

<https://doi.org/10.31146/1682-8658-ecg-226-6-70-83>

Зонулин и его роль в возникновении младенческих колик: механизмы взаимосвязи

Леонова И. А.^{1,2}, Боголюбова Е. А.¹, Султанов В. Р.¹, Магамедова Д. М.³

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (ул. Льва Толстого, д. 6–8, Санкт-Петербург, 197022, Россия)

² Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, (ул. Аккуратова, д. 2, Санкт-Петербург, 197341, Россия)

³ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Санкт-Петербургский государственный педиатрический медицинский университет» Министерства здравоохранения РФ, (Литовская ул., 2, Санкт-Петербург, 194100, Россия)

Для цитирования: Леонова И. А., Боголюбова Е. А., Султанов В. Р., Магамедова Д. М. Зонулин и его роль в возникновении младенческих колик: механизмы взаимосвязи. Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. 2024; 226 (6): 70–83. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-226-6-70-83

✉ Для переписки:

Леонова Ирина

Александровна

leonova_ia@mail.ru

Леонова Ирина Александровна, к. м. н., доцент кафедры детских болезней с курсом неонатологии; доцент, доцент кафедры детских болезней с клиникой лечебного факультета

Боголюбова Евдокия Анатольевна, студент 6-го курса

Султанов Владислав Русланович, студент 6-го курса

Магамедова Динара Мафрутдиновна, аспирант кафедры пропедевтики детских болезней с курсом общего ухода за детьми

Резюме

Цель. На основании изучения научных источников выявить механизмы связи между воздействием белка зонулина на кишечную стенку и возникновением младенческих колик.

Материалы и методы. Произведен поиск научных статей в базах данных PubMed, Scopus, Web of Science, F1000Research. Отобрано 96 источников, опубликованных в период с 1991 по 2023 год.

Результаты. Представлены сведения об истории открытия белка зонулина, а также современный взгляд на строение плотных межклеточных соединений эпителия кишечника, описаны процессы, посредством которых осуществляется эффект зонулина в отношении изменения проницаемости кишечного барьера. Приведены данные нескольких исследований, в которых было обнаружено повышение уровня зонулина в группах детей с коликами и с дисфункцией ЖКТ. Произведен обзор работ, в которых отмечена связь зонулина с внекишечной патологией — психическими расстройствами, эндокринными, аутоиммунными, сердечно-легочными, аллергическими, инфекционными заболеваниями. Зонулин является перспективной фармакологической мишенью — на сегодняшний день существует специфическая молекула-ингибитор зонулина, показывающая эффективность в лечении целиакии и мультисистемного воспалительного синдрома у детей.

Заключение. Анализ научных публикаций свидетельствует о несомненной актуальности изучения зонулина, как фактора, влияющего на проницаемость кишечной стенки и ряд других процессов. Его роль в формировании кишечных колик требует более детального изучения, поскольку открытия в этой области могут быть активно интегрированы в клиническую практику.

Ключевые слова: зонулин, проницаемость кишечника, кишечный барьер

EDN: XDBAHV





Zonulin's Impact on Intestinal Permeability and the Development of Infant Colic: Mechanisms of Interrelation

I. A. Leonova^{1,2}, E. A. Bogolyubova¹, V. R. Sultanov¹, D. M. Magamedova³

¹ Academician I. P. Pavlov First St. Petersburg State Medical University (6–8, L'va Tolstogo str., Saint Petersburg, 197022, Russia)

² Almazov National Medical Research Center, (2, Akkuratova str., Saint Petersburg, 197341, Russia)

³ St Petersburg State Pediatric Medical University, (2, Litovskaya St., Saint Petersburg, 194100, Russia)

For citation: Leonova I. A., Bogolyubova E. A., Sultanov V. R., Magamedova D. M. Zonulin's Impact on Intestinal Permeability and the Development of Infant Colic: Mechanisms of Interrelation. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2024; 226 (6): 70–83. (In Russ.) DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-226-6-70-83

✉ *Corresponding author:*

Irina A. Leonova
leonova_ia@mail.ru

Irina A. Leonova, MD, PhD; Associate Professor of the Department of Childhood Diseases with a course of neonatology; Associate Professor of the Department of Childhood Diseases with the Clinic of the Faculty of Medicine; ORCID: 0000–0002–5530–9772, SPIN: 6005–3387

Evdokiya A. Bogolyubova, sixth year student; ORCID: 0009–0005–3174–7646

Vladislav R. Sultanov, sixth year student; ORCID: 0009–0005–7323–7003

Dinara M. Magamedova, Postgraduate Student, Department of Propaedeutics of Childhood Diseases with a course in General Child Care; ORCID: 0009–0001–6280–8617

Summary

Objective. To identify the mechanisms of the relationship between the effect of zonulin protein on the intestinal wall and the occurrence of infantile colic based on the study of scientific sources.

Materials and Methods. Scientific articles were searched in PubMed, Scopus, Web of Science, and F1000Research databases. Ninety-six sources published between 1991 and 2023 were selected.

Results. The history of the discovery of the zonulin protein is presented, together with a modern view of the structure of the dense intercellular junctions of the intestinal epithelium, and the processes by which the effect of zonulin on altering the permeability of the intestinal barrier is realised are described. The data of several studies in which increased levels of zonulin were found in groups of children with colic and with GI dysfunction are presented. There is a review of works in which the connection of zonulin with extraintestinal pathology — psychiatric disorders, endocrine, autoimmune, cardiopulmonary, allergic, infectious diseases — has been noted. Zonulin is a promising pharmacological target — to date, there is a specific zonulin inhibitor molecule showing efficacy in the treatment of celiac disease and multisystemic inflammatory syndrome in children.

Conclusion. The analysis of publications shows the undoubted relevance of the study of zonulin as a factor affecting the permeability of the intestinal wall and a number of other processes. Its role in the formation of intestinal colic requires more detailed study, as discoveries in this area can be actively integrated into clinical practice.

Keywords: zonulin, intestinal permeability, intestinal barrier, infantile colic

Введение

Младенческие колики — распространённый поведенческий синдром у детей возрастом от 2 недель до 4–5 месяцев жизни, классически характеризующийся приступами чрезмерно интенсивного и длительного плача, продолжающегося не менее 3 часов в день, 3 дня в неделю в течение 3 недель и более. В 2016 году критерии были уточнены в Римской классификации функциональных желудочно-кишечных расстройств, где критерий продолжительности в три недели был заменен критерием продолжительности в 7 дней [1, 2]. По статистике, коликами страдает от 5% до 40% младенцев во всем мире [3], что говорит о высокой актуальности

данной проблемы. До сих пор отсутствует четкое понимание причин и механизмов развития колик, это затрудняет разработку эффективных методов лечения и профилактики.

На сегодняшний день появляется все больше исследований, которые указывают на возможную связь между коликами у новорожденных и проницаемостью кишечника. Одним из факторов, который, как предполагается, который может играть важную роль в формировании механизмов развития младенческих колик, является зонулин [4, 5]. Зонулин — белок, отвечающий за управление проницаемостью кишечного барьера. Исследования последних десятилетий

показали, что повышенный уровень зонулина в крови может привести к повышенной проницаемости кишечника, что может приводить к воспалительным реакциям, хроническим воспалительным заболеваниями, коликам, а также к гиперчувствительности к определенным компонентам питания [6–9].

Понимание механизмов влияния зонулина на проницаемость кишечника и на развитие колит,

имеет значительное практическое и научное значение. Совершенствование, углубление знаний в сфере изучения проницаемости кишечника может способствовать разработке новых подходов к профилактике и лечению колит, улучшению качества жизни младенцев и их семей, а также снижению бремени эмоционального стресса, который испытывает семья.

Материалы и методы

Проведен анализ научной литературы, опубликованной в базах PubMed, Scopus, Web of Science, F1000Research. Всего было проанализировано 96 источников, из них: 5 русскоязычных, 91 зарубежный.

10 работ посвящены открытию структуры зонулина — модулятора кишечной проницаемости и функционального аналога токсина холерного вибриона, идентифицированного как прегаптоглобин-2.

13 источников посвящены описанию структуры кишечного барьера и плотных соединений кишечника, представляющие собой мембранный комплекс клаудин-окклюдин-гуанилаткиназоподобная окклюзионная зона 1, 2 и 3, и связи проницаемости барьера вследствие влияния зонулина.

В 5 статьях описаны механизмы, через которые зонулин модулирует парацеллюлярный транспорт крупных веществ, антигенов в кишечнике, которые в дальнейшем взаимодействуют с иммунной системой и вызывают воспаление.

В 44 источниках рассматриваются факторы, влияющие на повышение секреции зонулина: глиадин, бактерии, вирусы, генетические факторы, пробиотики, становление состава микробиоты, дисбактериоз, факторы материнско-эмбрионального развития,

в том числе прием антибиотиков во время беременности\родов, и описываются некоторые механизмы — например то, что глиадин вызывает секрецию зонулина через активацию хемокиновых рецепторов CXCR3 на поверхности кишечных клеток, а увеличение секреции во время инфекции связывают как с защитным механизмом элиминации патогенов из кишки, так и с выходом белка из разрушенной эпителиальной клетки; было отмечено, что такие же факторы риска исследуются в работах, посвященных причинам развития младенческих колит, и что здесь необходимо искать взаимосвязь, которую раньше ученые упускали из виду.

В 9 статьях проведено исследование детей с коликами и недоношенных с дисфункцией ЖКТ, у которых исследовали уровень зонулина. Подтверждено лабораторно повышение уровня зонулина в обеих группах. Также в нескольких работах была отмечена связь зонулина с другими группами заболеваний, не связанными с кишечником — психические расстройства, эндокринные заболевания, аутоиммунные, сердечно-легочные и другие.

11 работ послужили материалом для описания ингибитора зонулина, его механизмов и практического применения.

Зонулин, история открытия

Исследования, проведенные в процессе разработки вакцины против холерного вибриона, привели к открытию токсина zonula occludens toxin (Zot), который оказывает влияние на парацеллюлярный путь и проницаемость эпителия [10]. Последующие исследования позволили более глубоко понять сложные сигнальные каскады, активируемые Zot, и его роль в регуляции плотных соединений в эпителии.

Zot обладает способностью обратимо открывать внутриклеточные плотные соединения путем полимеризации актина в клетках-мишенях [11]. Эксперименты показали, что Zot взаимодействует с эпителиальными клетками желудочно-кишечного тракта, особенно в тощей кишке и дистальном отделе подвздошной кишки [12, 13]. В течение периода воздействия Zot наблюдали модулированную проницаемость подвздошной кишки за счет повышения трансэпителиальной электропроводности, а также значительное увеличение числа измененных окклюзионных тяжей зонулы [14].

Таким образом, фактор, вызывающий изменения проницаемости кишечника и изменения плотных

соединений, был обозначен как Zot. Исследователи предположили, что существует эндогенный белок, подобный токсину холерного вибриона, который играет роль в регуляции плотных соединений в эпителии. В ходе дальнейших исследований был идентифицирован человеческий аналог токсина с массой около 47 кДа, белок, который был назван зонулином [15, 16, 17].

Дальнейшие исследования на сыворотках пациентов с брюшным тифом, у которых были повышены уровни зонулина, идентифицировали зонулин как прегаптоглобин-2 (pre Hp-2) вследствие его структурного сходства с гаптоглобином-2 [18]. Белок зонулин произошел от комплемент-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 плотные соединения (TJ) [19].

Таким образом, исследования при разработке вакцины против холерного вибриона привели

к открытию токсина Zot, и последующему обнаружению его аналога, которым является белок зонулин. Зонулин способен влиять на плотные соединения эпителия и повышать его проницаемость.

Это открытие играет важную роль в понимании механизмов контроля проницаемости кишечника и их связи с различными патологическими состояниями.

Кишечный барьер и структура плотных соединений кишечника.

Слизистая оболочка кишечника человека состоит из одного слоя эпителиальных клеток, которые представляют собой основной барьер между организмом и окружающей средой. Эти клетки находятся в тесном взаимодействии с иммунной системой, чтобы совместно контролировать содержимое кишечника [20, 21].

Для поддержания целостности и функциональности слизистой оболочки эпителиальные клетки тесно связаны друг с другом. Это достигается посредством плотных соединений, адгезивных соединений и десмосом [22, 23]. Исторически считалось, что плотные соединения являются непроницаемым барьером, препятствующим проходу больших макромолекул. Эта парадигма была ниспровергнута открытием окклюдина зонулы 1 (ZO-1), идентифицированного в качестве первого компонента комплекса плотных соединений кишечника [24, 25].

Плотные соединения являются структурой, образующей верхнюю часть соединительного комплекса между эпителиальными и эндотелиальными клетками. Плотные соединения состоят из различных трансмембранных белков, включая окклюдины, клаудины, молекулы соединительной адгезии (JAM), трицеллюлин и ангулины [26–31]. Эти белки взаимодействуют друг с другом как гомофильно, так и гетерофильно,

и с белками внутриклеточного каркаса, такими как окклюдины зонулы, которые связаны с актиновым цитоскелетом. Взаимодействие между окклюдинами, клаудинами, молекулами соединительной адгезии и трицеллюлином, как между клетками, так и с окклюдинами зонулы, поддерживает целостность плотного соединения и контролирует проницаемость молекул через пространство между клетками. Сам мембранный комплекс называется клаудин-окклюдин-гуанилаткиназоподобная окклюзионная зона 1, 2 и 3, который и формирует плотные соединения в верхней части эндотелия кишечника. Именно из него можно выделить зонулин, как и из клеток печени, либо эпителиальных клеток кишечника [32]. Это позволяет считать зонулин одним из основных факторов, реализующих механизм «ворот кишечника» и обратимо влияющих на плотность соединений.

Несмотря на значительный прогресс в наших знаниях о составе и функции межклеточных плотных соединений, механизмы, с помощью которых они регулируются, все еще не полностью понятны. Одним из основных прорывов в понимании роли проницаемости кишечника в норме и патологии стало открытие зонулина, единственного физиологического модулятора проницаемости кишечника, описанного на сегодняшний день [7].

Механизмы воздействия зонулина на проницаемость кишечной стенки

Сигнальные пути, активируемые Zot и зонулином, их влияние на разрушение плотных соединений, были подробно изучены и имеют схожие механизмы. Зонулин, секретирующийся в просвет желудочно-кишечного тракта, связывается с рецептором «protease-activated receptor 2» (PAR2), тем самым активирует рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR), которые в свою очередь индуцируют сложный процесс «открытия» плотных контактов, увеличивая проницаемость путем вытеснения белков окклюдина зонулы и окклюдина из клеточных соединений. Это происходит только в тех клетках-мишенях, где экспрессируется рецептор PAR2. Данные изменения в стенке кишки позволяют молекулам с молекулярной массой более 3,5 кДа преодолевать кишечный барьер [33].

Дополнительно было показано, что вытеснение ZO-1 и окклюдина является результатом фосфорилирования ZO-1, зависящего от протеинкиназы альфа. Это фосфорилирование приводит к снижению взаимодействия между белками плотного соединения и миозина-1С, и временному удалению ZO-1 и окклюдина из соединительного комплекса за счет перестройки цитоскелета [34]. Несмотря

на то, что само смещение ZO-1 недостаточно для вызова дефекта барьера, комбинация с другими внутриклеточными сигнальными событиями, такими как смещение окклюдина, полимеризация актина и фосфорилирование миозина-1С, может привести к глубокой перестройке соединительного комплекса и временной разборке плотных соединений [35].

Можно предположить, что обнаружение зонулина в кале может указывать на скорость его выделения в энтероцитах, а обнаружение в крови может свидетельствовать о переносе этого белка из кишечного просвета в подслизистый слой, между клетками кишечного эпителия [36]. Кроме того, зонулин является предшественником гаптоглобина-2, что может указывать на роль данного протеина в регулировании проницаемости не только кишечного эпителия, но и сосудистого эндотелия [37]. Нарушение целостности эпителиального пласта и увеличение его проницаемости способствуют внедрению большого количества различных антигенов, вызывают сенсибилизацию организма и прогрессирование патологических процессов, связанных с изменением плотности межклеточных контактов.

Факторы, влияющие на высвобождение зонулина

Глиадин

Часть исследований показали, что некоторые раздражители, такие как глютен, могут стимулировать высвобождение зонулина [38–40]. Было озвучено, что глиадин, присутствующий в пище, может запустить секрецию зонулина из кишечной клетки через активацию хемокинового рецептора CXCR3 и последующему взаимодействию с адапторным белком «myeloid differentiation primary response 88» (MYD88), участвующим в передаче сигнала. Это

приводит к MYD88-зависимому высвобождению зонулина и повышению его концентрации в просвете кишки [41].

Было показано, что у пациентов с нецелиакией чувствительностью к глютену и пациентов с целиакией уровни зонулина были значительно выше, чем у здоровых [42]. Кроме того, специальная диета, включающая отказ от пшеницы, достоверно снижала уровень зонулина [43].

Инфекции

Хорошо известно, что многие кишечные патогены способны продуцировать энтеротоксины, которые поражают плотные межклеточные контакты. Помимо энтеротоксинов, несколько микроорганизмов, включая комменсальную *Escherichia coli*, лабораторную *E. coli*, вирулентную *E. coli* и *Salmonella typhi*, вызывают высвобождение зонулина из кишечника [44]. Это явление может быть защитным механизмом организма, который помогает избавиться от микроорганизмов и активирует иммунную систему для защиты от таких изменений в кишечной экосистеме, как избыточный рост бактерий или нарушения в составе микробиома, так как регуляция проницаемости кишечника, включая активацию зонулинового пути, является физиологическим механизмом, который помогает поддерживать гомеостаз слизистой оболочки.

В одной из работ оценивали уровни сывороточного зонулина у 81 новорожденного с такими диагнозами, как сепсис, некротический энтероколит, ротавирусная инфекция и гастрошизис. Результаты показали, что медианные значения

уровня зонулина были заметно выше в группах с ротавирусной инфекцией и гастрошизисом, и что повышение уровня зонулина может не сопровождаться выделением маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок (СРБ) и изменение тромбокриты (РСТ), в связи с чем низкий уровень СРБ не должен исключать повреждения кишечника новорожденного. Исходя из результатов исследования, можно предположить, что повышенный уровень зонулина отражает скорее степень (площадь), чем тяжесть повреждения кишечника, и является больше маркером повреждения кишечника, чем любых других органов, о чем говорят очень низкие результаты уровня зонулина при сепсисе, не связанном с поражением кишечника [45].

Подтверждена связь между уровнями сывороточного зонулина и наличием распространенных воспалительных заболеваний кишечника (ВЗК) в популяции, но не было найдено связи с эпизодами обострения ВЗК, что подтверждает, что зонулин действительно не отражает тяжести течения заболевания [46].

Генетические факторы

Модуляция кишечной проницаемости, включая активацию зонулинового пути, является частью физиологического механизма поддержания гомеостаза слизистой оболочки и поэтому клинически не всегда приводит к патологическим исходам. Исследования на трансгенных мышях с конститутивной активацией киназы легких цепей миозина, внутриклеточного посредника разборки TJ, показали повышенную кишечную проницаемость без признаков заболевания [47, 48]. Аналогичным образом, у мышей,

лишенных JAM-A, ключевого структурного компонента TJ, или тяжелой цепи миозина IIA, наблюдалась повышенная кишечная проницаемость, но при этом только низкоуровневое воспаление толстой кишки и нормальная эпителиальная архитектура [49]. У генных мышей, конститутивно продуцирующих высокий уровень зонулина, наблюдалась повышенная кишечная проницаемость, но не патологический фенотип [50].

Пробиотики

Многие исследования указывают на то, что пробиотики оказывают положительное воздействие на уровни зонулина в крови, как на показатель проницаемости кишечника. Наиболее заметными и значимыми микроорганизмами являются *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* [51], как и при лечении колик [52]. В одном мета-анализе, включающем девять исследований, было изучено влияние потребления пробиотиков (и симбиотиков) на уровни зонулина в крови. Результаты показали, что прием пробиотиков

и симбиотиков значительно снижают уровень зонулина в крови по сравнению с плацебо. Однако важно отметить, что исследование показало разнообразные результаты, которые требуют дополнительного изучения. При анализе было обнаружено значительное снижение уровня зонулина у тех, кто употреблял только пробиотики, что плохо поддается объяснению и требует дополнительной проверки и обоснования [53].

В журнале PLoS One были представлены данные исследования о влиянии симбиотиков на уровень

зонулина плазмы у здоровых людей. Результаты показали, что прием симбиотической добавки в течение двух недель не оказывал влияния на уровень сывороточного зонулина у здоровых взрослых ни в состоянии покоя, ни при стрессовых условиях, вызванных приемом индометацина, но было

отмечено, что уровень зонулина в фекалиях значительно снижается через восемь недель у субъектов, у которых исходно был повышенный уровень зонулина [54]. Такие выводы трудно сопоставимы, так как у этих двух маркеров (сывороточного и фекального) может значительно отличаться чувствительность.

Микробиота

В исследовании E. Wilms, J. Gerritsen оценивалась взаимосвязь между воспалением, ожирением и микрофлорой кишечника у пациентов с колоректальным раком. Наблюдения показали, что у людей с ожирением были значительные изменения в составе и функционировании кишечной микробиоты. В их кишечной микробиоте обнаруживается большее количество условно-патогенных микроорганизмов, таких как *Prevotella*, *Fusobacterium nucleatum*, *Enterobacteriaceae* и *Escherichia coli*. Интересно отметить, что уровни зонулина в плазме оказываются значительно выше у пациентов с ожирением и раком, по сравнению с контрольными группами пациентов с раком кишечника, не страдающих ожирением, а также у здоровых пациентов. Это повышение уровня зонулина может быть объяснено наличием *Prevotella* в кишечной микробиоте пациентов с ожирением [55]. Данная бактерия выделяет белки, которые играют важную роль в разложении муцина, что может нарушать защитный барьер слизистой оболочки кишки [56] и тем самым вызывает опосредованное повышение проницаемости стенки через высвобождение зонулина. [32].

Бактерии могут оказывать различное влияние на уровни зонулина в кишечнике. Некоторые грамотрицательные штаммы, такие как *Escherichia coli*, *Prevotella*, *Pseudomonas* и *Salmonella* spp., способны стимулировать выделение зонулина, что может приводить к повышенной проницаемости кишечного барьера.

С другой стороны, некоторые грамположительные штаммы, включая *Bifidobacterium* и *Lactobacillus* spp., могут снижать уровни зонулина. Эти бактерии могут выполнять защитную роль путем расщепления пептидов глютена с помощью гидролизующих ферментов. Этот процесс может ингибировать

цитотоксические реакции, вызванные глиадином, в эпителиальных клетках кишечника [57].

Еще одно исследование, опубликованное в *Journal of Translational Medicine*, обращает внимание на корреляцию между уровнем фекального зонулина и кишечной микробиотой. Было выявлено, что уровни зонулина в P2 (через 7 дней после рождения) и P3 (через 1 месяц после рождения) были значительно ниже, чем в моменты времени P4, P5 и P6. Однако в отрезке P4 -P6 (6-й и 24-й месяцы жизни) не наблюдалось существенных различий. Таким образом, уровни зонулина имели тенденцию к повышению в течение 6 месяцев после рождения и стабилизации впоследствии до момента окончания заселения организма микробиотой [58]. Можно сделать вывод, что состав микробиоты кишечника и связанные с ним метаболические потенциалы, которые активно изменяются в течение первых 2 лет жизни, коррелировали с уровнями зонулина [59]. Таким образом, предположительно, стабилизация кишечной проницаемости происходит между шестым и двенадцатым месяцем жизни.

Следует подчеркнуть, что у здоровых детей концентрации зонулина в кале остаются на достаточно высоком уровне до 24-месячного возраста, превышая 200 нг/мл. Также у лиц, с высокими показателями проницаемости в течение одного месяца, как правило, наблюдались высокие показатели в более старшем возрасте [60]. Средняя концентрация зонулина в кале 61 нг/мл (± 46 нг/мл) у взрослых была оценена как «нормальная» для здоровых людей, а для сывороточного зонулина среднее значение 34 нг/мл (± 14 нг/мл) [61]. Можно сделать вывод, что уровень зонулина, как в кале, так и в крови, с 6–12 месячного возраста постепенно снижается, и не зависит от массы тела здорового человека.

Факторы эмбрионального развития

В журнале *Journal of Clinical Medicine* было опубликовано исследование о влиянии антибиотикотерапии матери на концентрацию зонулина у плодов и новорожденных. Результаты показали, что применение антибиотиков во время беременности привело к увеличению уровня зонулина в сыворотке пуповинной крови на 26%, а при антибактериальной терапии во время родов концентрация зонулина в кале новорожденных в семидневном возрасте повышалась на 45% [32, 62].

Кроме того, исследование показало, что у новорожденных, родившихся с помощью кесарева сечения, наблюдались более высокие уровни зонулина в пуповинной крови и кале на седьмой день по сравнению с новорожденными, которые родились естественным путем, на 20% и 54%

соответственно. Это может быть связано с повышенной проницаемостью кишечного барьера после родов. Однако, уровни зонулина в меконии были незначительно выше у новорожденных, рожденных кесаревым сечением, по сравнению с теми, которые родились естественным путем. Это может говорить о том, что повышенные уровни зонулина в кале в семидневном возрасте не были обусловлены прямой передачей зонулина от матери [63].

Возможно, такие результаты связаны с различиями в составе микробиоты между новорожденными, рожденными естественным путем и с помощью кесарева сечения, ведь при естественных родах младенец имеет ранний контакт с микробиомом матери, что играет важную роль в созревании кишечника

и поддержании гомеостаза в системе взаимодействия микроорганизмов и организма-хозяина [64].

Так же было отмечено, что у новорожденных, рожденных путем кесарева сечения, концентрации зонулина в кале на седьмой день жизни были выше на 66%, по сравнению с группой, которая не получала антибиотики, и на 27% по сравнению с группой, которая профилактически получала ампициллин при естественных родах. То есть, можно сказать, что тип родов повлиял на уровень зонулина сильнее, чем прием антибиотиков [45].

Другие факторы

B. Asbjornsdottir et al., 2020, выявили, что средние уровни зонулина, оказались выше у детей с диагнозами расстройство аутистического спектра (РАС) и синдром дефицита внимания и гиперактивности (СДВГ) по сравнению с контрольной группой. Появилась гипотеза, что зонулин может быть биомаркером СДВГ и РАС [66–69]. А в работе B. Stevens, 2018, была замечена корреляция между повышением уровня зонулина в плазме у лиц, страдающих тревогой и депрессией с сопутствующими нарушениями

Эти исследования указывают на то, что повышенная проницаемость кишечника может быть важным фактором в развитии не только колик, но и хронических воспалительных заболеваний кишечника, особенно при наличии дополнительных генетических и окружающих факторов, наличия дисбаланса в микробиоме кишечника, факта добавления в рацион пробиотиков\симбиотиков, применения антибиотиков во время беременности или родов, и типа родоразрешения [65].

микрофлоры, поэтому трудно сказать, повлияли ли психические нарушения на зонулин в данном случае, либо же он был повышен вследствие нарушения состава микрофлоры [70].

Также показана взаимосвязь зонулина с такими заболеваниями, как рассеянный склероз [71], ожирение [72, 73], диабет 2 типа [74, 75], неалкогольная жировая болезнь печени [76], бронхиальная астма, септицемия [77], глиома [78], синдром поликистозных яичников, ВИЧ [79] и другие.

Специфический ингибитор зонулина

Ларазотид ацетат (LA) — это одноцепочечный пептид, состоящий из восьми природных аминокислот (Gly-Gly-Val-Leu-Val-Gln-Pro-Gly), полученный из фетального зонулина и структурно похожий на Zot [80]. Это первое фармакологическое средство для лечения целиакии, когда-либо протестированное в ходе III фазы клинических испытаний [81, 82]. Уникальной характеристикой этого перорально вводимого пептида является его ограниченный, локализованный эффект на кишечник [83].

Предполагается, что LA противодействует зонулиновому пути за счет конкурентного ингибирования связывания зонулина с рецепторами-мишенями. Имеются данные, что LA уменьшает как перестройку, так и перераспределение актина и связанного с плотными соединениями белка зонулы окклюдина-1 в клетках, которые подвергались воздействию белкового агониста зонулина (AT-1002) [84]. AT-1002 воздействует на проницаемость кишки через те же механизмы, что и зонулин.

Другие исследования предполагают, что LA стабилизирует структуру плотных соединений за счет перегруппировки актиновых филаментов и способствуя сборке плотных соединений, что предотвращает попадание глютена в подслизистую оболочку кишечника и запуск воспалительной реакции [85].

Было проведено исследование на 20 добровольцах с целиакией, результаты показали, что после воздействия глютена в группе плацебо было обнаружено увеличение проницаемости кишечника на 70%, в то время как в группе, принимавшей LA этого не наблюдалось [83–85].

Исследование LA на 4 детях в возрасте от 3 до 17 лет с мультисистемным воспалительным синдромом, вызванным вирусом SARS-CoV-2, показало, что препарат безопасен и хорошо переносится, наблюдалось значительное уменьшение продолжительности желудочно-кишечных симптомов, более быстрое время выведения спайкового антигена, что свидетельствует об улучшении барьерной функции слизистой оболочки желудочно-кишечного тракта [86]. Такой результат, возможно, связан не только с ингибированием зонулина, так как в другом исследовании ученые обнаружили, что ингибитор зонулина ларазотид ацетат связывается с каталитическим доменом главной протеазы (Mpro) вируса SARS-CoV-2, блокируя его. Это открывает новые пути в разработке действующего противовирусного препарата, ведь основная протеаза коронавируса Mpro, играет весомую роль в репликации его вирусных частиц [87].

Зонулин и младенческие колики, прямые исследования

Младенческие колики являются многофакторным синдромом. Предполагаемые причины включают изменения в микрофлоре кала, непереносимость белка коровьего молока или лактозы, незрелость или воспаление желудочно-кишечного тракта, повышенную секрецию серотонина, неправильную технику кормления и курение матери, прием

антибиотиков [88] и другие. Младенческие колики чаще всего предполагают желудочно-кишечную причину, однако, в этом вопросе есть неоднозначность, поскольку есть исследования, которые доказывают связь колик, например, с мигренью [89]. Методы подтверждения младенческих колик различаются, но одним из наиболее часто

Таблица 1

Перечень основных публикаций, изучающих факторы, влияющие на уровень зонулина, и патологические состояния с сопутствующим его повышением.

Автор, год	Фактор\заболевание\синдром	Тип исследования	Популяция	Исследуемые показатели	Результаты
2023, Apot Veres-Székely	Микробиота	Мета-анализ	Клеточные линии и животные модели	Зонулин в кишечнике	Escherichia coli, Prevotella, Pseudomonas и Salmonella spp., индуцируют выделение зонулина в кишечнике. Грамположительные штаммы, такие как Bifidobacterium и Lactobacillus spp., снижают уровни зонулина.
2022, Xiao Wang	Воспалительные заболевания кишечника		130 женщин, 65 с ВЗК (45 с обострением), 65 контрольных	Сывороточный зонулин	Уровни зонулина в сыворотке крови значительно выше при распространенном ВЗК по сравнению с контрольной группой, не было обнаружено разницы в уровне зонулина между женщинами, у которых развилось обострение ВЗК в течение периода наблюдения, и пациентов с ВЗК.
2021, Mariusz Kaczmarczyk	Микробиота		21 здоровые новорожденные, наблюдение в течение 24 месяцев	Фекальный зонулин	Уровни зонулина имели тенденцию к повышению в течение 6 месяцев после рождения и далее стабилизировались. Становление состава микробиоты кишечника и связанные с ним метаболические потенциалы, коррелировали с уровнями зонулина.
2020, Birna Asbjornsdottir	Психические расстройства	Мета-анализ	402 ребенка с СДВГ и РАС	Сывороточный зонулин	Средние уровни зонулина, оказались выше у детей с диагнозом психические расстройства
2020, Amirhossein Ramezani	Пробиотики и симбиотики	Мета-анализ	Девять исследований: 496 пациентов, принимавших добавки и 443 контрольных)	Сывороточный зонулин	Сочетанный прием пробиотик + симбиотик оказывает значительное влияние на снижение уровня зонулина в сыворотке крови
2020, Lidia Sánchez Alcoholado	Микробиота		Пациенты с ожирением и колоректальным раком, контрольные с раком и здоровые	Сывороточный зонулин	Уровни зонулина в плазме оказываются значительно выше у пациентов с ожирением и раком, по сравнению с контрольными группами пациентов с раком кишечника, не страдающих ожирением, а также у здоровых пациентов, вероятно, за счет таких микроорганизмов, как патогенных микроорганизмов, таких как Prevotella, Fusobacterium nucleatum, Enterobacteriaceae и Escherichia coli.
2020, Maria Raffaella Barbaro	Чувствительность к глютену	Многоцентровое клиническое исследование	86 пациентов с NCGS, 15 пациентов с CD, 59 пациентов с СРК, 25 бессимптомных контрольных	Сывороточный зонулин	По сравнению с СРК, у пациентов с NCGS, и у пациентов с CD, были значительно повышены уровни зонулина. Шестимесячный отказ от употребления пшеницы значительно снизил уровень зонулина только у HLA-DQ2 / 8-позитивных участников с NCGS.

Автор, год	Фактор\заболевание\синдром	Тип исследования	Популяция	Исследуемые показатели	Результаты
2019, Beata Łoniewska	Факторы материнско-эмбрионального развития	Обсервационное проспективное когортное исследование	100 здоровых доношенных детей	Сывороточный и фекальный зонулин	1) Концентрации зонулина в пуповинной крови и кале новорожденного в семидневном возрасте, родившихся с помощью кесарева сечения, были на 20% и 54% соответственно выше по сравнению с новорожденными, родившимися естественным путем. 2) Применение антибиотиков во время беременности привело к повышению концентрации зонулина на 26% в сыворотке крови из пуповины 3) Антибактериальная терапия во время родов привела к повышению концентрации зонулина на 45% в кале новорожденных в семидневном возрасте. 4) Концентрации зонулина в кале на 7й день жизни были выше на 66%, по сравнению с группой, которая не получала антибиотиков, и на 27% по сравнению с группой, которая получала ампициллин при естественных родах.
2019, S. S. Khasanova	Недоношенность		108 недоношенных детей с повышенным риском риск сочетанных дисфункций пищеварения, включая колики	Фекальный зонулин	У недоношенных детей уровни фекального зонулина повышались многократно в течение 14 дней после рождения по сравнению с здоровыми доношенными.
2017, Anna Tarko	Инфекции, дефект брюшной стенки		81 новорожденных: 12 с сепсисом, 24 недоношенных, 12 с некротическим энтероколитом, 16 с ротавирусной инфекцией, 3 с гастрошизисом, 14 контрольных	Сывороточный зонулин	Медианные значения зонулина были заметно выше в группах с ротавирусной инфекцией и гастрошизисом, чем в контрольной.
2017, Sturgeon C	Генетический фактор		Мыши, трансгенные зонулином	Экспрессия зонулина, проницаемость кишечника	Мыши, трансгенные зонулином, имели его повышенную секрецию и, как следствие, нарушение барьера тонкой кишки, которое является ранним этапом, ведущим к нарушению толерантности с последующим развитием CIDS
2017, Anna Pärtty	Связь младенческих колик с зонулином	Рандомизированное двойное слепое плацебо-контролируемое исследование	28 детей с коликами и 12 без кишечной симптоматики	Сывороточный зонулин	Медианные значения — 20.9 ng/ml у контрольной группы и 24.7 ng/ml у детей с коликами.

используемых является критерий Весселя: плач не менее 3 часов в день, не менее 3 дней в неделю, не менее 3 недель [90]. Состояние обычно проявляется на второй или третьей неделе жизни, достигает максимума около 6 недель и проходит к 12 неделям у 60% младенцев и к 16 неделям у 90% [91]. В данном разделе постараемся окончательно провести взаимосвязи между коликами и непосредственно кишечной причиной — зонулином.

Работы по изучению влияния зонулина на младенческие колики малочисленны. В одной из таких работ от Anna Pärtty и др., 2017, исследовалось 28 детей с коликами и 12 без кишечной симптоматики. Результаты показали, что значимых различий в концентрациях зонулина в сыворотке крови между младенцами 1 и 2 групп выявлено не было. Медианные значения — 20.9 ng/ml у контрольной группы и 24.7 ng/ml у детей с коликами [92].

Результаты не могут говорить о прямом влиянии зонулина на частоту возникновения младенческих колик в популяции, но уровень зонулина в сыворотке был выше на 20% у детей с коликами, это умеренное повышение, которое может сигнализировать о вялотекущем системном воспалении, которое подтверждали другие исследуемые маркеры. Кроме того, не исследовался уровень фекального зонулина, что в кишечной патологии имеет большее значение, и этот маркер, как показали другие исследования, более чувствительный при диагностике изменений проницаемости кишечника [64]. Необходимо продолжать работу в этом

направлении, исследуя в первую очередь уровень фекального зонулина, что может показать более выраженные результаты.

В исследовании Хасановой и др., 2019, был проанализирован уровень фекального зонулина у 108 недоношенных детей с различными проблемами пищеварения, включая колики. В результате было выявлено, что у этих детей уровни фекального зонулина повышались многократно в течение 14 дней после рождения по сравнению с здоровыми доношенными детьми. Это связано с незрелостью пищеварительной системы и другими причинами, связанными с недоношенностью, такими как нарушение кровообращения между матерью и плодом, проблемы с перевариванием и воспалительные процессы в кишечнике [93].

Кроме того, факторы, предположительно участвующие в развитии младенческих колик идентичны тем, которые вызывают повышение уровня зонулина, они были описаны выше, но ввиду недостаточности количества исследований, мы можем лишь предполагать существующую взаимосвязь [89–94]. Кроме того, фактор повышенной проницаемости кишечника часто связывают с развитием колик и других ВЗК, а зонулин как раз является единственным модулятором кишечной проницаемости [95]. В таблице 1 представлены сводные данные по результатам основных публикаций, изучающих факторы, влияющие на уровень зонулина, и патологические состояния с сопутствующим его повышением.

Сложности лабораторного определения уровня зонулина

Наиболее распространенный метод лабораторной оценки уровня зонулина — иммуноферментный анализ (ИФА, ELISA), не всегда является точным, что создает определенные проблемы и требует совершенствования способов диагностики. ИФА широко используется в лабораториях для оценки целостности кишечного барьера [60]. Результаты одного исследования показали, что некоторые коммерческие ELISA-тест-системы не позволяют правильно определить уровень прегаптоглобина-2 в сыворотке крови. Они способны обнаруживать одновременно

различные белки, которые имеют сходство по структуре и, возможно, функции с зонулином, причем пропердин является наиболее вероятным вторым членом семейства зонулинов [96]. Кроме того, ИФА может обнаруживать синтетический пептидный ингибитор AT1001, в связи с чем получают ложноположительные результаты. Необходимы дополнительные исследования, чтобы установить первичные белки-мишени (зонулин, пропердин или другие структурно сходные белки), обнаруживаемые коммерчески доступными ИФА.

Заключение

В работе был проведен анализ публикаций, исследующих маркер нарушения целостности кишечного барьера, эндогенный модулятор проницаемости — белок зонулин, описаны современные представления о механизмах его влияния на кишечную стенку, обобщены данные о множестве факторов, влияющих на изменение уровня секреции зонулина, приведен ряд патологических состояний, которые сопровождаются его повышением, в т.ч. младенческие колики.

По данным научной литературы, имеющимся на сегодняшний день, очевидной связи между уровнем зонулина в сыворотке крови или кале с кишечными коликами у детей не доказано, но учитывая, что зонулин ассоциирован с многими

заболеваниями кишечника, и связан с изменениями в кишечнике, которые присущи и коликам, нельзя недооценивать его роль в развитии этого младенческого синдрома. Очень перспективны и необходимы дальнейшие исследования в этой области, поскольку в экспериментах уже выявлены новые и крайне полезные свойства зонулина и его ингибитора, например, противовирусная активность в отношении главной протеазы SARS-CoV-2 [87], и положительный эффект в экспериментальной терапии целиакии [83]. Продолжение изучения взаимосвязи зонулина и младенческих колик может способствовать обнаружению новой терапевтической мишени для фармакологической коррекции столь распространенного явления у младенцев.

Литература | References

1. Zeevenhooven J., Browne P.D., L'Hoir M.P., de Weerth C., Benninga M.A. Infant colic: mechanisms and management. *Nature reviews Gastroenterology & hepatology*. 2018 Aug;15(8):479–96. doi: 10.1038/s41575-018-0008-7.
2. Hjern A. et al. A systematic review of prevention and treatment of infantile colic. *Acta Paediatrica*. 2020;109(9):1733–1744. doi: 10.1111/apa.15247.
3. Banks J.B., Rouster A.S., Chee J. Colic. [Updated 2022 Aug 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. PMID: 33760546.
4. Anna Pärtty, Marko Kalliomäki, Seppo Salminen, Erika Isolauri. Infantile Colic Is Associated With Low-grade Systemic Inflammation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr*. 2017 May;64(5):691–695. doi: 10.1097/MPG.0000000000001340.
5. Rhoads J.M. et al. Infant colic represents gut inflammation and dysbiosis. *The Journal of pediatrics*. 2018;203:55–61. e3. doi: 10.1016/j.jpeds.2018.07.042.
6. Serek P., Oleksy-Wawrzyniak M. The effect of bacterial infections, probiotics and zonulin on intestinal barrier integrity. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021;22(21):11359. doi: 10.3390/ijms222111359.
7. Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Research*. 2020;9. doi: 10.12688/f1000research.20510.1
8. Tajik N. et al. Targeting zonulin and intestinal epithelial barrier function to prevent onset of arthritis. *Nature communications*. 2020;11(1):1995. doi: 10.1038/s41467-020-15831-7.
9. Caviglia G. P. et al. Physiopathology of intestinal barrier and the role of zonulin. *Minerva Biotechnologica*. 2019;31(3):83–92. doi:10.23736/S1120-4826.19.02554-0.
10. Fasano A. et al. Zonula occludens toxin modulates tight junctions through protein kinase C-dependent actin reorganization, in vitro. *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(2):710–720. doi: 10.1172/JCI118114.
11. Fasano A. et al. Zonula occludens toxin modulates tight junctions through protein kinase C-dependent actin reorganization, in vitro *The Journal of clinical investigation*. 1995;96(2):710–720. doi: 10.1172/JCI118114.
12. Craig Sturgeon, Alessio Fasano. 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.
13. Fasano A. et al. The enterotoxic effect of zonula occludens toxin on rabbit small intestine involves the paracellular pathway. *Gastroenterology*. 1997;112(3):839–846. doi: 10.1053/gast.1997.v112.pm9041245.
14. Fasano A., Baudry B., Pumplun D.W., Wasserman S.S., Tall B.D., Ketley J.M., Kaper J.B. *Vibrio cholerae* produces a second enterotoxin, which affects intestinal tight junctions. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1991 Jun 15;88(12):5242–6. doi: 10.1073/pnas.88.12.5242.
15. Fasano A. et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *The Lancet*. 2000;355(9214):1518–1519. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3.
16. Edyta Szymanska, Aldona Wierzbicka et.al. Fecal Zonulin as a Noninvasive Biomarker of Intestinal Permeability in Pediatric Patients with Inflammatory Bowel Diseases- Correlation with Disease Activity and Fecal Calprotectin. *J Clin Med*. 2021 Aug 30;10(17):3905. doi: 10.3390/jcm10173905.
17. Wang W. et al. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *Journal of cell science*. — 2000;113(24. — C. 4435–4440.]. doi: 10.1242/jcs.113.24.4435
18. Tripathi A. et al. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2009;106(39):16799–16804. doi: 10.1073/pnas.0906773106.
19. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiological reviews*. 2011. doi: 10.1152/physrev.00003.2008
20. Lee B. et al. Tight junction in the intestinal epithelium: its association with diseases and regulation by phytochemicals. *Journal of immunology research*. 2018;2018.]. [6c Salvo Romero E. et al. The intestinal barrier function and its involvement in digestive disease. *Rev Esp Enferm Dig*. 2015;107(11):686–96.]. doi: 10.1155/2018/2645465.
21. Spadoni I. et al. A gut-vascular barrier controls the systemic dissemination of bacteria. *Science*. 2015;350(6262):830–834. doi: 10.1126/science.aad0135.
22. Ramena Yathish and Ramena Grace. Cell-Cell Junctions and Epithelial Differentiation. *Journal of Morphology and Anatomy*. 2018, (2):1.
23. Adil M. S., Narayanan S. P., Somanath P. R. Cell-cell junctions: structure and regulation in physiology and pathology. *Tissue Barriers*. 2021;9(1):1848212. doi: 10.1080/21688370.2020.1848212.
24. Stevenson B. R. et al. Identification of ZO-1: a high molecular weight polypeptide associated with the tight junction (zonula occludens) in a variety of epithelia. *The Journal of cell biology*. 1986;103(3):755–766. doi: 10.1083/jcb.103.3.755.
25. Kuo W. T. et al. Tight junction proteins occludin and ZO-1 as regulators of epithelial proliferation and survival. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 2022;1514(1):21–33. doi: 10.1111/nyas.14798.
26. Stephan C. Bischoff, Giovanni Barbara et.al. Intestinal permeability — a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol*. 2014 Nov 18;14:189. doi: 10.1186/s12876-014-0189-7.
27. Furuse M. et al. Occludin: a novel integral membrane protein localizing at tight junctions. *The Journal of cell biology*. 1993;123(6):1777–1788. doi: 10.1083/jcb.123.6.1777.
28. Heinemann U., Schuetz A. Structural features of tight-junction proteins. *International journal of molecular sciences*. 2019;20(23):6020. doi: 10.3390/ijms20236020.
29. Martin-Padura I. et al. Junctional adhesion molecule, a novel member of the immunoglobulin superfamily that distributes at intercellular junctions and modulates monocyte transmigration. *The Journal of cell biology*. 1998;142(1):117–127. doi: 10.1083/jcb.142.1.117.
30. Ikenouchi J. et al. Tricellulin constitutes a novel barrier at tricellular contacts of epithelial cells. *The Journal of cell biology*. 2005;171(6):939–945. doi: 10.1083/jcb.200510043.
31. Higashi T. et al. Analysis of the 'angulin' proteins LSR, ILDR1 and ILDR2-tricellulin recruitment, epithelial barrier function and implication in deafness pathogenesis. *Journal of cell science*. 2013;126(4):966–977. doi: 10.1242/jcs.116442.
32. Beata Łoniewska, Dagmara Węgrzyn et.al. The Influence of Maternal-Foetal Parameters on Concentrations of Zonulin and Calprotectin in the Blood and Stool of Healthy Newborns during the First Seven Days of Life. An Observational Prospective Cohort Study. *J Clin Med*. 2019 Apr 7;8(4):473. doi: 10.3390/jcm8040473.

33. Khavkin A. I., Bogdanova N. M., Novikova V. P. Biological role of zonulin: a biomarker of increased intestinal permeability syndrome. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii*. 2021;66(1):31–38. (in Russ.) doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-31-38.
Хавкин А. И., Богданова Н. М., Новикова В. П. Биологическая роль зонулина и эффективность его использования в качестве биомаркера синдрома повышенной кишечной проницаемости. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2021;66(1):31–38. doi: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-31-38.
34. Goldblum S.E., Rai U., Tripathi A., Thakar M., De Leo L., Di Toro N., Not T., Ramachandran R., Puche A. C., Hollenberg M.D., Fasano A. The active Zot domain (aa 288–293) increases ZO-1 and myosin 1C serine/threonine phosphorylation, alters interaction between ZO-1 and its binding partners, and induces tight junction disassembly through proteinase activated receptor 2 activation. *The FASEB journal*. 2011 Jan;25(1):144. doi: 10.1096/fj.10-158972.
35. McNeil E., Capaldo C. T., Macara I. G. Zonula occludens-1 function in the assembly of tight junctions in Madin-Darby canine kidney epithelial cells. *Molecular biology of the cell*. 2006 Apr;17(4):1922–32. doi: 10.1091/mbc.e05-07-0650.
36. Ohlsson B., Orho-Melander M., Nilsson P. M. Higher Levels of Serum Zonulin May Rather Be Associated with Increased Risk of Obesity and Hyperlipidemia, Than with Gastrointestinal Symptoms or Disease Manifestations. *Int J Mol Sci*. 2017; 18(3): E582. doi: 10.3390/ijms18030582.
37. Krakowiak O., Nowak R. Mikroflora przewodu pokarmowego człowieka – znaczenie, rozwój, modyfikacje. *Post Fitoter*. 2015; 3: 193–200.
38. Clemente M.G., De Virgiliis S., Kang J.S. et al. Early effects of gliadin on enterocyte intracellular signalling involved in intestinal barrier function. *Gut*. 2003 Feb;52(2):218. doi: 10.1136/gut.52.2.218.
39. Thomas K.E., Sapone A., Fasano A., Vogel S.N. Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in Celiac disease. *The Journal of Immunology*. 2006 Feb 15;176(4):2512–21. doi: 10.4049/jimmunol.176.4.2512.
40. Zybina N.N., Nikonov E. L., Gershtein E. S. et al. Zonulin is a marker of epithelial and endothelial barrier functions in non-communicable diseases (narrative review). *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2022;11(1):28 44. (in Russ.) doi: 10.17116/dokgastro20221101128.
Зыбина Н. Н., Никонов Е. Л. и другие. Зонулин как маркер проницаемости клеточных контактов при соматических и онкологических заболеваниях. *Доказательная гастроэнтерология*. 2022;11(1):28 44. doi: 10.17116/dokgastro20221101128.
41. 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 Jul 1;135(1):194–204. doi: 10.1053/j.gastro.2008.03.023.
42. Maria Raffaella Barbaro, Cesare Cremon et al. Serum zonulin and its diagnostic performance in non-coeliac gluten sensitivity. *Gut*. 2020 Nov;69(11):1966–1974. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319281.
43. Dudašova Petrovičova O., Stanković I., Đorđević B., Dopsaj V., Milinković N., Dopsaj M. How Supplementation with SOD-Rich Plant Extract, Combined with Gliadin, Can Affect Oxidative Stress Markers and Zonulin Levels in Exercise-Induced Oxidative Stress. *Metabolites*. 2023 Dec 17;13(12):1200. doi: 10.3390/metabo13121200.
44. El Asmar R., Panigrahi P., Bamford P., Berti I., Not T., Coppa G. V., Catassi C., Fasano A. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*. 2002 Nov 1;123(5):1607–15. doi: 10.1053/gast.2002.36578.
45. Anna Tarko, Anna Suchojad et al. Zonulin: A Potential Marker of Intestine Injury in Newborns. Epub 2017 Jul. doi: 10.1155/2017/2413437.
46. Xiao Wang, Ashfaq A Memon et al. The association of zonulin-related proteins with prevalent and incident inflammatory bowel disease. *BMC Gastroenterol*. 2022 Jan 3;22(1):3. doi: 10.1186/s12876-021-02075-y.
47. Naydenov NG, Feygin A, Wang D, et al.: Nonmuscle Myosin IIA Regulates Intestinal Epithelial Barrier in vivo and Plays a Protective Role During Experimental Colitis. *Sci Rep*. 2016;6:24161. doi: 10.1038/srep24161.
48. Su L. et al. Targeted epithelial tight junction dysfunction causes immune activation and contributes to development of experimental colitis. *Gastroenterology*. 2009;136(2):551–563. doi: 10.1053/j.gastro.2008.10.081.
49. Laukoetter M. G. et al. JAM-A regulates permeability and inflammation in the intestine in vivo. *The Journal of experimental medicine*. 2007;204(13):3067–3076. doi: 10.1084/jem.20071416.
50. Sturgeon C., Lan J., Fasano A. Zonulin transgenic mice show altered gut permeability and increased morbidity/mortality in the DSS colitis model. *Ann N Y Acad Sci*. 2017;1397(1): 130–42. doi: 10.1111/nyas.13343.
51. Paweł Serek, Monika Oleksy-Wawrzyniak. The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity. *Int J Mol Sci*. 2021 Oct 21;22(21):11359. doi: 10.3390/ijms222111359.
52. Rita Nocerino, Francesca De Filippis et al. The therapeutic efficacy of Bifidobacterium animalis subsp. lactis BB-12[®] in infant colic: A randomised, double blind, placebo-controlled trial. *Aliment Pharmacol Ther*. 2020 Jan;51(1):110–120. doi: 10.1111/apt.15561.
53. Amirhossein Ramezani Ahmadi, Mehdi Sadeghian et al. The Effects of Probiotic/Synbiotic on Serum Level of Zonulin as a Biomarker of Intestinal Permeability: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Iran J Public Health*. 2020 Jul; 49(7). doi: 10.18502/ijph.v49i7.3575.
54. Wilms E., Gerritsen J. Effects of Supplementation of the Synbiotic Ecologic[®] 825/FOS P6 on Intestinal Barrier Function in Healthy Humans: A Randomized Controlled Trial. *PLoS One*, 2016; 11(12). doi: 10.1371/journal.pone.0167775.
55. Lidia Sánchez-Alcoholado, Rafael Ordóñez. Gut Microbiota-Mediated Inflammation and Gut Permeability in Patients with Obesity and Colorectal Cancer. *Int J Mol Sci*. 2020 Sep 16;21(18):6782. doi: 10.3390/ijms21186782.
56. Sonnal Lohia, Antonia Vlahou, Jerome Zoidakis. Microbiome in Chronic Kidney Disease (CKD): An Omics Perspective. *Toxins (Basel)*. 2022 Feb 26;14(3):176. doi: 10.3390/toxins14030176.
57. Apor Veres-Székely, Csenge Szász et al. Zonulin as a Potential Therapeutic Target in Microbiota-Gut-Brain Axis Disorders: Encouraging Results and Emerging Questions. *Int. J. Mol. Sci*. 2023, 24(8), 7548. doi: 10.3390/ijms24087548.
58. Mariusz Kaczmarczyk, Ulrike Löber et al. The gut microbiota is associated with the small intestinal paracellular permeability and the development of the immune system in healthy children during the first two years of life. *J Transl Med*, 2021 Apr 28;19(1):177. doi: 10.1186/s12967-021-02839-w.
59. Christian Milani, Sabrina Duranti et al. The First Microbial Colonizers of the Human Gut: Composition, Activities, and Health Implications of the Infant Gut Microbiota. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2017 Nov 8;81. doi: 10.1128/mmr.00036-17.

60. Beata Łoniewska, Karolina Adamek et.al. Analysis of Faecal Zonulin and Calprotectin Concentrations in Healthy Children During the First Two Years of Life. An Observational Prospective Cohort Study. *J Clin Med*. 2020 Mar 12;9(3):777. doi: 10.3390/jcm9030777.
61. Karin Malíčková, Irena Francová et al. Fecal zonulin is elevated in Crohn's disease and in cigarette smokers. *Pract Lab Med*. 2017 Sep 23;9:39–44. doi: 10.1016/j.plabm.2017.09.001.
62. Łoniewska B., Adamek K., Węgrzyn D., Kaczmarczyk M. et al. Analysis of faecal zonulin and calprotectin concentrations in healthy children during the first two years of life. An observational prospective cohort study. *Journal of Clinical Medicine*. 2020 Mar 12;9(3):777. doi: 10.3390/jcm9030777.
63. Kolyva S., Triga M., Kritikou D., Chrysis D. The effect of feeding patterns on serum zonulin levels in infants at 3–4 months of age. *European Journal of Pediatrics*. 2021 Nov;180(11):3273–8. doi: 10.1007/s00431-021-04102-2.
64. Dr Rachel Reed. The Human Microbiome: considerations for pregnancy, birth and early mothering. April 13, 2016
65. Vanuytsel T., Vermeire S., Cleynen I. The role of Haptoglobin and its related protein, Zonulin, in inflammatory bowel disease. *Tissue barriers*. 2013;1(5): e27321. doi: 10.4161/tisb.27321.
66. Birna Asbjornsdottir, Heiddis Snorraddottir et al. Zonulin-Dependent Intestinal Permeability in Children Diagnosed with Mental Disorders: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2020 Jul 3;12(7):1982. doi: 10.3390/nu12071982.
67. Esnafoglu E. et al. Increased serum zonulin levels as an intestinal permeability marker in autistic subjects. *The Journal of pediatrics*. 2017;188):240–244. doi: 10.1016/j.jpeds.2017.04.004.
68. Özyurt G. et al. Increased zonulin is associated with hyperactivity and social dysfunctions in children with attention deficit hyperactivity disorder. *Comprehensive psychiatry*. 2018;87):138–142. doi: 10.1016/j.comppsy.2018.10.006.
69. Maget A. et al. Sex differences in zonulin in affective disorders and associations with current mood symptoms. *Journal of Affective Disorders*. 2021;294):441–446. doi: 10.1016/j.jad.2021.07.021.
70. Bruce R. Stevens, Ruby Goel et al. Increased human intestinal barrier permeability plasma biomarkers zonulin and FABP2 correlated with plasma LPS and altered gut microbiome in anxiety or depression. *Gut*. 2018 Aug;67(8):1555–1557. doi: 10.1136/gutjnl-2017-314759.
71. Nouri M., Bredberg A., Weström B., Lavasani S. Intestinal barrier dysfunction develops at the onset of experimental autoimmune encephalomyelitis, and can be induced by adoptive transfer of auto-reactive T cells. *PLoS one*. 2014 Sep 3;9(9): e106335 doi: 10.1371/journal.pone.0106335.
72. Moreno-Navarrete J.M., Sabater M., Ortega F., Ricart W., Fernandez-Real J. M. Circulating zonulin, a marker of intestinal permeability, is increased in association with obesity-associated insulin resistance. *PLoS one*. 2012 May 18;7(5): e37160. doi: 10.1371/journal.pone.0037160.
73. Żak-Gołąb A., Kocelak P., Aptekorz M. et al. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. *International journal of endocrinology*. 2013 Oct;2013 doi: 10.1155/2013/674106.
74. Zhang D., Zhang L., Zheng Y., Yue F., Russell R. D., Zeng Y. Circulating zonulin levels in newly diagnosed Chinese type 2 diabetes patients. *Diabetes research and clinical practice*. 2014 Nov 1;106(2):312–8. doi: 10.1016/j.diabres.2014.08.017.
75. Jayashree B., Bibin Y.S., Prabhu D., Shanthirani C.S., Gokulakrishnan K., Lakshmi B.S., Mohan V., Balasubramanyam M. Increased circulatory levels of lipopolysaccharide (LPS) and zonulin signify novel biomarkers of proinflammation in patients with type 2 diabetes. *Molecular and cellular biochemistry*. 2014 Mar;388:203–10. doi: 10.1007/s11010-013-1911-4.
76. Pacifico L., Bonci E., Marandola L., Romaggioli S., Bascetta S., Chiesa C. Increased circulating zonulin in children with biopsy-proven nonalcoholic fatty liver disease. *World Journal of Gastroenterology: WJG*. 2014 Dec 12;20(45):17107. doi: 10.3748/wjg.v20.i45.17107.
77. Klaus D.A., Motal M.C., Burger-Klepp U. et al. Increased plasma zonulin in patients with sepsis. *Biochemia medica*. 2013 Feb 15;23(1):107–11. doi: 10.11613/BM.2013.013.
78. Skardelly M., Armbruster F. P., Meixensberger J., Hilbig H. Expression of zonulin, c-kit, and glial fibrillary acidic protein in human gliomas. *Translational oncology*. 2009 Sep 1;2(3):117–20. doi: 10.1593/tlo.09115.
79. Serrano-Villar S., Sainz T., Ma Z.M. et al. Effects of combined CCR5/integrase inhibitors-based regimen on mucosal immunity in HIV-infected patients naïve to antiretroviral therapy: a pilot randomized trial. *PLoS pathogens*. 2016 Jan 21;12(1): e1005381. doi: 10.1371/journal.ppat.1005381.
80. Zachary M. Slifer, B Radha Krishnan et al. Larazotide acetate: a pharmacological peptide approach to tight junction regulation. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*. 2021 Jun 1;320(6): G983–G989. doi: 10.1152/ajpgi.00386.2020.
81. Meters Biopharma, Inc. Larazotide. Orally-administered, gut-restricted tight-junction regulator for celiac disease. Pipeline (Online), 2020, <https://9meters.com/pipeline> <https://ichgcp.net/clinical-trials-registry/NCT03569007>
82. Slifer Z.M., Krishnan B. R., Madan J., Blikslager A. T. Larazotide acetate: A pharmacological peptide approach to tight junction regulation. *American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology*. 2021 Jun 1;320(6): G983–9. doi: 10.1152/ajpgi.00386.2020.
83. Paterson B.M., Lammers K.M. et al. The safety, tolerance, pharmacokinetic and pharmacodynamic effects of single doses of AT-1001 in coeliac disease subjects: a proof of concept study. *Aliment Pharmacol Ther*. 2007 Sep 1;26(5):757–66. doi: 10.1111/j.1365-2036.2007.03413.x.
84. Shobha Gopalakrishnan et al. Larazotide acetate regulates epithelial tight junctions in vitro and in vivo. *Peptides*. 2012 May;35(1):86–94. doi: 10.1016/j.peptides.2012.02.015.
85. Daniel A Leffler, Ciaran P Kellym et al. Larazotide acetate for persistent symptoms of celiac disease despite a gluten-free diet: a randomized controlled trial. *Gastroenterology*. 2015 Jun;148(7). doi: 10.1053/j.gastro.2015.02.008.
86. Lael M. Yonker, Zoe Swank et al. Zonulin Antagonist, Larazotide (AT1001), As an Adjuvant Treatment for Multisystem Inflammatory Syndrome in Children: A Case Series. *Crit Care Explor*. 2022 Feb 18;10(2): e0641. doi: 10.1097/CCE.0000000000000641.
87. Di Micco S., Musella S., Sala M. et al. Peptide Derivatives of the Zonulin Inhibitor Larazotide (AT1001) as Potential AntiSARS-CoV-2: Molecular Modelling, Synthesis and Bioactivity Evaluation. *International Journal of Molecular Sciences*. 2021; doi: 10.3390/ijms22179427.
88. Jeremy D. Johnson, Katherine Cocker, Elisabeth Chang. Infantile Colic: Recognition and Treatment. *Am Fam Physician*. 2015 Oct 1;92(7):577–82. PMID: 26447441.
89. Amy A. Gelfand Infant Colic. *Semin Pediatr Neurol*. 2016 Feb;23(1):79–82. doi: 10.1016/j.spen.2015.08.003.
90. Valerie Sung. Infantile colic. *Aust Prescr*. 2018 Aug;41(4):105–110. doi: 10.18773/austprescr.2018.033.

91. Banks J.B., Rouster A.S., Chee J. Colic. [Updated 2022 Aug 1]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. PMID: 33760546.
92. Anna Pärty, Marko Kalliomäki, Seppo Salminen, Erika Isolauri. Infantile Colic Is Associated With Low-grade Systemic Inflammation. *J Pediatr Gastroenterol Nutr.* 2017 May;64(5):691–695. doi: 10.1097/MPG.0000000000001340.
93. Khasanova S.S., Kamilova A. T. Dynamics of fecal zonulin values in premature children of the first two weeks of life. *Rossiyskiy Vestnik Perinatologii i Pediatrii.* 2019;64(2):52–56. (in Russ.) doi: 10.21508/1027-4065-2019-64-2-52-56.
Хасанова С. С., Камилова А. Т. Динамика значений фекального зонулина у недоношенных детей первых двух недель жизни. *Российский вестник перинатологии и педиатрии.* 2019;64(2):52–56. doi: 10.21508/1027-4065-2019-64-2-52-56.
94. Gurova M.M. Infantile colic from the perspective of evidence-based medicine: prevalence, principles of differential diagnosis and diet therapy algorithm. *Meditsinskiy sovet = Medical Council.* 2019;(17):147–155. (In Russ.) doi: 10.21518/2079-701X-2019-17-147-155.
Гурова М. М. Младенческая колика с позиций доказательной медицины: распространенность, принципы дифференциальной диагностики, алгоритм выбора диетотерапии. *Медицинский Совет.* 2019;(17):147–155. doi: 10.21518/2079-701X-2019-17-147-155.
95. Siel Daelemans, Linde Peeters et al. Recent advances in understanding and managing infantile colic. *F1000Res.* 2018 Sep 7;7: F1000 Faculty Rev-1426. doi: 10.12688/f1000research.14940.1.
96. Lucas Scheffler, Alyce Crane et al. Widely Used Commercial ELISA Does Not Detect Precursor of Haptoglobin2, but Recognizes Properdin as a Potential Second Member of the Zonulin Family. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018 Feb 5;9:22. doi: 10.3389/fendo.2018.00022.