

УДК 612.33:616.34.018.7:612.017:616-053.43

DOI: 10.34215/1609-1175-2019-4-5-9

## Плотные межклеточные контакты и зонулин в формировании оральной толерантности и пищевой аллергии

Н.Г. Приходченко, Т.А. Шуматова, Л.А. Григорян, А.В. Гордеев

*Тихоокеанский государственный медицинский университет, Владивосток, Россия*

Обзор публикаций, посвященных молекулярным основам кишечной проницаемости и патологическим изменениям, которые приводят к ее нарушению. Рассматриваются существующие представления о кишечном барьере, плотных контактах (tight joints, TJ) и кишечной проницаемости в норме и патологии. Особое внимание уделено молекулярным основам плотных контактов, раскрыта роль нарушения регуляции компонентов TJ-комплекса в формировании оральной толерантности и пищевой аллергии. Показано, что оценка состояния кишечного эпителиального барьера может быть важным диагностическим критерием для контроля над течением заболевания и эффективностью лечения.

**Ключевые слова:** *tight joints, зонулин, проницаемость кишечника, пищевая аллергия*

Поступила в редакцию 25.07.2019 г. Принята к печати 01.10.2019 г.

**Для цитирования:** Приходченко Н.Г., Шуматова Т.А., Григорян Л.А., Гордеев А.В. Плотные межклеточные контакты и зонулин в формировании оральной толерантности и пищевой аллергии. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2019;4:5–9. doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-5-9

**Для корреспонденции:** Приходченко Нелли Григорьевна – канд. мед. наук, доцент Института педиатрии ТГМУ (690002, г. Владивосток, пр-т Острякова, 2), ORCID: 0000-0002-2106-2572; e-mail: prikhodchenko\_n@mail.ru

## Tight joints and zonulin in the formation of oral tolerance and food allergy

N.G. Prikhodchenko, T.A. Shumatova, L.A. Grigoryan, A.V. Gordeets

*Pacific State Medical University, Vladivostok, Russia*

**Summary:** The study represents a review of publications covering molecular entity of intestinal permeability and changes causing its disorders. The current concepts on intestinal barrier, tight joints (TJ) and intestinal permeability under normal and pathological conditions are covered. Special attention has been given to molecular unions of tight joints; a role of dysregulation of the components of the TJ complex in the formation of oral tolerance and food allergy is disclosed. It is shown that the assessment of the intestinal epithelial barrier condition can be a significant diagnostic criterion to control the disease and to assess the effectiveness of treatment.

**Keywords:** *tight joints, zonulin, intestinal permeability, food allergy*

Received: 25 July 2019; Accepted: 1 October 2019

**For citation:** Prikhodchenko NG, Shumatova TA, Grigoryan LA., Gordeets A.V. Tight joints and zonulin in the formation of oral tolerance and food allergy. *Pacific Medical Journal*. 2019;4:5–9. doi: 10.34215/1609-1175-2019-4-5-9

**Corresponding author:** Nelli G. Prihodchenko, MD, PhD, associate professor, Institute of Pediatrics, Pacific State Medical University (2 Ostryakova Ave., Vladivostok, 690002, Russian Federation); ORCID: 0000-0002-2106-2572; e-mail: prikhodchenko\_n@mail.ru

В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что желудочно-кишечный тракт – не только орган пищеварения, но и важное звено иммунитета [1–7]. Особенность его функционирования обусловлена воздействием многочисленных антигенов внешней среды, большой площадью контактов с ними (у детей около 200 м<sup>2</sup>), необходимостью сохранения равновесия между защитными реакциями против антигенных субстанций и патогенных микроорганизмов и толерантностью к питательным компонентам и комменсальной флоре [2, 8–11]. В настоящее время многие механизмы толерантности расшифрованы благодаря экспериментальным работам на животных и клиническим исследованиям. Ключевую роль в формировании оральной толерантности отводят состоянию кишечного барьера и регулированию молекулярной проницаемости

между просветом кишечника и подслизистой оболочкой [12–14]. Особый интерес вызывают молекулярные основы кишечной проницаемости и патологические изменения, которые приводят к ее изменениям при пищевой аллергии.

Кишечный барьер выстлан эпителием слизистой оболочки, содержащим муцин, иммуноглобулины и различные биоактивные пептиды [2, 15]. Это сложная многослойная система, состоящая из «статического» эпителиального и «динамического» функционального (просветная микробиота и муцин, а также антимикробные пептиды, цитокины и другие биологически активные вещества, секретируемые в просвет кишечника) барьеров [9, 14, 17–19]. Статический барьер представлен клетками кишечного эпителия, постоянно взаимодействующими друг с другом через сложную

систему межклеточных контактов [19, 20]. Среди этих контактов выделяют плотные (tight joints, TJ), которые регулируют межклеточный транспорт и предотвращают диффузию мембранных белков, адгезивные (adherens joints, AJ), которые связывают актиновый цитоскелет примыкающих друг к другу клеток, десмосомы, соединяющие промежуточные филаменты соседних клеток, и щелевые контакты, обеспечивающие прямой перенос ионов и небольших молекул [21].

Плотные контакты представляют собой мультипротеиновые комплексы, они образуют избирательно проницаемые уплотнения между апикальными и базолатеральными мембранными доменами эпителиальных клеток [18], что позволяет попадать в это пространство только мелким молекулам массой менее 500 Да и исключает проникновение антигенных белков и бактерий. Тем самым плотные контакты поддерживают целостность кишечного барьера [20]. Были охарактеризованы четыре интегральных трансмембранных белка, входящих в TJ-комплексы: окклюдины, клаудины, молекулы адгезии и трицеллюлин [21–25]. Внутриклеточные домены этих трансмембранных белков связаны с белками цитозольных каркасов, такими как белки апикальной части клеток ZO-1, ZO-2, ZO-3 (от лат. – *zonula occludens*), которые служат мостиками к цитоскелетным филаментам актина и миозина [26]. Эти белки взаимодействуют с актиновым цитоскелетом, что имеет решающее значение для поддержания структуры плотных контактов и целостности эпителиального барьера [27, 28].

Эпителий кишечника считается одной из наиболее динамичных тканей в организме человека и находится в нестойком равновесии для соблюдения баланса между пролиферацией стволовых клеток крипт, и отмиранием клеток, расположенных на поверхности ворсин [29]. На кончиках ворсинок и эпителиальной поверхности полностью дифференцированные клетки подвергаются апоптозу и отторгаются в просвет кишечника [30]. Аналогичным образом кишечный эпителий восстанавливает целостность после любой травмы или повреждения: возрождение эпителия (реорганизация смежных клеток и формирование плотных контактов) и заживление ран (созревание и дифференцировка стволовых элементов и миграция клеток) [30].

Однако процесс клеточного отторжения может потенциально поставить под угрозу целостность кишечного барьера. Недавние исследования показали, что в физиологических условиях умирающая клетка сигнализирует окружающим клеткам о сокращении структуры актомиозина [31]. Это обнаруживается чувствительным к растяжению каналом Пьезо, что приводит к перераспределению белков TJ-комплекса для кратковременного уплотнения зазора, оставленного умирающей клеткой [32]. Данный механизм кажется очень надежным, однако в условиях повышенной пролиферации перераспределяющиеся белки плотных

контактов не всегда успевают заполнить дефект. Это часто наблюдается, когда отторгается более одной эпителиальной клетки, и остается слишком большой зазор [29]. Повышенная проницаемость кишечника у новорожденных и детей первых месяцев жизни, вероятно, связана именно с высоким пролиферативным потенциалом кишечника. Структурные изменения белков плотных контактов могут происходить также при повреждении эпителиальных клеток, например, при бактериальных или паразитарных инфекциях, метаболических или воспалительных нарушениях. Причиной апоптоза эпителиоцитов становятся *Helicobacter pylori*, энтерогеморрагический шигаподобный токсин и липополисахарид *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Citrobacter* или *Giardia* [1, 33]. Так, семейство Rho ферментов Guanosine Triphosphate hydrolase (GTPases) – ключевая молекула во внутриклеточной сигнальной связи актина – может быть инактивировано бактериальными продуктами (например, *Clostridium difficile* и *Clostridium botulinum*), что приводит к реорганизации F-актина в кольцо актомиозина и изменении белковых структур плотных контактов [34]. Показано, что каспазы (клеточные протеины, участвующие в каскаде апоптоза) могут непосредственно повреждать эти белки [24].

Хотя знания о строении плотных контактов и внутриклеточных сигнальных событиях в течение последнего десятилетия значительно расширились, об их патофизиологической регуляции известно относительно мало. Открытие токсина *zonula occludens* (Zot) – энтеротоксина, экспрессируемого *Vibrio cholerae*, который обратимо открывает плотные контакты, расширило понимание сложных механизмов, регулирующих проницаемость кишечника [35]. Zot представляет собой одну полипептидную цепь массой 44,8 кДа, кодируемую бактериофагом холерного токсина, присутствующим в токсигенных штаммах *V. cholerae*. Его действие опосредуется через каскад внутриклеточных реакций, которые приводят к полимеризации актиновых микрофиламентов и последующей «разборке» плотных контактов [35]. Многочисленные исследования показали, что Zot регулирует TJ-соединения быстрым, обратимым и воспроизводимым образом. Комбинация аффинно очищенных antiZot-антител позволила идентифицировать гомолог Zot кишечника человека, который обозначается как зонулин [27, 36]. Реконбиантный зонулин показал ожидаемое повышение проницаемости слизистой оболочки двенадцатиперстной и тонкой кишок при тестировании *ex vivo*. Повышенная проницаемость сохранялась в течение 24 часов после воздействия зонулина и возвращалась к исходному уровню через 48 часов [37].

Физиологическая роль системы зонулина окончательно не установлена, однако не вызывает сомнения, что он задействован в регулировании плотных контактов, ответственных за перемещение жидкости, макромолекул и лейкоцитов через кишечный барьер.

Чрезмерная активация продукции зонулина, как по длительности, так и по выраженности, может приводить к избыточному и нерегулируемому повышению проницаемости эпителиального пласта.

В ряде исследований выявили нарушение состояния плотных контактов кишечника и дисрегуляцию компонентов TJ-комплекса, включая работу окклюдина, клаудинов и молекул адгезии при различных заболеваниях кишечника [14, 36, 37]. В экспериментальных моделях на животных, а также в клинических исследованиях, пищевая аллергия описывалась как процесс, связанный с явным нарушением функции кишечного барьера и повышением кишечной проницаемости [1, 4, 38].

V. Di Leo et al. [39] подвергли образец биоптата тонкой кишки воздействию аллергена *in vitro* и показали снижение уровня экспрессии TJ-белков (окклюдина и клаудина). Однако подобный эффект не обнаружился у здоровых людей после нагрузки антигеном [39]. Авторы сделали вывод, что именно нагрузка антигеном у сенситизированных лиц приводит к повышению кишечной проницаемости. В эксперименте на культуре клеток кишечного эпителия D.M. Wisner et al. [40] продемонстрировали, что интерлейкины 4 и 13 снижали трансэпителиальную проницаемость и селективно повышали апикально-базальное проникновение некоторых крупных белков (в частности, пероксидазы хрена). Было также показано, что интерлейкин-4 повышает продукцию клаудина-2, что прямо коррелирует с выраженностью кишечной проницаемости [39]. Установлено и участие фосфатидил-инозитол-3-киназы в усилении эпителиальной кишечной проницаемости в эксперименте [41]. Описано прямое влияние на архитектуру TJ-протеаз и воспалительных цитокинов, высвобождающихся при активации тучных клеток. Так, химаза содержимого гранул тучных клеток увеличивает проницаемость кишечника и поглощение интактных антигенов через поврежденный кишечный барьер в экспериментальной модели на мышах [42]. Кроме того, протеаза-1 тучных клеток деградирует окклюдин TJ-комплекса и приводит к повышенной проницаемости эпителия при нематодозах [43]. Протеины плотных и адгезивных межклеточных контактов прямо связаны с внутриклеточным кольцом актомиозина, при этом киназа легких цепей миозина индуцирует фосфорилирование легкой цепи миозина II, тем самым влияя на структуру и функционирование соединительных белков [44, 45]. Эта киназа вызывает реорганизацию актина, окклюдина и ZO-1, что приводит к межклеточному потоку незаряженных макромолекул [46]. Известно, что она служит эффектором провоспалительных цитокинов, и ее экспрессия индуцируется фактором некроза опухоли- $\alpha$  [44], а ингибирование киназы легких цепей миозина может привести к потере барьерных функций в присутствии этого фактора. В эксперименте было продемонстрировано, что повышение экспрессии фактора некроза

опухоли- $\alpha$ ,  $\gamma$ -интерферона и интерлейкинов 10 и 13 в слизистой оболочке кишечника у мышей приводило к повышению уровня киназы легких цепей миозина и увеличивало кишечную проницаемость [31, 46].

В некоторых работах продемонстрировано, что глиадин – основной белок пшеницы – вызывает усиленную продукцию зонулина [36, 38, 47]. Глиадин связывается с хемокиновым рецептором CXCR<sub>3</sub> на эпителиальных клетках кишечника, чтобы инициировать увеличение проницаемости через MyD88-зависимый выброс зонулина, что приводит к свободному прохождению глиадина и других пищевых антигенов к субэпителиальным отделам слизистой оболочки [38]. У генетически предрасположенных к аллергии лиц глиадин может привлечь и стимулировать другие CXCR<sub>3</sub>-экспрессирующие элементы, в том числе  $\gamma\delta$ T-клетки,  $\alpha\beta$ T-клетки CD3<sup>+</sup>/CD8<sup>+</sup> и NK-клетки, что активирует целый каскад иммунных реакций и способствует сенситизации при пищевой аллергии [47].

Другие исследования показали повышение проницаемости кишечника у детей и взрослых, страдающих пищевой аллергией, которая сохранялась даже при соблюдении элиминационной диеты [12, 19, 43]. Так, M.T. Ventura et al. [43], используя тест на лактулозу/маннозу, измерили кишечную проницаемость у 21 пациента с пищевой аллергией и у 20 пациентов с пищевой гиперчувствительностью, которые находились на диете в течение 6 месяцев, и обнаружили трехкратное увеличение ее уровня по сравнению с 40 здоровыми людьми. Проницаемость кишечника положительно коррелировала с тяжестью симптомов. Другие авторы использовали тот же тест для исследования кишечной проницаемости у 131 ребенка с пищевой аллергией и в 38% случаев обнаружили повышенную проницаемость, даже при соблюдении строгой элиминационной диеты [19].

Несмотря на то, что связь между проницаемостью кишечного барьера и развитием пищевой аллергии не вызывает сомнений, остается не вполне ясным, какое событие происходит раньше. В экспериментальных исследованиях продемонстрировано, что хронический психологический стресс повышает трансмембранное проникновение белков из просвета кишечника и предрасполагает животных к сенситизации орально поступающим антигеном [19]. E.E. Forbes et al. [42] установили, что стимуляция тучных клеток повышает проницаемость кишечника и способствует сенситизации оральным антигеном предрасположенных мышей, но кишечную сенситизацию удается предотвратить, используя стабилизаторы тучных клеток (на основе кромоглициевой кислоты), которые блокируют их активность и тем самым снижают кишечную проницаемость. В эксперименте на модели аллергического воспаления дыхательных путей было доказано, что повторное интратрахеальное применение протеолитически активного PenC13 (основного антигена, секретируемого грибами *Penicillium citrinum*)

приводит к повреждению плотных связей между эпителиальными клетками и способствует развитию респираторной сенсибилизации [1]. В настоящее время интерес к состоянию кишечной проницаемости в отношении ее участия в генезе аллергических заболеваний возрастает.

Оценка *in vivo* функции кишечного барьера и его проницаемости у людей в настоящее время возможна с использованием биомаркеров целостности эпителия: в экспериментальных условиях проводятся гистологические исследования и сканирующая электронная микроскопия [48]. Тем не менее существуют значительные ограничения в методах оценки этого признака в клинической практике, так как большинство из них связаны с трудоемкими и/или инвазивными процедурами и неприменимы для человека, особенно в детском возрасте. Использование неинвазивных биомаркеров, которые могут точно оценить функцию кишечного барьера и целостность эпителия в биологических субстратах, было бы полезным инструментом для прогнозирования течения заболевания и оценки эффективности терапии при пищевой аллергии, а также других расстройствах, связанных с барьерной дисфункцией кишечника [49, 50].

**Конфликт интересов:** авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

**Источник финансирования:** авторы заявляют о финансировании проведенного исследования из собственных средств.

#### Литература / References

1. Боровик Т.Э., Макарова С.Г., Яцык Г.В., Степанова Т.Н., Грибакин С.Г. Роль нарушений барьерной функции кишечника в развитии пищевой аллергии у детей. *Вопросы современной педиатрии*. 2013;12(2):12–9. [Borovik TE, Makarova SG, Yatsyk GV, Stepanova TN, Gribakin SG. The role of intestinal barrier function disorders in the development of food allergy in children. *Questions of Modern Pediatrics*. 2013;12(2):12–9 (In Russ.).]
2. Марьянович А.Т. Кишечный барьер, микробиота, микробиом. *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2016;2:64–9. [Marianovich AT. Intestinal barrier, microbiota, microbiome. *Experimental and Clinical Gastroenterology*. 2016;2:64–9 (In Russ.).]
3. Шахова Н.В., Камалтынова Е.М., Лобанов Ю.Ф. Факторы риска аллергических заболеваний среди детей дошкольного возраста. *Российский аллергологический журнал*. 2018;1:55–62. [Shakhova NV, Kamaltynova EM, Lobanov YuF. Risk factors of allergic diseases among preschool children. *Russian Allergological Journal*. 2018;1:55–62 (In Russ.).]
4. Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Зернова Е.С., Григорян Л.А., Катенкова Э.Ю. Оценка состоятельности кишечного барьера у детей с гастроинтестинальной пищевой аллергией. *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2017;62(4):137. [Shumatova TA, Prikhodchenko NG, Zernova ES, Grigoryan LA, Kotenkova EY. Evaluating the viability of the intestinal barrier in children with gastrointestinal food allergies. *Russian Journal of Perinatology and Pediatrics*. 2017;62(4):137 (In Russ.).]
5. Chang J, Leong RW, Wasinger V, Ip M, Yang M, Phan TG. Impaired intestinal permeability contributes to ongoing bowel symptoms in patients with inflammatory bowel disease and mucosal healing. *Gastroenterology*. 2017;153: 723–31.
6. Shen L, Turner JR. Role of epithelial cells in initiation and propagation of intestinal inflammation. Eliminating the static: Tight junction dynamics exposed. *Am J Physiol*. 2006;290:577–82.
7. Vivinus-Nebot M, Frin-Mathy G, Bziouche H. Functional bowel symptoms in quiescent inflammatory bowel diseases: Role of epithelial barrier disruption and low-grade inflammation. *Gut*. 2014;63:744–52.
8. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2010;1:92–100. [Bondarenko VM, Ryabichenko EV. The role of intestinal barrier dysfunction in maintaining chronic inflammatory process of different localization. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2010;1:92–100 (In Russ.).]
9. Макарова С.Г., Боровик Т.Э., Яцык Г.В., Звонкова Н.Г. Барьерная функция кишечника при пищевой аллергии у детей раннего возраста и возможности использования специализированных смесей на основе аминокислот. *Российский аллергологический журнал*. 2011;5:59–65. [Makarova SG, Borovik TE, Yatsyk GV, Zvonkova ND. Barrier function of the intestine in food allergy in young children and the possibility of using specialized mixtures based on amino acids. *Russian Allergological Journal*. 2011;5:59–65 (In Russ.).]
10. Hager CL, Ghannoum MA. The microbiome: Role in health and disease, and as a potential probiotic target in gastrointestinal disease. *Dig Liver Dis*. 2017;49:1171–6.
11. Turner JR. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol*. 2009;9:799–809.
12. Arrieta MC, Bistritz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut*. 2006;55:1512–20.
13. Kiela PR, Ghishan FK. Physiology of intestinal absorption and secretion. *Best Pract Res Clin Gastroenterol*. 2016;30:145–59.
14. Quigley EMM. Leaky gut – concept or clinical entity? *Curr Opin Gastroenterol*. 2016;32(2):74–79.
15. Antoni L, Nuding S, Wehkamp J, Stange EF. Intestinal barrier in inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol*. 2014;20(5):1165–79.
16. Бондаренко В.М., Рябиченко Е.В. Роль дисфункции кишечного барьера в поддержании хронического воспалительного процесса различной локализации. *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии*. 2010;1:92–100. [Bondarenko VM, Ryabichenko EV. The role of intestinal barrier dysfunction in maintaining chronic inflammatory process of different localization. *Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunobiology*. 2010;1:92–100 (In Russ.).]
17. Cunningham KE, Turner JR. Myosin light chain kinase: Pulling the strings of epithelial tight junction function. *Ann NY Acad Sci*. 2012;1258:34–42.
18. Krug SM, Schulzke JD, Fromm M. Tight junction, selective permeability, and related diseases. *Semin Cell Dev Biol*. 2014; 36:166–76.
19. Odenwald MA, Turner JR. The intestinal epithelial barrier: A therapeutic target? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(1):9–21.
20. Lee SH. Intestinal permeability regulation by tight junction: Implication on inflammatory bowel diseases. *Intest Res*. 2015; 13(1):11–8.
21. Goswami P, Das P, Verma AK. Are alterations of tight junctions at molecular and ultrastructural level different in duodenal biopsies of patients with celiac disease and Crohn's disease? *Virchows Arch*. 2014;465:521–30.
22. Laukoetter MG, Nava P, Lee WY. JAM-A regulates permeability and inflammation in the intestine in vivo. *J Exp Med*. 2007;204:3067–76.
23. Liu JJ, Kay TM, Davis EM. Epithelial cell extrusion zones observed on confocal laser endomicroscopy correlates with immunohistochemical staining of mucosal biopsy samples. *Dig Dis Sci*. 2016;61:1895–902.

24. Poritz LS, Harris IL, Kelly AA, Koltun WA. Increase in the tight junction protein claudin-1 in intestinal inflammation. *Dig Dis Sci*. 2011;56:2802–9.
25. Raleigh DR, Marchiando AM, Zhang Y. Tight junction–associated MARVEL proteins Marvel D3, tricellulin, and occludin have distinct but overlapping functions. *Mol Biol Cell*. 2010;21:1200–13.
26. Tian S, Guo R, Wei S, Kong Y, Wei X, Wang W, et al. Curcumin protects against the intestinal ischemia-reperfusion injury: involvement of the tight junction protein ZO-1 and TNF- $\alpha$  related mechanism. *Korean J Physiol Pharmacol*. 2016;20:147–152.
27. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev*. 2011;91(1):151–75.
28. Tripathi A, Lammers KM, Goldblum S. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106(39):16799–804.
29. Gunther C, Neumann H, Neurath MF, Becker C. Apoptosis, necrosis and necroptosis: cell death regulation in the intestinal epithelium. *Gut*. 2013;62:1062–71.
30. Heller F, Fromm A, Gitter AH, Mankertz J, Schulzke JD. Epithelial apoptosis is a prominent feature of the epithelial barrier disturbance in intestinal inflammation: Effect of pro-inflammatory interleukin-13 on epithelial cell function. *Mucosal Immunol*. 2008;1:S58–61.
31. Su L, Nalle SC, Shen L, Turner ES, Singh G, Breskin LA, et al. TNFR2 activates MLCK-dependent tight junction dysregulation to cause apoptosis-mediated barrier loss and experimental colitis. *Gastroenterology*. 2013;145:407–15.
32. Shen L. Myosin light chain phosphorylation regulates barrier function by remodeling tight junction structure. *J Cell Sci*. 2006;119:2095–106.
33. Cangemi R, Pignatelli P, Carnevale R, Bartimoccia S, Nocella C, Falcone M, et al. SIXTUS Study Group Low-grade endotoxemia, gut permeability and platelet activation in community-acquired pneumonia. *J Infect*. 2016;73:107–14.
34. Chang J, Leong RW, Wasinger VC. Impaired intestinal permeability contributes to ongoing bowel symptoms in patients with inflammatory bowel disease and mucosal healing. *Gastroenterology*. 2017;153:723–31.
35. Tripathi A, Lammers KM, Goldblum S. Identification of human zonulin, a physiological modulator of tight junctions, as prehaptoglobin-2. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2009;106:16799–804.
36. Lammers KM, Lu R, Brownley J. Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR $_3$ . *Gastroenterology*. 2008;135:194–204.
37. Edelblum KL, Turner JR. The tight junction in inflammatory disease: Communication breakdown. *Curr Opin Pharmacol*. 2009;9:715–20.
38. Drago S, El Asmar R, Di Pierro M, Clemente MG, Sapone ATA, Thakar M, et al. Gliadin, zonulin and gut permeability: Effects on celiac and non-celiac intestinal mucosa and intestinal cell lines. *Scand J Gastroenterol*. 2006;41:408–19.
39. Di Leo V, Yang PC, Berin MC, Perdue MH. Factors regulating the effect of IL-4 on intestinal epithelial barrier function. *Int Arch Allergy Immunol*. 2012;129(3):219–27.
40. Wisner DM, Harris III LR, Green CL, Poritz LS. Opposing regulation of the tight junction protein claudin-2 by interferon- $\gamma$  and interleukin-4. *J Surg Res*. 2008;144(1):1–7.
41. Arrieta MC, Bistriz L, Meddings JB. Alterations in intestinal permeability. *Gut*. 2006;55:1512–20.
42. Forbes EE, Groschwitz K, Abonia JP. IL-9-mediated mast cell-mediated intestinal permeability predisposes to oral antigen hypersensitivity. *J Exp Med*. 2008;205(4):897–913.
43. Ventura MT, Polimeno L, Amoruso AC. Intestinal permeability in patients with adverse reactions to food. *Dig Liver Dis*. 2006;38:732–6.
44. Wang F, Graham WV, Wang Y. Interferon- $\gamma$  and tumor necrosis factor- $\alpha$  synergize to induce intestinal epithelial barrier dysfunction by up-regulating myosin light chain kinase expression. *Am J Pathol*. 2015;166:409–19.
45. Su L, Nalle SC, Shen L. TNFR2 activates MLCK-dependent tight junction dysregulation to cause apoptosis-mediated barrier loss and experimental colitis. *Gastroenterology*. 2013;145:407–15.
46. Thomas KE, Sapone A, Fasano A, Vogel SN. Gliadin stimulation of murine macrophage inflammatory gene expression and intestinal permeability are MyD88-dependent: role of the innate immune response in celiac disease. *J Immunol*. 2006;176:2512–21.
47. Шуматова Т.А., Приходченко Н.Г., Ни А.Н. Зонулин, фактор некроза опухоли- $\alpha$  и оксид азота в диагностике IgE-зависимой и IgE-независимой пищевой аллергии у детей. *Тихоокеанский медицинский журнал*. 2017;2:18–20. [Shumatova TA, Prihodchenko NG, Nee AN. Zonulin, tumor necrosis factor- $\alpha$  and nitric oxide in the diagnosis of IgE-dependent and IgE-independent food allergy in children. *Pacific Medical Journal*. 2017;2:18–20 (In Russ.)].
48. Rasmussen DN, Karstensen JG, Riis LB. Confocal laser endomicroscopy in inflammatory bowel disease – A systematic review. *J Crohn's Colitis*. 2015;9:1152–9.
49. Grootjans J, Thuijls G, Verdam F. Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World J Gastrointest Surg*. 2010;2:61–9.
50. Thuijls G, Derikx JPM, de Haan J. Urine-based detection of intestinal tight junction loss. *Journal of Clinical Gastroenterology*. 2010;44:14–9.