

## БИОХИМИЯ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2023

Зыбина Н.Н.<sup>1</sup>, Старосельская Н.А.<sup>1</sup>, Салаянова Е.П.<sup>2</sup>, Карамышева Е.И.<sup>2</sup>, Скворцова Т.А.<sup>3</sup>, Никонов Е.Л.<sup>3</sup>, Стилиди И.С.<sup>4</sup>, Кушлинский Н.Е.<sup>4</sup>

### ЗОНУЛИН СЫВОРОТКИ КРОВИ У ПАЦИЕНТОВ С ЗАБОЛЕВАНИЯМИ КИШЕЧНИКА

<sup>1</sup>ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России, 197082, Санкт-Петербург, Россия;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Московский государственный медико-стоматологический университет им. А.И. Евдокимова» Минздрава РФ, 127473, Москва, Россия;

<sup>3</sup>ФГАОУ ВО Российский национальный исследовательский медицинский университет им. Н.И. Пирогова Минздрава РФ, 117977, Москва, Россия;

<sup>4</sup>ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава РФ, 115522, Москва, Россия

Представлены данные обследования 75 пациентов (28 мужчин и 47 женщин) в возрасте от 19 до 84 лет с функциональными расстройствами кишечника: функциональной диспепсией (ФД;  $n=15$ ), синдромом раздраженного кишечника (СРК;  $n=39$ ) и с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК;  $n=21$ ). Группу контроля составили 62 практически здоровых донора в возрасте от 20 до 66 лет. Содержание пептидов семейства зонулина в сыворотке крови больных и здоровых доноров определяли методом ИФА наборами ZONULIN ELISA (Immundiagnostic AG, Германия). Для всех пациентов выполняли биохимические исследования на биохимическом анализаторе UniCel DxС 600 (Beckman Coulter, США), клинический анализ крови – на гематологическом анализаторе UniCel DxH 800 (Beckman Coulter, США). Концентрацию кальпротектина в кале определяли методом ИФА с использованием набора RIDASCREEN Calprotectin (R-Biopharma AG, Германия). Бактериологические исследования проводили с использованием готовых питательных сред «Биомедиа» (Россия) и бактериологического анализатора Vites-2 (bioMerieux, Франция). Данные биохимического и клинического анализа крови не различались в группах пациентов с заболеваниями кишечника, у большинства обследованных лиц не выходили за пределы референсных интервалов, что свидетельствует об отсутствии на этапе обследования признаков метаболических нарушений. В группе контроля содержание зонулина сыворотки крови составило 34,3 [24,4; 46,1] нг/мл и было значимо выше у доноров в возрасте старше 50 лет. Повышенные уровни зонулина по сравнению с контрольной группой и больными ФД ( $p<0,05$ ) выявлены у пациентов с СРК и ВЗК (49,8 [41,9; 60,2] и 52,0 [49,6; 66,9] нг/мл соответственно). При этом группы обследованных пациентов не различались по возрасту, полу, ИМТ, параметрам клинического и биохимического анализа крови. Высокие значения зонулина сыворотки крови были ассоциированы только с повышенным уровнем кальпротектина и существенно сниженным содержанием ферритина у больных СРК и ВЗК. Бактериологическое исследование показало более низкие значения зонулина при выявлении у пациентов всех групп патогенной и условно-патогенной флоры. Не выявлено различий в уровне зонулина в зависимости от наличия хеликобактерной инфекции и сопутствующей желудочно-кишечной патологии. Полученные результаты указывают на то, что повышенные уровни зонулина у больных СРК и ВЗК не обусловлены сопутствующей патологией, ожирением, сахарным диабетом, возрастом, а связаны только с воспалительным процессом в кишечнике, что позволяет утверждать о зонулине сыворотки крови как маркере нарушения проницаемости гастроинтестинального барьера.

Ключевые слова: зонулин; функциональная диспепсия; синдром раздраженного кишечника; воспалительными заболеваниями кишечника; сыворотка крови.

**Для цитирования:** Зыбина Н.Н., Старосельская Н.А., Салаянова Е.П., Карамышева Е.И., Скворцова Т.А., Никонов Е.Л., Стилиди И.С., Кушлинский Н.Е. Зонулин сыворотки крови у пациентов с заболеваниями кишечника. *Клиническая лабораторная диагностика*. 2023; 68(10): 582-587. .

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-10-582-587>.

**Для корреспонденции:** Зыбина Наталья Николаевна, д-р биол.наук, проф., зав. отделом лабораторной диагностики ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины имени А.М. Никифорова» МЧС России; e-mail: [zybinan@inbox.ru](mailto:zybinan@inbox.ru)

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 20.07.2023

Принята к печати 24.08.2023

Опубликовано 00.10.2023

Zybina N.N.<sup>1</sup>, Staroselskaya N.A.<sup>1</sup>, Salyanova E.P.<sup>2</sup>, Karamysheva E.I.<sup>2</sup>, Skvortsova T.A.<sup>3</sup>, Nikonov E.L.<sup>3</sup>, Stilidi I.S.<sup>4</sup>, Kushlinskiy N.E.<sup>4</sup>

SERUM ZONULIN IN PATIENTS WITH INTESTINAL DISEASES

<sup>1</sup>A.M. Nikiforov All-Russian Center for Emergency and Radiation Medicine Ministry of Emergency Situations of Russia, 197082, St. Petersburg, Russia;

<sup>2</sup>A.I. Evdokimov Moscow State University of Medicine and Dentistry Ministry of Health of the Russian Federation, 127473, Moscow, Russia;

<sup>3</sup>N.I. Pirogov Russian National Research Medical University Ministry of Health of the Russian Federation, 117977, Moscow, Russia;

<sup>4</sup>N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology Ministry of Health of the Russian Federation, 115522, Moscow, Russia

Data from a survey of 75 patients (28 men and 47 women) aged 19 to 84 years with functional bowel disorders are presented: functional dyspepsia (FD; n=15), irritable bowel syndrome (IBS; n=39) and inflammatory bowel diseases (IBD; n=21). The control group consisted of 62 practically healthy donors aged 20 to 66 years. The content of zonulin family peptides in the blood serum of patients and healthy donors was determined by ELISA using ZONULIN ELISA kits (Immundiagnostic AG, Germany). For all patients, biochemical studies were performed on a UniCel DxH 800 hematological analyzer (Beckman Coulter, USA), a clinical blood test was performed on a UniCel DxH 800 hematological analyzer (Beckman Coulter, USA). The concentration of calprotectin in feces was determined by ELISA using the RIDASCREEN Calprotectin kit (R-Biopharma AG, Germany). Bacteriological studies were carried out using ready-made nutrient media "Biomedica" (Russia) and bacteriological analyzer Vitec-2 (bioMerieux, France). The data of biochemical and clinical blood tests did not differ in the groups of patients with intestinal diseases; in most of the examined individuals, they did not go beyond the reference intervals (table), which indicates the absence of signs of metabolic disorders at the examination stage. In the control group, the content of zonulin in blood serum was 34.3 [24.4; 46.1] ng/ml and was significantly higher in donors over the age of 50 years. Elevated levels of zonulin compared with the control group and patients with FD ( $P < 0.05$ ) were found in patients with IBS and IBD (49.8 [41.9; 60.2] and 52.0 [49.6; 66.9] ng/ml, respectively). At the same time, the groups of examined patients did not differ in age, sex, BMI, parameters of clinical and biochemical blood tests. High serum zonulin values were associated only with elevated calprotectin levels and significantly reduced ferritin levels in patients with IBS and IBD. A bacteriological study showed lower values of zonulin when pathogenic and opportunistic flora were detected in patients of all groups. There were no differences in the level of zonulin depending on the presence of *Helicobacter pylori* infection and concomitant gastrointestinal pathology. The obtained results indicate that elevated levels of zonulin in patients with IBS and IBD are not due to concomitant pathology, obesity, diabetes mellitus, age, but are associated only with the inflammatory process in the intestine, which allows us to state that serum zonulin is a marker of impaired gastrointestinal barrier permeability.

**Key words:** zonulin; functional dyspepsia; irritable bowel syndrome; inflammatory bowel disease; blood serum.

**For citation:** Zybina N.N., Staroselskaya N.A., Salyanova E.P., Karamysheva E.I., Skvortsova T.A., Nikonov E.L., Stilidi I.S., Kushlinskii N.E. Serum zonulin in patients with bowel disease. *Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics)*. 2023; 68 (10): 582-587.

DOI: <https://doi.org/10.51620/0869-2084-2023-68-10-582-587>.

**For correspondence:** Zybina Natalia Nikolaevna, Doctor of Biological Sciences, Professor, Department of Clinical Laboratory Diagnostics;

e-mail: [zybinan@inbox.ru](mailto:zybinan@inbox.ru)

#### Information about authors:

Zybina N.N.,	<a href="https://orcid.org/0000-0002-5422-2878">https://orcid.org/0000-0002-5422-2878</a> ;
Staroselskaya N.A.,	<a href="https://orcid.org/0009-0009-0462-7621">https://orcid.org/0009-0009-0462-7621</a> ;
Salyanova E.P.,	<a href="https://orcid.org/0000-0001-2345-6789">https://orcid.org/0000-0001-2345-6789</a> ;
Karamysheva E.I.,	<a href="https://orcid.org/0000-0001-2345-6789">https://orcid.org/0000-0001-2345-6789</a> ;
Skvortsova T.A.,	<a href="https://orcid.org/0000-0002-2079-0439">https://orcid.org/0000-0002-2079-0439</a> ;
Nikonov E.L.,	<a href="https://orcid.org/0000-0003-3021-6534">https://orcid.org/0000-0003-3021-6534</a> ;
Stilidi I.S.,	<a href="https://orcid.org/0000-0002-0493-1166">https://orcid.org/0000-0002-0493-1166</a> ;
Kushlinskii N.E.	<a href="https://orcid.org/0000-0002-3898-4127">https://orcid.org/0000-0002-3898-4127</a> .

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

Received 20.07.2023

Accepted 24.08.2023

Published 00.10.2023

**Введение.** В последние годы пристальный интерес исследователей привлекает проблема нарушения проницаемости кишечного барьера [1]. Последний участвует в патогенезе различных заболеваний [2]. Однако особое внимание привлекает неиммунный компонент этого процесса и, в частности, белки, влияющие на функционирование межклеточных плотных контактов (tight junctions – TJ). Прорывом в понимании молекулярных механизмов регуляции кишечной проницаемости и ее роли в норме и при различных

заболеваниях послужило открытие человеческого гомолога, продуцируемого *Vibrio cholerae* токсина Zot (zonula occludens toxin) [3, 4], изучение которого внесло важный вклад в понимание связи между нарушением проницаемости кишечного барьера и механизмами развития ряда заболеваний. Зонулин стал первым и пока единственным известным белком млекопитающих, модулирующим функциональную активность TJ, в основном за счет их ослабления, приводящего к увеличению проницаемости кишечной стенки [5].

Среди всех белков выделяют зонулин, который представляет белок с молекулярной массой около 50 кДа и входит в число 40-50 белков, формирующих TJ между эпителиальными клетками, ограничивающих межклеточный транспорт.

Повышенная секреция зонулина обнаружена, в частности, после воздействия, патогенных, условно-патогенных и непатогенных штаммов бактерий [6]. Увеличение проницаемости кишечного барьера способствует проникновению в кровотоки патогенных агентов, стимулирующих развитие воспалительных и аллергических реакций [7]. Нарушение целостности эпителиального пласта и увеличение его проницаемости способствуют адгезии большого количества различных антигенов и сенсибилизации организма к заболеваниям, ассоциированным с изменением плотности TJ [3]. Выделяют несколько наиболее важных групп таких патологий: хронические воспалительные заболевания кишечника - синдром раздраженного кишечника, болезнь Крона [8], некротический энтероколит [9]; аллергические и аутоиммунные заболевания - целиакия [10], сахарный диабет 1 типа [11], аутоиммунный гепатит [12], системная красная волчанка [13]; заболевания, связанные с нарушением TJ при метаболических патологиях: ожирение/резистентность к инсулину [14], в том числе неалкогольная жировая инфильтрация печени [15], сахарный диабет 2 типа [16].

Цель настоящего исследования – определить влияние на содержание зонулина сыворотки крови различных факторов клинического течения заболевания и параметров метаболизма у пациентов с функциональными и воспалительными заболеваниями кишечника.

**Материал и методы.** Обследовали 75 пациентов (28 мужчин и 47 женщин) в возрасте от 19 до 84 лет с функциональными расстройствами кишечника: функциональной диспепсией (ФД;  $n=15$ ), синдромом раздраженного кишечника (СРК;  $n=39$ ) и с воспалительными заболеваниями кишечника (ВЗК;  $n=21$ ). Группу контроля составили 62 практически здоровых донора в возрасте от 20 до 66 лет.

Содержание пептидов семейства зонулина в сыворотке крови определяли методом ИФА наборами ZONULIN ELISA (Immundiagnostic AG, Германия) в соответствии с инструкциями производителя. В наборе используются поликлональные антитела, основанные на последовательности зонулина, опубликованной в работах [17, 18]. Измерения проводили на полуавтоматическом иммуноферментном анализаторе ВЕР 2000 Advance (Siemens, США). Содержание маркера выражали в нг/мл сыворотки крови. Аналитическая чувствительность составляет 0,183 нг/мл; перекрестной реакции с человеческим НР не выявлено.

Для всех пациентов выполняли биохимические исследования на биохимическом анализаторе UniCel DxС 600 (Beckman Coulter, США), клинический анализ крови – на гематологическом анализаторе UniCel DxH 800 (Beckman Coulter, США). Концентрацию кальпротектина в кале определяли методом ИФА с использованием набора RIDASCREEN Calprotectin (R-Biopharma AG, Германия). Бактериологические

исследования проводили с использованием готовых питательных сред «Биомедиа» (Россия) и бактериологического анализатора Vitec-2 (bioMerieux, Франция).

Полученные данные обрабатывали в программах Statistica 7.0 (StatSoft, Inc.) и SPSS Statistics 21 (IBM). При сравнении показателей и анализе их взаимосвязей использовали непараметрические критерии Манна-Уитни, Краскела-Уоллиса, тест корреляции рангов Спирмена. Различия и корреляции считали значимыми при  $p<0,05$ .

**Результаты и обсуждение.** При клиническом и инструментальном обследовании 75 пациентов с заболеваниями кишечника у 60 выявлен гастрит, ассоциированный с *Helicobacter pylori* инфекцией. Полипы и дивертикулярная болезнь толстой кишки выявлены у 9 и 15 пациентов соответственно. В группе обследованных не было пациентов с сахарным диабетом, заболеваниями щитовидной железы и целиакией.

При бактериологическом исследовании кала на выявление качественного и количественного состава микрофлоры кишечника наличие патогенной и условно-патогенной флоры обнаружено у половины обследованных пациентов, при этом снижение содержания *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. обнаружили у 35% пациентов с заболеваниями кишечника.

Данные биохимического и клинического анализов крови не различались в группах пациентов с заболеваниями кишечника и у большинства обследованных не выходили за пределы референсных интервалов (см. таблицу), что свидетельствует об отсутствии на этапе обследования признаков метаболических нарушений. Не выявлено также различий в индексе массы тела (ИМТ).

В группе контроля содержание зонулина сыворотки крови составило 34,3 [24,4; 46,1] нг/мл и было выше у доноров в возрасте старше 50 лет. Повышенные уровни зонулина по сравнению с контрольной группой и пациентами с ФД ( $p<0,05$ ) выявили у больных СРК и ВЗК (49,8 [41,9; 60,2] и 52,0 [49,6; 66,9] нг/мл соответственно). При этом группы обследованных пациентов не различались по возрасту, полу, ИМТ, параметрам клинического и биохимического анализов крови. Высокие значения зонулина сыворотки крови были ассоциированы только с повышенным уровнем кальпротектина и существенно сниженным содержанием ферритина у пациентов с СРК и ВЗК. Бактериологическое исследование показало более низкие значения зонулина в сыворотке крови при обнаружении у пациентов всех групп патогенной и условно-патогенной флоры, которое составило у пациентов при отсутствии патогенной флоры 52,5 [43,6; 66,9] нг/мл, а при выявлении патогенной флоры – 40,8 [34,5; 49,7] нг/мл ( $p<0,05$ ). При снижении содержания *Bifidobacterium* spp. и *Lactobacillus* spp. не было обнаружено увеличения содержания зонулина в сыворотке крови. Не выявлено различий в уровне зонулина в зависимости от наличия хеликобактерной инфекции и сопутствующей желудочно-кишечной патологии.

Полученные результаты указывают на то, что повышенные уровни зонулина у больных СРК и ВЗК не обусловлены сопутствующей патологией, ожире-

нием, сахарным диабетом, возрастом, а были связаны только с воспалительным процессом в кишечнике, а также, возможно, с тяжестью заболевания, о чем свидетельствует связь возрастания концентрации зонулина в сыворотке крови с повышенным уровнем кальпротектина и выраженностью железодефицит-

ной анемии с формированием дефицита ферритина. Это позволяет более уверенно утверждать о зонулине сыворотки крови как маркере нарушения проницаемости гастроинтестинального барьера у пациентов с функциональными и воспалительными заболеваниями кишечника.

Клинико-лабораторные данные обследованных групп больных  
(медиана [Q1;Q3])

Показатель	Пациенты с заболеваниями кишечника		
	Функциональная диспепсия	Синдром раздраженного кишечника	Воспалительные заболевания кишечника
Возраст, годы	36 [28; 50,0]	42,0 [35,0; 52,0]	40,0 [32,0; 56,0]
ИМТ, 18,5-25,0	23,6 [21,3; 29,4]	23,0 [19,7; 25,6]	26,9 [25,2; 27,8]
Эритроциты, 4,0-5,5 10 <sup>12</sup> /л	4,5 [4,3; 4,8]	4,4 [4,1; 4,6]	4,7 [4,4; 5,0]
Гемоглобин, жен. 120-145, муж. 130-170 г/л	142 [136; 149]	136 [130; 146]	142 [136; 153]
Лейкоциты, 4-9 10 <sup>9</sup> /л	7,2 [6,4; 8,2]	6,2 [4,9; 6,9]	7,0 [5,7; 8,2]
Лимфоциты, 19-37%	35,0 [21; 40,0]	35,0 [30,0; 38,0]	33,0 [30,0; 38,0]
Моноциты, 3-11%	7,0 [6,0; 11,0]	8,0 [6,0; 9,0]	8,0 [6,0; 9,0]
Тромбоциты, 150-400 10 <sup>9</sup> /л	289 [214; 323]	261 [235; 296]	298 [241; 336]
ТТГ, 0,4-4,0 мМЕ/л	1,5 [0,63; 2,3]	1,5 [1,3; 2,7]	1,5 [1,45; 1,6]
Общий белок, 60-86 г/л	70,5 [68,0; 74]	72,0 [70,4; 75]	71,5 [68,0; 75]
Глюкоза, 3,5-5,8 ммоль/л	5,7 [5,4; 6,3]	5,4 [4,9; 5,8]	5,4 [4,7; 5,9]
Билирубин, 0-20 мкмоль/л	14,0 [11,0; 24,1]	11,5 [8,8; 16,0]	11,0 [7,8; 13,0]
АЛТ, 0-50 Е/л	16,0 [13,0; 23,0]	17,0 [15,0; 21,0]	23,0 [18,0; 25,5]
Креатинин, 50-115 мкмоль/л	63,5 [53,5; 81,0]	69,0 [57,0; 78,0]	78,0 [65,0; 82,5]
Ферритин, 20-200 мкг/л	73,1 [69,7; 76,5]	29,0 [18,0; 50,0]*	12,0 [8,9; 48,5]*
СРБ, < 6,0 мг/л	1,7 [1,0; 3,6]	1,0 [1,0; 1,7]	1,2 [1,0; 4,2]
Кальпротектин, < 50 мкг/г	26,8 [11,3; 115,5]	73,4 [12,0; 208,0]*	212 [43,0; 365,0]*

Примечание. \* - p<0,05 по сравнению с группой пациентов с функциональной диспепсией.

Противоречивые результаты нами получены при анализе взаимосвязи бактериальной микрофлоры кишечника с уровнем сывороточного зонулина, при котором наиболее высокие значения зонулина сыворотки крови обнаружены при отсутствии патогенной микрофлоры в кале пациентов с заболеваниями кишечника. Для выяснения этого вопроса необходим дополнительный анализ с определением видового состава микрофлоры кишечника. Возможно, также, более выраженное влияние на повышение concentra-

ции зонулина сыворотки крови у пациентов обследованной группы аутоиммунного поражения слизистой кишечника.

**Заключение.** Определение клинической значимости зонулина сыворотки крови при заболеваниях кишечника требует дополнительных исследований и заслуживает дальнейшего изучения в качестве диагностического и прогностического показателя, а возможно и мишени для зонулин-направленной терапии [19].

ЛИТЕРАТУРА (п.п. 1, 2, 4-19 см. REFERENCES)

3. 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):31-8. DOI: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-31-38.

REFERENCES

1. Allaire J.M., Crowley S.M., Law H.T., Chang S.Y., Ko H.J., Vallance B.A. The intestinal epithelium: central Coordinator of Mucosal Immunity. *Trends Immunol.* 2018; 39(9):677-96. DOI: 10.1016/j.it.2018.04.002.  
 2. Serek P., Oleksy-Wawrzyniak M. The Effect of Bacterial Infections, Probiotics and Zonulin on Intestinal Barrier Integrity. *Int. J. Mol. Sci.*

- 2021; 22(21):11359. DOI: 10.3390/ijms222111359.
3. Khavkin A.I., Bogdanova N.M., Novikova V.P. The biological role of zonulin and the effectiveness of its use as a biomarker of the syndrome of increased intestinal permeability. *Rossiyskiy vestnik perinatologii i pediatrii*. 2021; 66(1):31-8. DOI: 10.21508/1027-4065-2021-66-1-31-38. (in Russian)
  4. 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. DOI: 10.1152/physrev.00003.2008.
  5. Fasano A. Zonulin, regulation of tight junctions, and autoimmune diseases. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 2012; 1258(1):25-33. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06538.x.
  6. Asmar R., Panigrahi P., Bamford P., Berti I., Not T., Coppa G.V. et al. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology*. 2002; 123(5):1607-15. DOI: 10.1053/gast.2002.36578.
  7. Barmeyer C., Schulzke J.D., Fromm M. Claudin-related intestinal diseases. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2015; 42:30-8. DOI: 10.1016/j.semcdb.2015.05.006.
  8. Marafini I., Monteleone I., Di Fusco D., Cupi M.L., Paoluzi O.A., Colantoni A. et al. TNF- $\alpha$  Producing Innate Lymphoid Cells (ILCs) Are Increased in Active Celiac Disease and Contribute to Promote Intestinal Atrophy in Mice. *PLoS ONE*. 2015; 10(5):e0126291. DOI: 10.1371/journal.pone.0126291. eCollection 2015.
  9. Ling X., Linglong P., Weixia D., Hong W. Protective Effects of Bifidobacterium on Intestinal Barrier Function in LPS-Induced Enterocyte Barrier Injury of Caco-2 Monolayers and in a Rat NEC Model. *PLoS ONE*. 2016; 11(8):e0161635. DOI: 10.1371/journal.pone.0161635. eCollection 2016.
  10. Hollon J., Pappa E.L., Greenwald B., Goldberg E., Guerrerero A., Fasano A. Effect of gliadin on permeability of intestinal biopsy explants from celiac disease patients and patients with non-celiac gluten sensitivity. *Nutrients*. 2015; 7(3):1565-76. DOI: 10.3390/nu7031565.
  11. Sapone A., De Magistris L., Pietzak M., Clemente M.G., Tripathi A., Cucca F. Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type 1 diabetes and their relatives. *Diabetes*. 2006; 55(5):1443-9. DOI: 10.2337/db05-1593.
  12. Lin R., Zhou L., Zhang J., Wang B. Abnormal intestinal permeability and microbiota in patients with autoimmune hepatitis. *Int. J. Clin. Exp. Pathol.* 2015; 8(5):5153-60. PMID: 26191211.
  13. Pavón E.J., Muñoz P., Lario A., Longobardo V., Carrascal M., Abián J., Martín A.B. et al. Proteomic analysis of plasma from patients with systemic lupus erythematosus: Increased presence of haptoglobin  $\alpha 2$  polypeptide chains over the  $\alpha 1$  isoforms. *Proteomics*. 2006; 6 (Suppl.1):S282-92. DOI: 10.1002/pmic.200500404.
  14. Zak-Golab A., Kocelak P., Aptekorz M., Zientara M., Juszczyk L., Martirosian G., Chudek J., Olszanecka-Glinianowicz M. Gut microbiota, microinflammation, metabolic profile, and zonulin concentration in obese and normal weight subjects. *Int. J. Endocrinol.* 2013; 2013:674106. DOI: 10.1155/2013/674106.
  15. 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 J. Gastroenterol.* 2014; 20(45):17107-14. DOI: 10.3748/wjg.v20.i45.17107.
  16. 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 Res. Clin. Pract.* 2014; 106(2):312-8. DOI: 10.1016/j.diabres.2014.08.017.
  17. Wang W., Uzzau S., Goldblum S.E., Fasano A. Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions. *J. Cell. Sci.* 2000; 113(24):4435-40. DOI: 10.1242/jcs.113.24.4435.
  18. Di Pierro M., Lu R., Uzzau S., Wang W., Margaretten K., Pazzani C., Maimone F., Fasano A. Zonula occludens toxin structure-function analysis. Identification of the fragment biologically active on tight junctions and of the zonulin receptor binding domain. *J. Biol. Chem.* 2001; 276(22):19160-5. DOI: 10.1074/jbc.M009674200.
  19. Hensley-McBain T., Manuzak J.A. Zonulin as a biomarker and potential therapeutic target in multisystem inflammatory syndrome in children. *J. Clin. Invest.* 2021; 131(14):e151467. DOI: 10.1172/JCI151467.