP – низкомолекулярный белок, принимающий участие в транспортировке и метаболизме длинноцепочечных жирных кислот. За последнее время изучены следующие тканеспецифичные изоформы:

- кишечная фракция – I-FABP;
- печеночная фракция – L-FABP;
- сердечная фракция – H-FABP;
- мозговая фракция – B-FABP.

Вследствие низкой молекулярной массы (15 кДа), высокой специфичности к ткани, из которой он происходит, хорошей растворимости в цитоплазме и высокой концентрации в клетке белок FABP обладает хорошими диагностическими характеристиками. Это дает возможность использовать определение его уровня в периферической крови в качестве специфического и чувствительного маркера повреждения ткани.

Кишечная изоформа – I-FABP – локализована в энтероцитах на вершинах ворсинок. При деструкции клеток кишечника белок попадает в циркулирующую кровь и при исследовании его концентрации может служить маркером повреждения целостности энтероцита [6–11].

По данным различных исследований, продемонстрирована тесная взаимосвязь между уровнем I-FABP и степенью повреждения СOTК как воспалительного, так и ишемического характера.

Уровень сывороточного I-FABP может служить многообещающим маркером оценки активности заболевания при болезни Крона (БК). Так, при обследовании 74 пациентов с БК (41 в стадии обострения и 33 в стадии ремиссии), а также 37 здоровых добровольцев уровень I-FABP был статистически выше у пациентов с высокой активностью заболевания, чем у больных с БК

в стадии ремиссии и в контрольной группе ($p = 0,012$ и $p = 0,038$ соответственно). Причем не было выявлено статистической разницы между пациентами в ремиссии и в контрольной группе ($p = 0,145$). Корреляционный анализ показал наличие связи между уровнем I-FABP и индексом активности БК ($r = 0,319$; $p = 0,006$). Также позитивная корреляция обнаружена между уровнем С-реактивного белка (СРБ) и I-FABP. Таким образом, авторы считают, что I-FABP может быть полезным маркером активности БК.

Уровень I-FABP имеет высокую диагностическую значимость у хирургических пациентов с ишемией тонкой кишки. Так, по данным M. Voth и соавт., выявлялась корреляция между уровнем I-FABP и сниженной перфузией тканей на фоне снижения циркуляции при геморрагическом шоке. При травме живота средняя концентрация уровня I-FABP составляла 28,637 пг/мл (IQR 6372,4–55,550), коррелируя со степенью повреждения тонкой кишки и достигая уровня 55,550 пг/мл у больного с перфорацией кишки [12].

В исследовании с участием 361 пациента у 52 больных выявлена мезентериальная ишемия, средние значения сывороточного уровня I-FABP составили $40,7 \pm 117,9$ пг/мл, что было статистически выше, чем у пациентов без признаков ишемии тонкой кишки ($5,8 \pm 15,6$ пг/мл) и без заболеваний тонкой кишки ($1,8 \pm 1,7$ пг/мл). Данное исследование указывает на возможность применения сывороточного I-FABP для диагностики мезентериальной ишемии у больных с острым животом.

В другом исследовании уровень I-FABP также коррелировал с уровнем гипоперфузии кишечника во время оперативного вмешательства и достоверно повышался у больных с ишемией тонкой кишки – увеличивался до 140 ± 22 пг/мл по сравнению с 69 ± 14 пг/мл в контрольной группе у больных с энтеропатией, обусловленной сахарным диабетом 2-го типа [13–16].

Интересные данные получены при обследовании 39 детей (основная группа – в возрасте от 5 до 12 месяцев) с аллергической энтеропатией, индуцированной белком коровьего молока. Группу сравнения составили 20 детей, сопоставимых по полу и возрасту, с неотягощенным аллергологическим анамнезом. Содержание в крови I-FABP у детей с энтеропатией составило $120,92 \pm 8,79$ пг/мл и было достоверно выше, чем в контрольной группе ($19,21 \pm 1,94$ пг/мл, $p < 0,05$) [17], что свидетельствует об утрате эпителиальной барьерной функции и неконтролируемом поступлении пищевых антигенов из просвета кишки в *lamina propria* с последующей презентацией их иммунной системе и развитием энтеропатии, диагностируемой на основании клинических, эндоскопических данных у больных с проявлениями аллергии к белку коровьего молока.

Использование уровня I-FABP в качестве неинвазивного маркера у больных целиакией

По данным I. Oldenburger и соавт., при обследовании 95 детей с подозрением на целиакию у 71 диагноз подтвержден результатами биопсии и повышенным уровнем антител к тканевой трансглутаминазе (АТ к тТГ), средний уровень I-FABP в этой группе составил 725 пг/мл, в то время как в контрольной группе из 116 больных данный показатель был достоверно ниже – 263 пг/мл ($p < 0,0001$). На основании полученных результатов авторы сделали вывод, что уровень I-FABP можно использовать для неинвазивной диагностики целиакии в дополнение к основным методам [18]. Схожие данные о повышении уровня I-FABP получены и в исследованиях у взрослых. J.P.M. Derikx и соавт. выявили, что средний уровень I-FABP у пациентов с целиакией составил 785 пг/мл, в то время как в контрольной группе здоровых добровольцев – 173 пг/мл [8]. Аналогичные данные обнаружены в исследова-

нии M.P.M. Adriaanse и соавт. [19], которое подтвердило, что у больных целиакией средний уровень I-FABP выше (691 пг/мл), чем в контрольной группе с нормальным уровнем АТ к тТГ (178 пг/мл). Также авторы отметили, что уровень I-FABP возрастал по мере выраженности атрофии СОТК. Кроме того, в данном исследовании проведен анализ уровня I-FABP во время диетического лечения у 69 пациентов. Через шесть месяцев после исключения глютена из рациона обнаружено снижение уровня I-FABP. Несмотря на постепенное снижение уровня I-FABP у больных, тщательно соблюдающих АГД, его уровень стабилизировался и достиг плато через два года. Интересным фактом при этом является то, что его значения не снизились до нормальных цифр, наблюдаемых в контрольной группе, даже несмотря на улучшение гистологической картины СОТК (Марш 0) и нормализацию уровня АТ к тТГ у 77% пациентов в течение двух лет наблюдения. Таким образом, авторы сделали вывод, что при постановке диагноза повреждение энтероцитов, выявленное путем определения I-FABP в сыворотке крови, коррелирует с тяжестью атрофии при целиакии. Однако при длительном наблюдении за больными целиакией оказалось, что даже на фоне строгого соблюдения АГД у пациентов сохраняется повреждение энтероцитов при нормальной гистологической картине СОТК, о чем свидетельствуют повышенные уровни I-FABP. Повреждение энтероцитов на клеточном уровне может приводить к персистенции клинических симптомов в том числе у пациентов, строго соблюдающих АГД, и требует дальнейшей оценки. Исследование, проведенное в 2018 г. M. Linsalata и соавт., также демонстрирует статистически значимое повышение уровня I-FABP в сыворотке крови у больных целиакией по сравнению с группой больных СРК и с контрольной группой здоровых добровольцев [20].

В исследовании, выполненном в 2019 г. A. Singh и соавт. [21], отмечено, что у больных целиакией ($n = 131$) уровни I-FABP были значительно выше, чем в контрольной группе ($n = 216$): 957,4 (IQR 636,6–1375,4) против 535,3 (IQR 321,9–826,9) пг/мл; $p < 0,001$. Значительное снижение уровня I-FABP наблюдалось у пациентов с целиакией после шести месяцев АГД по сравнению с базовым уровнем: 607,6 (IQR 373,9–780,1) против 957,4 (IQR 636,6–1375,4) пг/мл; $p < 0,001$. В ходе исследования выявлена корреляция между уровнем I-FABP и выраженностью атрофии СОТК – пациенты с более выраженной степенью атрофии (Марш 3В или 3С) имели более высокий уровень I-FABP в плазме ($p < 0,001$).

Таким образом, на основании проанализированной литературы можно сделать вывод, что определение сывороточного уровня I-FABP отражает состояние кишечного эпителия при целиакии, так как его уровень коррелирует со степенью атрофии, уровнем АТ к тТГ и демонстрирует снижение уровня I-FABP на фоне АГД. Однако у некоторых больных, несмотря на долгосрочное соблюдение АГД, может сохраняться повышенный уровень I-FABP, что в повседневной практике позволяет использовать данный маркер как инструмент контроля за состоянием СОТК без необходимости проведения эндоскопического исследования.

Цитруллин – маркер функциональной массы энтероцитов

Другим перспективным маркером функции энтероцита является цитруллин – маркер функциональной массы энтероцитов.

Цитруллин – это небелковая аминокислота, которая синтезируется энтероцитами и относится к классу органических соединений, известных как 1-альфа-аминокислоты. Впервые цитруллин выделен Коге, Охтаке, окончательно цитруллин идентифицировал Вада в 1930 г. [22].

В человеческом организме энтероциты специфически продуцируют цитруллин из глутамина и производных аминокислот через путь глутамата в орнитин, затем он метаболизируется в аргинин почками. Уровень цитруллина измеряется с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ).

Почти исключительно цитруллин присутствует в энтероцитах тонкой кишки. Это позволило предложить его в качестве потенциального маркера функции тонкой кишки. В ходе некоторых исследований показано, что уровень цитруллина является надежным маркером повреждения тонкой кишки при заболеваниях, связанных с атрофией СОТК и нарушением функции энтероцитов. Учеными получены данные, что уровень цитруллина снижен у детей и взрослых с нелеченой целиакией по сравнению со здоровыми добровольцами. А у больных с впервые выявленной целиакией на фоне соблюдения АГД зафиксировано увеличение его уровня до нормальных показателей и даже до уровня здоровых добровольцев после двухлетнего соблюдения АГД.

По данным P. Srenn и соавт. [23], у 42 пациентов с целиакией концентрация цитруллина в плазме была ниже (24 ± 3 мкмоль/л), чем у 51 здорового добровольца (40 ± 10 мкмоль/л) ($p < 0,001$), и коррелировала со степенью атрофии ворсин ($r = 0,81$; $p < 0,001$) и гипоальбуминемией ($r = 0,47$; $p < 0,01$). У шести пациентов при соблюдении АГД в течение одного года концентрация цитруллина в плазме увеличилась в соответствии с гистологическим улучшением, однако у трех больных с рефрактерной целиакией нормализации уровня цитруллина не произошло. Авторы предполагают, что концентрация цитруллина в плазме является наилучшей биологической переменной для прогнозирования атрофии ворсин и служит простым и надежным маркером снижения массы энтероцитов.

Схожие данные получены K.K. Nozwasz и соавт. [24], которые показали, что средний уровень цитруллина выше у пациентов на строгой безглютеновой диете по сравнению с пациентами, которым диагноз был поставлен недавно ($32,2 \pm 8,7$ против $24,9 \pm 5,7$ мкмоль/л; $p = 0,025$).

При изучении уровня цитруллина методом ионообменной хроматографии у здоровых добровольцев (50 человек), пациентов с впервые выявленной нелеченой целиакией (21 больной) и пациентов с рефрактерной целиакией (шесть больных) в исследовании E. Miceli и соавт. [25] установлено, что при сравнении со здоровыми добровольцами концентрация цитруллина в сыворотке значительно ниже у нелеченых больных и больных с рефрактерной целиакией. Уровни сывороточного цитруллина оценивали на момент постановки диагноза и после 24 месяцев безглютеновой диеты. Оказалось, что после АГД среднее значение цитруллина увеличено у всех, кроме одного пациента.

A.J. Blasco и соавт. [26] поставили целью своего исследования соотнести уровни цитруллина в плазме с выраженностью атрофии ворсин у пациентов с целиакией. В исследовании определяли концентрацию аминокислот в плазме (цитруллин, аргинин, глутамин) и оценивали клинические данные и степень атрофии СОТК. Статистически значимое снижение уровня цитруллина, аргинина и глутамина отмечалось у больных целиакией (17,7, 38,7, 479,6 мкмоль/л соответственно) по сравнению с контрольной группой (28,9, 56,2, 563,7 мкмоль/л). Уровни цитруллина были значительно ниже при тяжелых степенях атрофии, чем при легких (13,8 против 19,7 мкмоль/л; $p < 0,05$), чего не происходило с остальными аминокислотами.

Сходные данные получены H.P. Ioannou и соавт. [27] при изучении уровня цитруллина в плазме у детей с целиакией и при мониторинге изменений

этих уровней на фоне АГД. Зафиксировано, что средние уровни цитруллина в плазме были ниже у нелеченых пациентов с целиакией ($24,5 \pm 4,9$ мкмоль/л), чем у пациентов на фоне АГД ($31,2 \pm 6,7$ мкмоль/л; $p < 0,001$), пациентов с желудочно-кишечными симптомами и нормальной слизистой кишечника ($30,3 \pm 4,7$ мкмоль/л; $p < 0,01$) и здоровых людей из группы контроля ($32,4 \pm 7,5$ мкмоль/л; $p < 0,001$). У нелеченых пациентов с глютен-чувствительной целиакией (ГЦ) наблюдалась обратная корреляция между концентрациями цитруллина и тяжестью атрофии ворсинок ($r = -0,67$; $p < 0,01$). После одного месяца АГД у пациентов были значительно более высокие уровни цитруллина, чем до диеты ($p < 0,05$), и после трех месяцев на АГД уровни были аналогичны тем, которые наблюдались в группе контроля (здоровые добровольцы). Таким образом, уровень цитруллина в плазме у больных целиакией ниже, что отражает поражение тонкой кишки при этом заболевании. После короткого периода АГД уровни цитруллина быстро увеличивались, таким образом, цитруллин является чувствительным маркером положительного эффекта АГД на восстановление кишечника.

В 2012 г. M.S. Basso и соавт. [28] проведено проспективное исследование для оценки уровня цитруллина у больных целиакией. В исследовании были включены 48 пациентов с целиакией на АГД и 42 человека контрольной группы. У всех были взяты образцы крови на антитела к тканевой трансглутаминазе класса IgA, антиэндомизиальные антитела, сыворотки цитруллина и креатинина. В качестве контроля в исследование были включены здоровые добровольцы.

Значения цитруллина в контроле были значительно выше, чем у пациентов с атрофией слизистой оболочки, но похожи на те, которые наблюдаются с целиакией на аглютеновой диете. Цитруллин может являться потенциальным маркером атрофии СОТК. Дан-

ное исследование подтверждает, что уровень цитрулина в крови может считаться маркером структурной и функциональной целостности тонкой кишки. Клиническая точность сыворотки цитрулина аналогична АТ к тТГ. Следовательно, уровень цитрулина может иметь такое же прогностическое значение, что и показатель антител к атрофии СОТК.

И наконец, последний обзор 2018 г., опубликованный в UEG Journal, основан на систематическом обзоре и метаанализе статей по изучению цитрулина как маркера функции кишечника в клинической практике. Из рассматриваемых 463 первоначальных исследований в систематический обзор было включено 131, а из них уже 63 статьи включили в метаанализ. Общее количество пациентов составило 4292 (среднее – 68, диапазон – 6–847), средний возраст – 31,6 года, доля мужчин – 50,9% и индекс массы тела – 21,9 кг/м². В 23 исследованиях участвовали дети, в 40 – взрослые, при этом большинство исследований проводилось в Европе (45 исследований). Среднее значение цитрулина во всех исследованиях составляло 23,2 мкмоль/л, а содержание цитрулина измерялось с помощью ВЭЖХ. В исследовании изучали уровень цитрулина, во-первых, у больных целиакией по сравнению с контролем, во-вторых, у тех, кто получал АГД, по сравнению с теми, кто не получал диеты, и, наконец, оценивали связь уровня цитрулина с тяжестью заболевания. Уровень цитрулина у пациентов с целиакией по сравнению с контролем был снижен на 9,7 ммоль/л (95% ДИ -13,8...-5,6) (SMD -0,99; 95% ДИ -1,30...-0,67); гетерогенность (MD: I² 89%; p < 0,001; SMD: I² 78%; p < 0,001). Также уровень цитрулина был снижен на 8,2 ммоль/л (95% ДИ -10,4...-5,9) (SMD -1,08; 95% ДИ -1,42...-0,75) у пациентов, которые не получали АГД, по сравнению с теми, кто получал. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности применения цитрулина как высоко воспроизводимого неин-

вазивного биомаркера, способного предсказать наличие атрофии ворсин при целиакии, что потенциально позволит избежать биопсии СОТК у пациентов с подозрением на целиакию.

Зонулин – перспективный маркер кишечной проницаемости

Межклеточные плотные соединения основательно регулируют парацеллюлярный перенос антигенов. Ранее считалось, что межклеточные контакты разделяют апикальный и базолатеральный комплекс и являются непроницаемыми и статичными, образуя при этом герметичный барьер. Однако эта точка зрения изменилась в 1993 г. после открытия белка zonula occludens 1 (ZO-1) в качестве первого компонента комплекса плотных контактов [29]. Проводимые в дальнейшем исследования показали, что в настоящее время комплекс плотных контактов состоит из более чем 150 белков, имеющих в составе окклюдин, клаудины, молекулы соединительной адгезии (JAM), трицеллюлин и ангулины. Однако, несмотря на подробное изучение межклеточных контактов, до сих пор остаются не полностью понятными механизмы, с помощью которых они регулируются. В настоящее время наиболее изученным модулятором кишечной проницаемости является зонулин [30, 31].

Зонулин состоит из семейства родственных белков гаптоглобина 2 (HP2). Гаптоглобины эволюционировали из комплекс-ассоциированного белка (маннозосвязывающей лектин-ассоциированной сериновой протеазы, или MASP), который утратил свою протеазную функцию из-за мутаций в каталитическом домене, чтобы затем приобрести новые функции, включая способность модулировать межклеточные TJs [32].

Одним из мощных триггеров, способствующих высвобождению зонулина, является белок глютен. Глютен запускает высвобождение зонулина через рецептор CXCR3,

активируемый его взаимодействием с MuD88, с последующим увеличением проницаемости кишечника [33].

В исследовании A. Fasano и соавт. [34] показано, что экспрессия зонулина в тканях кишечника повышается во время острой фазы целиакии, клинического состояния, при котором открываются плотные контакты и повышается проницаемость.

Показано, что глютен может вызывать высвобождение зонулина как у здоровых людей, так и у больных целиакией, однако его количество в последней группе значительно выше, что приводит к значительному увеличению проницаемости кишечника. Эти исследования легли в основу разработки препарата AT1001 (в настоящее время называется ларазотида ацетат) для предотвращения высвобождения зонулина, при этом препарат предотвращает глютен-зависимое воспаление и повреждение кишечника. Ацетат ларазотида протестирован на пациентах с ГЦ, продемонстрировал хорошую безопасность и эффективность в профилактике глютен-зависимого воспаления и в настоящее время находится в III фазе клинических испытаний.

Также в исследовании [35] было показано, что повышенная проницаемость кишечника играет решающую роль в патогенезе воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК). M.C. Arriga и соавт. [36] с использованием модели мышей продемонстрировали повышение проницаемости тонкого кишечника, которое предшествовало возникновению колита. Обнаружено, что уровень сывороточного и фекального зонулина повышен у пациентов с активной стадией БК, но не с язвенным колитом (ЯК). Однако последние исследования утверждают, что концентрация зонулина в сыворотке крови может не только повышаться при обоих заболеваниях, но и коррелировать с продолжительностью заболевания [37].

Повышенная проницаемость кишечника также тесно связана с патогенезом синдрома раздражен-

ного кишечника (СРК). Имеются данные, что у пациентов с СРК с диареей наблюдалось повышение уровня сывороточного зонулина [32].

Гиперчувствительность к глютену (Non-Coeliac Gluten Sensitivity – NCGS) является клинической формой, запускаемой глютеном, как при ГЦ, но без аутоиммунной энтеропатии. Было показано, что пациенты с NCGS могут иметь повышенные уровни сывороточного зонулина и повышенную проницаемость кишечника после воздействия глютена [34].

Зонулин является модулятором как эпителиальных, так и эндотелиальных барьерных функций, и его роль в развитии различных заболеваний остается объектом активных исследований.

Нарушение баланса микробиоты кишечника также может вызвать высвобождение зонулина, что приводит к прохождению содержимого просвета через эпителиальный барьер, вызывая высвобождение провоспалительных цитокинов, которые усиливают повышенную проницаемость, создавая порочный круг, приводящий к массивному притоку пищевых и микробных антигенов, запускающих активацию Т-клеток. В зависимости от генетической предрасположенности хозяина активированные Т-клетки могут оставаться в желудочно-кишечном тракте, вызывая различные заболевания (СРК, ВЗК, ГЦ).

Эффект ингибитора зонулина ларазотида ацетата в уменьшении воспаления как на животных моделях, так и в клинических испытаниях на людях не только подтверждает патогенную роль зонулина, но и открывает возможность воздействия на проницаемость кишечника при различных заболеваниях.

Альфа-1-антитрипсин — перспективный маркер повышенной проницаемости кишечника

Известно, что при некоторых болезнях кишечника, таких как ВЗК (БК, ЯК), инфекционных заболеваниях (вызванных токсинами

Clostridium difficile или *Shigella*), а также целиакии определение альфа-1-антитрипсина (αАТ) может отражать активность воспалительного процесса и повышенную проницаемость слизистой оболочки для белка.

Энтеропатия с потерей белка (ЭПБ) представляет собой серьезную патологию, которую относительно легко диагностировать и количественно оценить с помощью измерений клиренса αАТ. ЭПБ может иметь место при целом ряде заболеваний, в том числе при хронической сердечной недостаточности и циррозе печени. Поэтому определение αАТ имеет важное значение для дифференциального диагноза.

Например, при БК возникают очаги хронического воспаления, приводящие к поверхностным эрозиям и язвам, при которых имеется нарушение кишечного барьера и проницаемости слизистой оболочки, что позволяет интерстициальному белку свободно попадать в просвет кишечника. Поскольку БК поражает как тонкую, так и толстую кишку, проницаемость слизистой оболочки для белка зависит от активности воспаления, площади поражения и местоположения эрозий и язв.

Однако в ряде исследований [38], посвященных БК, отмечено отсутствие корреляции между потерей белка и активностью заболевания, несмотря на значительное повышение αАТ. Этот факт исследователи объяснили наличием ЭПБ и среди больных с неактивной стадией заболевания. Также показано, что уровень αАТ имеет ограниченные возможности в прогнозировании рецидива БК [38]. Таким образом, авторы пришли к заключению, что экскреция αАТ не дает никаких преимуществ по сравнению с гораздо более простыми измерениями активности заболевания, используемыми в настоящее время, такими как СРБ и скорость оседания белка.

При целиакии, болезни Уиппла имеются дефекты плотных контактов, которые позволяют от-

носительно свободно проходить молекулам, соразмерным альбумину. D.R. Clayburgh и соавт. [39] опубликовали доказательства того, что плотные контакты – это динамические структуры, проницаемость которых зависит от бактериальной инфекции или воспалительных иммунных реакций. Незрелые клетки в криптах нормальной слизистой оболочки иногда имеют неорганизованные структуры плотных соединений, которые исчезают по мере созревания клеток. При целиакии вследствие гиперрегенераторной атрофии из-за укороченного срока жизни энтероцита значительно увеличивается время формирования плотных контактов и повышается количество разрывов цепей [40, 41]. Однако эти изменения еще недостаточно изучены и нет прямых доказательств того, что повышенная проницаемость осуществляется посредством нарушенных плотных контактов. Кроме этого, у пациентов с ГЦ, получавших АГД, клиренс αАТ возвращается к норме.

Таким образом, на основании приведенного анализа литературы можно сделать заключение, что глубокое понимание патогенеза заболеваний кишечника, механизмов воспаления и их влияния на кишечный барьер лежит в основе успеха исследований по маркерам проницаемости. Очевидно, что механизмы возникновения целиакии формируются при вовлеченности в процесс патогенеза многих факторов: активации иммунной системы; наличия воспаления; специфического влияния на целостность кишечника и физиологию энтероцитов таких факторов, как воздействие глютена, перенесенных инфекций, нарушение микробиоты, а также стрессовых ситуаций [42]. Поэтому изучение маркеров проницаемости позволит не только проводить дифференциальный диагноз, но и с использованием неинвазивных и недорогих методов диагностики проводить мониторинг лечения целиакии. ●

Литература

1. *Tursi A., Brandimarte G., Giorgetti G.M.* Lack of usefulness of antitransglutaminase antibodies in assessing histologic recovery after gluten-free diet in celiac disease // *J. Clin. Gastroenterol.* 2003. Vol. 37. № 5. P. 387–391.
2. *Vahedi K., Mascart F., Mary J.Y. et al.* Reliability of antitransglutaminase antibodies as predictors of gluten-free diet compliance in adult celiac disease // *Am. J. Gastroenterol.* 2003. Vol. 98. № 5. P. 1079–1087.
3. *Kaukinen K., Sulkanen S., Maki M., Collin P.* IgA-class transglutaminase antibodies in evaluating the efficacy of gluten-free diet in coeliac disease // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2002. Vol. 14. № 3. P. 311–315.
4. *Dickey W., Hughes D.F., McMillan S.A.* Disappearance of endomysial antibodies in treated celiac disease does not indicate histological recovery // *Am. J. Gastroenterol.* 2000. Vol. 95. № 3. P. 712–714.
5. *Leffler D.A., Edwards George J.B., Dennis M. et al.* A prospective comparative study of five measures of gluten-free diet adherence in adults with coeliac disease // *Aliment. Pharmacol. Ther.* 2007. Vol. 26. № 9. P. 1227–1235.
6. *Дроздов В.Н., Лу И.А., Варванина Г.Г., Ткаченко Е.В.* Белок, связывающий жирные кислоты (I-FABP) – новый перспективный показатель повреждения тонкой кишки // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология.* 2011. № 5. С. 35–37.
7. *de Haan J.J., Lubbers T., Derikx J.P.M. et al.* Non-invasive markers of gut wall integrity in health and disease // *World J. Gastroenterol.* 2010. Vol. 16. № 42. P. 5272–5279.
8. *Derikx J.P.M., van Waardenburg D.A., Thuijls G. et al.* New insight in loss of gut barrier during major non-abdominal surgery // *PLoS One.* 2008. Vol. 3. № 12. P. 3954.
9. *Verdam F.J., Greve J.W., Roosta S. et al.* Small intestinal alterations in severely obese hyperglycemic subjects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2011. Vol. 96. № 2. P. 379–383.
10. *Derikx J.P., Vreugdenhil A.C., Van den Neucker A.M. et al.* A pilot study on the noninvasive evaluation of intestinal damage in celiac disease using I-FABP and L-FABP // *J. Clin. Gastroenterol.* 2009. Vol. 43. № 8. P. 727–733.
11. *Vejchapipat P., Theamboonlers A., Chongsrisawat V., Poovorawan Y.* An evidence of intestinal mucosal injury in dengue infection // *Southeast Asian J. Trop. Med. Public. Health.* 2006. Vol. 37. № 1. P. 79–82.
12. *Voth M., Lustenberger T., Relja B., Marzi I.* Is I-FABP not only a marker for the detection abdominal injury but also of hemorrhagic shock in severely injured trauma patients? // *World J. Emerg. Surg.* 2019. Vol. 14. № 49.
13. *Kanda T., Tsukahara A., Ueki K. et al.* Diagnosis of ischemic small bowel disease by measurement of serum intestinal fatty acid-binding protein in patients with acute abdomen: a multicenter, observer blinded validation study // *J. Gastroenterol.* 2011. Vol. 46. № 4. P. 492–500.
14. *Derikx J.P., Schellekens D.H., Acosta S.* Serological markers for human intestinal ischemia: a systematic review // *Best Pract. Res. Clin. Gastroenterol.* 2017. Vol. 31. № 1. P. 6974.
15. *Sun D.L., Cen Y.Y., Li S.M. et al.* Accuracy of the serum intestinal fatty-acid binding protein for diagnosis of acute intestinal ischemia: a meta-analysis // *Sci. Rep.* 2016. Vol. 6. № 1. P. 34371.
16. *Terrin G., Stronati L., Cucchiara S., De Curtis M.* Serum markers of necrotizing enterocolitis: a systematic review // *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 2017. Vol. 65. № 6. P. 120–132.
17. *Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Зернова Е.С. и др.* Клиническая оценка инвазивных и неинвазивных методов при диагностике аллергической энтеропатии у детей // *Современные проблемы науки и образования.* 2016. № 6. С. 86.
18. *Oldenburger I.B., Wolters V.M., Kardol-Hoefnagel T. et al.* Serum intestinal fatty acid-binding protein in the noninvasive diagnosis of celiac disease // *APMIS.* 2018. Vol. 126. № 3. P. 186–190.
19. *Adriaanse M.P.M., Mubarak A., Riedl R.G. et al.* Progress towards non-invasive diagnosis and follow-up of celiac disease in children; a prospective multicentre study to the usefulness of plasma I-FABP // *Sci. Rep.* 2017. Vol. 7. № 1. P. 8671.
20. *Linsalata M., Riezzo G., D'Attoma B.* Noninvasive biomarkers of gut barrier function identify two subtypes of patients suffering from diarrhoea predominant-IBS: a case-control study // *BMC Gastroenterology.* 2018. Vol. 18. № 1. P. 167.
21. *Singh A., Verma A.K., Das P. et al.* Non-immunological biomarkers for assessment of villous abnormalities in patients with celiac disease // *J. Gastroenterol. Hepatol.* 2019. Vol. 35. № 3. P. 438–445.
22. *Wada M.* Uber Citrullin, eine neue Aminosäure im Preßsaft der Wassermelone, *Citrullus vulgaris* schrad // *Biochem. Z.* 1930. Vol. 224. P. 420–429.
23. *Crenn P., Vahedi K., Lavergne-Slove A. et al.* Plasma citrulline: a marker of enterocyte mass in villous atrophy-associated small bowel disease // *Gastroenterology.* 2003. Vol. 124. № 5. P. 1210–1219.
24. *Hozyasz K.K., Szaflarska-Popławska A., Oltarzewski M.* Whole blood citrulline levels in patients with coeliac disease // *Pol. Merkur. Lekarski.* 2006. Vol. 20. № 116. P. 173–175.
25. *Miceli E., Poggi N., Missanelli A. et al.* Is serum citrulline measurement clinically useful in coeliac disease? // *Intern. Emerg. Med.* 2008. Vol. 3. № 3. P. 233–236.
26. *Blasco A.J., Serrano N.J., Navas López V.M. et al.* Plasma citrulline as a marker of loss of enterocytary mass in coeliac disease in childhood // *Nutr. Hosp.* 2011. Vol. 26. № 4. P. 807–813.
27. *Ioannou H.P., Fotoulaki M., Pavlitou A. et al.* Plasma citrulline levels in paediatric patients with celiac disease and the effect of a gluten-free diet // *Eur. J. Gastroenterol. Hepatol.* 2011. Vol. 23. № 3. P. 245–249.

28. Basso M.S., Capriati T., Maria Goffredo B.M. et al. Citrulline as marker of atrophy in celiac disease // Intern. Emerg. Med. 2014. Vol. 9. № 6. P. 705–707.
29. Itoh M., Nagafuchi A., Yonemura S. et al. The 220-kD protein colocalizing with cadherins in non-epithelial cells is identical to ZO-1, a tight junction-associated protein in epithelial cells: cDNA cloning and immunoelectron microscopy // J. Cell. Biol. 1993. Vol. 121. № 3. P. 491–502.
30. Fasano A., Not T., Wang W. et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease // Lancet. 2000. Vol. 355. № 9214. P. 1518–1519.
31. Wang W., Uzzau S., Goldblum S.E., Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions // J. Cell. Sci. 2000. Vol. 113. № 24. P. 4435–4440.
32. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer // Physiol. Rev. 2011. Vol. 91. № 1. P. 151–175.
33. Lammers K.M., Lu R., Brownley J. et al. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3 // Gastroenterology. 2008. Vol. 135. № 1. P. 194–204.
34. Fasano A., Not T., Wang W. et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease // Lancet. 2000. Vol. 355 (9214). P. 1518–1519.
35. Büning C., Geissler N., Prager M. et al. Increased small intestinal permeability in ulcerative colitis: rather genetic than environmental and a risk factor for extensive disease? // Inflamm. Bowel Dis. 2012. Vol. 18. № 10. P. 1932–1939.
36. Arrieta M.C., Madsen K., Doyle J., Meddings J. Reducing small intestinal permeability attenuates colitis in the IL10 gene-deficient mouse // Gut. 2009. Vol. 58. № 1. P. 41–48.
37. Caviglia G.P., Dughera F., Ribaldone D.G. et al. Serum zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study // Minerva Med. 2019. Vol. 110. № 2. P. 95–100.
38. Biancone L., Fantini M., Tosti C. et al. Pallone fecal alpha 1-antitrypsin clearance as a marker of clinical relapse in patients with Crohn's disease of the distal ileum // Eur. J. Gastroenterol. Hepatol. 2003. Vol. 15. № 3. P. 261–266.
39. Clayburgh D.R., Shen L., Turner J.R. A porous defense: the leaky epithelial barrier in intestinal disease // Lab. Invest. 2004. Vol. 84. № 3. P. 282–291.
40. Schulzke J.D., Bentzel C.J., Schulzke I. et al. Epithelial tight junction structure in the jejunum of children with acute and treated celiac sprue // Pediatr. Res. 1998. Vol. 43. № 4. Pt. 1. P. 435–441.
41. Madara J.L., Trier J.S. Structural abnormalities of jejunal epithelial cell membranes in celiac sprue // Lab. Invest. 1980. Vol. 43. № 3. P. 254–261.
42. Goldman-Mellor S., Brydon L., Steptoe A. Psychological distress and circulating inflammatory markers in healthy young adults // Psychol. Med. 2010. Vol. 40. № 12. P. 2079–2087.

The Role of Non-Invasive Markers of Enterocyte Damage and Increased Permeability in the Pathogenesis of Celiac Disease

S.V. Bykova, PhD^{1,2}, E.A. Sabelnikova, PhD¹, A.A. Novikov, PhD¹, A.A. Babanova¹, E.V. Baulo¹, A.I. Parfenov, PhD, Prof.¹

¹ A.S. Loginov Moscow Clinical Scientific Center

² Research Institute of Health Organization and Medical Management

Contact person: Svetlana V. Bykova, s.bykova@mknc.ru

Celiac disease (CD) is an immune-mediated enteropathy characterized by atrophy/damage to the mucous membrane of the small intestine in genetically susceptible individuals in response to gluten administration. In CD morphology, atrophy is the result of increased enterocyte apoptosis due to autoimmune inflammation. Since the enterocyte is an anatomical and functional unit of the mucous membrane of the small intestine, responsible for the barrier function and for the absorption of nutrients, to understand the pathogenesis of CD, the study of the processes of restoration of the mucosa is of paramount importance. Antibodies to tissue transglutaminase, antibodies to deamidated gliadin peptides, antibodies to endomysium, which are used to monitor disease activity and represent the body's immune response, can only indirectly indicate the degree of damage/recovery of enterocytes. During histological examination it is not always possible to assess the degree of damage at the cellular level, taking into account the complexity of the interpretation of morphological changes and patchiness of mucosa damage. In recent years, researchers have paid much attention to new markers of mucosa permeability, which include: I-FABP – a marker reflecting damage to enterocytes, citrulline – a marker of the functional mass of enterocytes, zonulin – a marker of increased mucosa permeability and alpha-1-antitrypsin – a marker reflecting the failure of the barrier function of the small intestine and protein loss. Using of these markers will help optimize the algorithm for non-invasive diagnostics of CD, improve monitoring of disease activity, and will also be useful for understanding the processes of mucosa recovery.

Key words: I-FABP, zonulin, citrulline, alpha-1-antitrypsin, celiac disease, non-invasive diagnosis of celiac disease, permeability, recovery of enterocytes, agluten diet