УДК: 616.348-002.44:616.345.018.73-009.6

СОВРЕМЕННЫЙ ПОДХОД К ДИАГНОСТИКЕ И ПРОФИЛАКТИКЕ РЕЦИДИВОВ ЯЗВЕННОГО КОЛИТА: ЗОНУЛИН КАК ПРОГНОСТИЧЕСКИЙ МАРКЕР КИШЕЧНОЙ ПРОНИЦАЕМОСТИ

Шамсутдинов Мухаммаджон Муродович - соискатель
Отамурадов Фуркат Абдукаримович - к.м.н., доцент
Вахидов Алишер Шавкатович - д.м.н., доцент
Шамсутдинова Максуда Илясовна - д.м.н., профессор
Термезский филиал Ташкентского Государственного медицинского университета (Термез, Узбекистан)

Аннотация. *Целью исследования было определение диагностической роли зонулина в кале больных язвенным колитом. Результаты исследования показали значительно более высокий уровень зонулина в кале больных язвенным колитом в острой стадии (133,2±72,3 нг/мл), чем у больных в стадии ремиссии (92,8±39,6 нг/мл) (P≤0,05). Корреляционный анализ зонулина и фекального кальпротектина показал положительную корреляцию как в острой, так и в стадии ремиссии. Уровни фекального зонулина могут быть использованы для определения кишечной проницаемости и в качестве дополнительного диагностического маркера уровня воспаления в кишечнике больных язвенным колитом.*

Ключевые слова: *зонулин, фекальный кальпротектин, язвенный колит, диагностический маркер*

A MODERN APPROACH TO THE DIAGNOSIS AND PREVENTION OF RECURRENCE OF ULCERATIVE COLITIS: ZONULIN AS A PROGNOSTIC MARKER OF INTESTINAL PERMEABILITY

Shamsutdinov Mukhammadjon Murodovich - Ph.D. student
Otamuradov Furkat Abdukarimovich - D.M.Sc., associate professor
Vahidov Alisher Shavkatovich - D.M.Sc., professor
Shamsutdinova Maksuda Ilyasovna - D.M.Sc., professor
Tashkent State Medical University Termez branch (Termez, Uzbekistan)

Abstract. *The aim of the study was to determine the diagnostic role of zonulin in the feces of ulcerative colitis patients. The results of the study showed a significantly higher level of zonulin in the feces of ulcerative colitis patients in the acute stage (133.2±72.3 ng/ml) than among patients in remission (92.8±39.6 ng/ml) (P≤0.05). Correlation analysis of zonulin and fecal calprotectin showed a positive correlation in both acute and remission stages. Fecal zonulin levels can be used to determine intestinal permeability and as an additional diagnostic marker of the level of inflammation in the intestine of ulcerative colitis patients.*

Key words*: zonulin, fecal calprotectin, ulcerative colitis, diagnostic marker*

YARALI KOLITLARNI ZAMONAVIY DIAGNOSTIKASI VA RECIDIVLAR PROFILAKTIKASI: ICHAK O'TKAZUVCHANLIGINING DIAGNOSTIK BELGISI

Shamsutdinov Muxammadjon Murod o‘g‘li - mustaqil izlanuvchi
Otamuradov Furqat Abdukarimovich - t.f.d., dotsent
Vahidov Alisher Shavkatovich - t.f.d., dotsent
Shamsutdinova Maqsuda Ilyasovna - t.f.d., professor
Tashkent davlat tibbiyot universiteti Termiz filiali (Termiz, O‘zbekiston)

Annotatsiya. *Tadqiqotning maqsadi yarali kolitli bemorlarning najasidagi zonulinning diagnostik axamiyatini aniqlash. Tadqiqot natijalari yarali kolitli bemorlarda remissiya davriga (92,8±39,6 ng/ml) nisbatan kasallikning aktiv bosqichida (133,2±72,3 ng/ml) zonulinning darajasi ishonchli yuqori ekanligi aniqlandi (P≤0,05). Zonulin va fekal kalprotektinning korrelyatsion tahlili o'tkir bosqichda ham, remissiya bosqichida ham ijobiy korrelyatsiya kuzatildi. Najasdagi zonulin darajasi ichak o'tkazuvchanligini aniqlash va yallig'lanish darajasini qo'shimcha diagnostik marker sifatida yarali kolit bilan kasallangan bemorlarda qo'llash mumkin.*

Kalit so‘zlar*: zonulin, fekal kalprotektin, yarali kolit, diagnostik marker*

Актуальность. Язвенный колит (ЯК) относится к иммуно-опосредованным заболеваниям, характеризующимся хроническим воспалением кишечника, которое ассоциируется с повышенной заболеваемостью и смертностью и большими затратами для системы здравоохранения [1]. Патофизиология ЯК до конца не изучена, но генетические, экологические и внутренние факторы, связанные с человеком, страдающим этим заболеванием, способствуют развитию воспаления кишечника. Изменения барьерной функции кишечного эпителия и, как следствие, повышение кишечной проницаемости, были предложены в качестве важных факторов в патогенезе различных аутоиммунных заболеваний, включая ЯК [2, 3].

Кишечный эпителиальный барьер обеспечивает разделение внешней микросреды и более глубоких слоёв слизистой оболочки хозяина. Таким образом, просвет кишечника, расположенный вблизи апикальной части эпителиальных клеток и содержащий разнообразные макромолекулы, бактериальные соединения и антитела, остаётся изолированным от более внутренних тканей организма, таких как пластинчатая оболочка кишечника. Для нормального функционирования необходима целостность эпителиального барьера, которая осебсечивается благодаря клеточной адгезии и функциональный комплекс, состоящий из структур тесных и адгезивных стыков, а также десмосом. Эти белковые структуры обладают динамическими свойствами и влияют на способность кишечного эпителия контролировать прохождение субстратов по парацеллюлярному пути, частично отвечая за кишечную проницаемость [4, 5].

Зонулин (пре-гаптоглобин 2) является белком, который обнаруживается в нерасщепленной форме в сыворотке крови человека [6] и высоко коррелирует с бактериальной ДНКемией [7]. Он является физиологическим медиатором, который обратимо регулирует кишечную проницаемость путём регулирования межклеточных плотных соединений [8] и считается биомаркером нарушения барьерной функции кишечника [6].

Существует несколько пилотных исследований по определению роли зонулина у ограниченного числа больных воспалительными заболеваниями кишечника, результаты которых неоднозначны и требуют дальнейшего изучения [9-11].

Цель исследования - определение диагностической роли зонулина в кале у больных язвенным колитом.

Материалы и методы. Исследование проводилось на базе Республиканской клинической больницы №1 и Ташкентской медицинской академии в период 2021-2022 гг. Были обследованы больные ЯК с стадии обострения (n=20) и ремиссии (n=15). Диагноз ЯК был подтверждён с помощью стандартных клинических, эндоскопических, рентгенографических и патологических критериев в соответствии с Монреальской классификацией степени и тяжести ЯК. Категории ЯК включают проктит, левосторонний колит и обширный или панколит. Активность заболевания измерялась с помощью балльной системы Mayo Clinic, состоящего из 4 пунктов: частота стула, ректальное кровотечение, результаты гибкой ректосигмоидоскопии и функциональная оценка пациента. Продолжительность заболевания измерялась в годах с момента появления первых симптомов.

Концентрацию зонулина (нг/мл) определяли с помощью набора для ИФА, используя Human Zonulin ELISA Kit (Германия) в соответствии с инструкциями производителя. В анализе использовался метод конкурентного связывания. Биотинилированный зонулин добавлялся к образцам, стандартам, положительным и отрицательным контролям в качестве конкурента собственному зонулину образца. Интенсивность окраски была обратно пропорциональна концентрации зонулина в образце. Образцы считывались при 450 нм, и 4-параметрический алгоритм использовался для формирования стандартной кривой и расчета данных. Все анализы проводились в двух экземплярах вслепую в течение суток после отбора проб с использованием одних и тех же номеров партий. Согласно рекомендациям производителя, уровень зонулина в кале 83,15, 83,15-110,0 и выше 110,0 нг/мл считался нормальным, повышенным и очень высоким, соответственно.

Анализ фекального кальпротектина проводился с помощью набора для флуоресцентного иммуноферментного анализа кальпротектина в клинике Гунчамед (Ташкент, Узбекистан). Уровень фекального кальпротектина определялся количественно в мкг/г. Диагностические уровни фекального кальпротектина: 5-50 мкг/г – норма, от 50-100 - слабо положительный, >100 – положительный.

Обработка первичных данных, корреляционный анализ и сравнение средних значений проводились с помощью программы IBM SPSS Statistics 23.

Результаты и обсуждения. Результаты исследования показали достоверно более высокий уровень зонулина в кале больных ЯК в стадии обострения (133,2±72,3 нг/мл), чем среди пациентов в стадии ремиссии (92,8±39,6 нг/мл) (P≤0,05). Такая же тенденция была обнаружена для фекального кальпротектина среди пациентов с ЯК в период обострения (1349,2±592,0 мкг/г) и ремиссии (218,6±108,0 мкг/г) (≤0,001). Корреляционный анализ зонулина и фекального кальпротектина показал положительную корреляцию как в стадии обострения, так и в стадии ремиссии (табл. 1).

Таблица 1.

Уровень зонулина в кале и фекального кальпротектина у больных ЯК

Группы	Уровень зонулина в кале, нг/мл (M±м, макс-мин)	Уровень кальпротектина в кале, мкг/г (M±м, макс-мин)	Корреляция Пирсона (зонулин/ калпротектин)
больные ЯК в ст. обострения (n=20)	133,2±72,3 (55,9-300,0)	1349,2±592,0 (554,1-2019,0)	0,645*
больные ЯК в ст. ремиссии (n=15)	92,8±39,6 (34,7-161,1)	218,6±108,0 (97,5-419,2)	0,519**
Т-тест (P)	≤0,05	≤0,001	-

*корреляция значима на уровне 0.01; **корреляция значима на уровне 0.05

Полученные нами данные указывают на наличие ассоциации между уровнем воспаления и проницаемости кишечника у больных ЯК. Схожие результаты были получены Lacombe и др. (2022) [9], которые определили, что зонулин коррелирует с клиническими и лабораторными параметрами тяжести и активности заболевания среди больных ЯК, но не среди больных Болезнью Крона. При сравнении уровня зонулина среди больных воспалительными заболеваниями кишечника и лицами не имеющих каких-либо жалоб со стороны здоровья авторы не выявили достоверных различий.

Важно подчеркнуть, что оценка кишечной проницаемости может быть проведена с помощью других методов на основе приёма растворителей с различными абсорбирующими свойствами и их последующем измерении в моче. Основным тестом, используемым в клинических исследованиях, является коэффициент экскреции лактулозы/маннитола, который считается неинвазивным тестом, но его трудно выполнять из-за необходимости длительного голодания и периодического сбора мочи [12]. Предыдущее исследование, в котором оценивалось соотношение экскреции лактулозы и маннитола среди пациентов с Болезнью Крона и целиакией, показало, что изменения в барьерной функции, по-видимому, сохраняются даже среди пациентов с Болезнью Крона в стадии клинической ремиссии [13]. Кроме того, в финском исследовании было отмечено, что соотношение лактулозы и маннитола положительно коррелировало с эндоскопической активностью заболевания, но корреляция с клиническим индексом или С-реактивным белком была слабой [14]. Преимущество оценки зонулина заключается не только в том, что она неинвазивна, но и в том, что ее легче проводить.

Заключение. Уровень зонулина в кале может быть использован для определения кишечной проницаемости и как дополнительный диагностический маркер уровня воспаления в кишечнике пациентов с ЯК. Определение зонулина является неинвазивным методом диагностики, который играет важную роль в оценке тяжести воспалительного заболевания кишечника при проведении патогенетической терапии.

ЛИТЕРАТУРА

1. Windsor JW, Kaplan GG. Evolving Epidemiology of IBD. Curr Gastroenterol Rep. 2019 Jul 23; 21 (8):40. doi: 10.1007/s11894-019-0705-6. PMID: 31338613.

2. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. Physiol Rev. 2011 Jan;91(1): 151-75. doi: 10.1152/physrev.00003.2008. PMID: 21248165.

3. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. Tissue Barriers. 2016 Oct 21;4(4): e1251384. doi: 10.1080/21688370.2016.1251384. PMID: 28123927; PMCID: PMC5214347.

4. Farquhar MG, Palade GE. Junctional complexes in various epithelia. J Cell Biol. 1963 May; 17(2):375-412. doi: 10.1083/jcb.17.2.375. PMID: 13944428; PMCID: PMC2106201.

5. Odenwald MA, Turner JR. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? Nat Rev Gastroenterol Hepatol. 2017 Jan;14(1):9-21. doi: 10.10

38/nrgastro.2016.169. Epub 2016 Nov 16. PMID: 27 848962; PMCID: PMC5554468.

6. Fasano, A. (2020). All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. F1000Res 9, F1000 Faculty Rev–69. doi: 10.12688/f1000research.20510.1

7. Gargari, G., Mantegazza, G., Taverniti, V., Del Bo', C., Bernardi, S., Andres Lacueva, C., et al. (2021). Bacterial DNAemia is associated with serum zonulin levels in older subjects. Sci. Rep. 11, 11054. doi: 10.1038/s41598-021-90476-0

8. Tripathi, A., Lammers, K. M., Goldblum, S., Shea-Donohue, T., Netzel-Arnett, S., Buzza, M. S., et al. (2009). Identifification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 106, 16799–16804. doi: 10.1073/pnas.0906773106

9. Lacombe LAC, Matiollo C, Rosa JSD, Felisberto M, Dalmarco EM, Schiavon LL. Factors associated with circulating zonulin in inflammatory bowel disease. Arq Gastroenterol. 2022 Apr-Jun;59(2):238-243. doi: 10.1590/S0004-2803.202202000-43. PM ID: 35830035.

10. Vanuytsel T, Vermeire S, Cleynen I. The role of Haptoglobin and its related protein, Zonulin, in inflammatory bowel disease. Tissue Barriers. 2013 Dec 1;1(5):e27321. doi: 10.4161/tisb.27321. Epub 2013 Dec 10. PMID: 24868498; PMCID: PMC3943850.

11. Caviglia GP, Dughera F, Ribaldone DG, Rosso C, Abate ML, Pellicano R, Bresso F, Smedile A, Saracco GM, Astegiano M. Serum zonulin in patients with inflammatory bowel disease: a pilot study. Minerva Med. 2019 Apr;110(2):95-100. doi: 10.23736/S0026-4806.18.05787-7. Epub 2018 Aug 28. PMID: 30160088.

12. Schoultz I, KEITA ÅV. The Intestinal Barrier and Current Techniques for the Assessment of Gut Permeability. Cells. 2020; 9:1909.

13. Vilela EG, Torres HOG, Ferrari MLA, Lima AS, Cunha AS. Gut permeability to lactulose and mannitol differs in treated Crohn's disease and celiac disease patients and healthy subjects. Braz J Med Biol Res. 2008; 41:1105-9.

14. Halme L, Turunen U, Tuominen J, Forsstrom T, Turpeinen U. Comparison of iohexol and lactulose-mannitol test as markers of disease activity in patients with inflammatory bowel disease. Scand J Clin Lab Invest. 2000; 60:695-701.