

Peensoole barjääri läbilaskvus, seda mõjutada võivad tegurid ja selle määramise meetodid

Mikk Kelder¹, Tamara Vorobjova²

Eesti Arst 2023;
102(9):470–477

Saabunud toimetusse:
03.04.2023
Avaldamiseks vastu võetud:
23.05.2023
Avaldatud internetis:
22.09.2023

¹ Tartu Ülikooli meditsiiniteaduste valdkonna arstiteaduse eriala üliõpilane,
² Tartu Ülikooli bio- ja siirdemeditsiini instituudi immunoloogia osakond

Kirjavahetajaautor:
Mikk Kelder
mikk.kelder@ut.ee

Võtmesõnad:
peensoole läbilaskvus,
peensoole läbilaskvuse määramine, tiheliidused, mikroobioom

Eesti Arstiteadusüliõpilaste Seltsi ja ajakirja Eesti Arst 2022/2023. õppeaasta artiklikonkursile „Minu esimene publikatsioon“ esitatud töö.

Toitainete omandamise seisukohalt on peensool inimkeha olulisim elund. Peensoole läbilaskvus tähendab igasuguste ainete võimet läbida epiteeli, isegi kui neile vastav transpordivalk puudub. Kuivõrd peensoole läbilaskvus on dünaamiline, suuresti mikroobioomist sõltuv ja mitmete haiguseisundite sümptomaatika kujundaja, on oluline osata seda usaldusväärselt määrata ning tulemusi teaduspõhiselt tõlgendada. Selleks kasutatakse eelkõige *in vivo* meetodeid, näiteks sahhariidide manustamisel põhinevaid aktiivseid teste. Alternatiivina on võimalik määrata biomarkerite taset veres, uriinis või roojas. Kasutatavad markerid on näiteks kalprotektiini, zonuliini, tsitrulliini ja klaudiin-3 tasemed, kuid nende puuduseks jääb madal spetsiifilisus, vähene tõendus põhisisu või testidest tulenevad ebatäpsused määramisel.

Talituslikult on peensool elund, mida iseloomustab samaaegne toitainete võimalikult lihtne imendumine ja kahjulike mikroobide invasiooni vältimine. Peensoole läbilaskvus on defineeritav kui igasuguste ainete liikumine soolevalendikust läbi epiteeli ning peensoole häiritud läbilaskvus on soolestiku homöostaasi kadumine, millega kaasnevad funktsionaalsed häired ja haigused (1).

Peensoole läbilaskvuse käsitlemisel on olulisim roll peensoole limaskestast kõige valendikupoolsemal kihil, milleks on valdavalt enterotsüütidest, karikrakkudest, Panethi rakkudest ja endokrinotsüütidest koosnev pinnaepiteel. Kuigi epiteeli rakudevaheliste ühenduste hulka kuuluvad ka desmosoomid ja vöödesmosoomid, on peensoole läbilaskvuse regulatsioonis olulisimal kohal epiteeli paratsellulaarset terviklikkust tagavad tiheliidused. Need on valgulised kompleksid, mille hulka kuuluvad muu hulgas tiheliiduste valgud (*zonula occludens proteins*; ZO-1, ZO-2, ZO-3), okludiinid, klaudiinid, trikuliinid ja tsinguliinid (2).

Üldjuhul kehtib seaduspärasus, et molekulid, millele ei eksisteeri sobivaid transportijaid, pääsevad organismi vaid läbi defektsete tiheliiduste. Seega ongi peensoole läbilaskvuse määramisel põhirõhk tiheliiduste terviklikkusel.

Vaatamata tiheliiduste komplekssele struktuurile ei suuda need vältida sajabrotendilisel soole valendikust mikroobide

ümberpaigutumist organismi. Levinuim viis epiteeli läbimiseks on tavapärase difusioon, kus paratamatult väike protsent võõrantigeene satub transtsellulaarsesse ruumi. Edasi võivad need antigeenid kutsuda esile immuunvastuse, mille käigus sekreteeritavad põletikutsütokiinid põhjustavad edasise läbipääsu tekke. Olulisema mõjuga on tekkida võiv lekkepõhine rada: see on seotud tiheliiduste struktuuri kahjustamisega ning võimaldab suuremate molekulide ja mikroobide tungimist peensoole seinale. Pooripõhise raja teke on eelkõige oluline vee ja ionide voolule ning on seotud tiheliiduste valgulise koostise muutumisega (suurem poore moodustava valgu klaudiin-2 ekspressioon) (1, 3, 4). Lisaks esineb raskeimate haigusprotsesside korral ka neljas – takistamatu – rada, kus epiteel on sedavõrd kahjustunud, et antigeenid sisenevad soole seinale rakusurmast tingitud lünkade kaudu epiteelis (3).

Lisaks otsesele läbipääsule on antigeenide translokatsioon võimalik ka nende esitlemise käigus. See saab toimuda kas mitteprofessionaalselt (kõik epiteelirakud esitavad antigeneid peamiste koosobivuskomplekside koosseisus) või professionaalselt läbi M-rakkude (*microfold cells*), dendriittrakude või karikrakkudeseoseliste koridoride (*goblet cell associated passage*, GAP). Kliinilises praktikas toimub tõenäoliselt just koosobivuskomplekside kaudu toidulistest

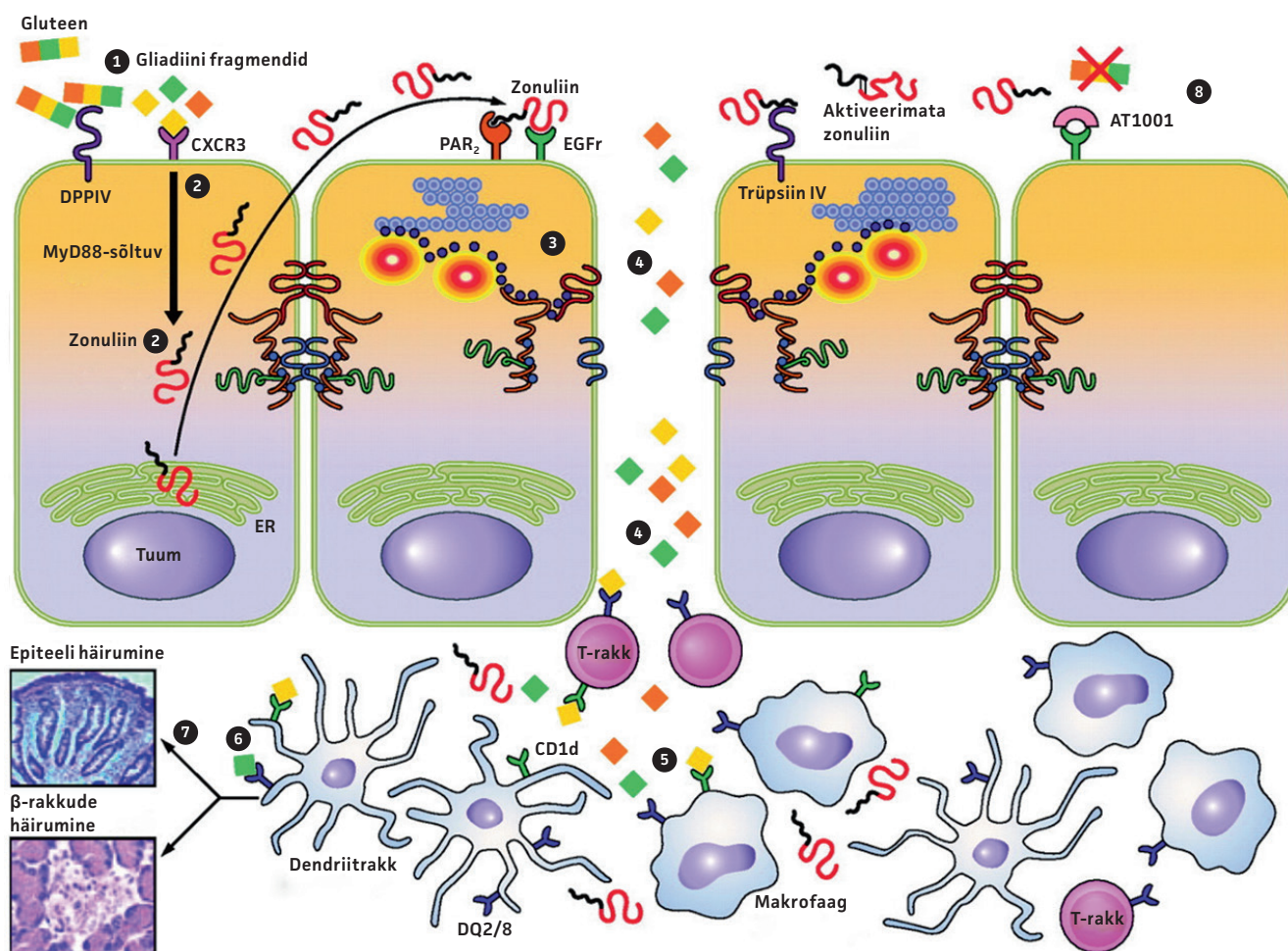
allergeenide presenteerimine ja allergia induksioon, anafülaktiline reaktsioon avaldub aga GAPde kaudu (5, 6).

Soolebarjääri funktsionaalsele toimimisele aitab kaasa karikrakkude produtsereeritav lima, mis lisaks füüsilise barjääri loomisele sisaldab endas mikroobivastaseid aineid ja immuunglobuliine (1, 7). Oluline roll peensoole immunoloogias on ka mikrobioomil. Kuigi praeguseni ei ole määratud ranget raamistikku tervisliku ja ebaterve mikrobioota määratlemiseks, on üldlevinud arvamus, et mida tervem on inimene, seda mitmekesisem on tema mikrofloora (8).

ZONULIINI OLULISUS

Zonuliin on praeguseni ainus teadaolev epiteeli läbilaskvust otseselt reguleeriv valk. Zonuliini sekretsiooni võimsaimateks stiimuliteks on gluteen ja epiteeli laialdane ekspositsioon bakteritele. Zonuliin põhjustab tiheliidustes ZO-1 valkude kahjustumist, mis viib peensoole läbilaskvuse kohese suurenemiseni (vt joonis 1) (9).

Zonuliini füsioloogiline roll on tõenäoliselt läbilaskvuse suurenemise kaudu algatada immuunvastus, et soodustada tolerantsuse teket või kontrollida mikroobide hulka. Küll aga on ebaproportsionaalse zonuliini sekretsiooni korral kroonilise põletiku tekkerisk (9).



Allikas: Fasano, 2011; autori tõlge eesti keelde

Joonis 1. Zonuliini põhjustatud tiheliiduste nõrgenemine tsöliaakia korral: 1) seeedeensüümide abil gluteenist vabanenud gliadiini fragmendid seonduvad rakule; 2) tekib MyD88-st sõltuv zonuliini vabanemine rakust; 3) toimub tiheliiduste kahjustumine; 4) võimendub antigeenide sissevool limaskestas; 5) limaskestas toimub dendriitrakkude poolt antigeenide esitlemine; 6) ja 7) seoses eksogeensete antigeenide suure sissevooluga häiruvad tolerantsusmehhanismid ning antigeene (sh gliadiini) presenteeritakse lümfisõlmedes; 8) uue sissevoolu vältimiseks on vajalik gluteenivaba dieet või zonuliini inhibiitori kasutamine (AT1001).

PEENSOOLE LIMASKESTA LÄBILASKVUST MÕJUTAVAD TEGURID

Üldiselt on soole läbilaskvuse piiramises ja mikroobide translokatsioonis olulisel kohal organismi elustiili ja mikrobioomi vahelised seosed (1). Sellest tulenevalt on peensoole kaitsevõime tagamise üheks väljundiks tasakaalustatud ja tervislik toitumine, mille tulemusena säilib organismis täisväärtuslik mikrobiom. Viimast iseloomustab bakteriaalset päritolu lühikese ahelaga rasvhapete (SCFA, *short chain fatty acids*, näiteks etaanhape, butüraat) küllus, mis avaldub tiheliiduste struktuuri säilitamises, nuumrakkude supressioonis, reguleerivate T-lümfotsüütide tekke soodustamises ja mikroobivastaste peptiidide sekretsiooni stimuleerimises (1, 5). Vastasel korral, toitudes suure energiasaldusega rasvarikkast toidust, muutub mikrobioomi funktsionaalsus, väheneb SCFA hulk sooles, avaneb lekkepõhine antigeenide sissepääs organismi ning kujuneb välja madalatase-meline põletik (11, 12).

Mikrobioomi rolli soolebarjääri säilimises kinnitab pro- ja prebiootikumide manustamisega kaasnev soole läbilaskvuse vähenemine. Näiteks on tiheliiduseid tugevdava toimega *E. coli Nissle 1917* (stimuleerib ZO-2 ja klaudiin-14 ekspressiooni), *Bifidobacterium infantis Y1* (stimuleerib ZO-1 ja okludiini ekspressiooni) ja *Lactobacillus plantarum MB452* (indutseerib okludiini ja tsinguliini geenide transkriptsiooni) (1, 8).

Lisaks patoloogilisele läbilaskvuse suurenemisele võib esineda ka füsioloogilist suurenenud läbilaskvust, näiteks vastsündinutel, kelle esimestel elupäevadel on läbilaskvus oluliselt suurenenud. Kuigi suurem osa peensoole barjäärist „sulgub“ neil esimese elunädala jooksul, areneb soolebarjäär täiskasvanule vastavaks alles esimese eluaasta teiseks pooleks (13). Huvitaval kombel aga ei ole eakatel suurenenud läbilaskvust täheldatud, mis viitab, et tervisliku vananemisega püsib soolebarjäär võrreldavana noore inimesega (14, 15).

PEENSOOLE LIMASKESTA LÄBILASKVUST MÕJUTAVAD HAIGUSSEISUNDID

Haigusseisundid võivad lühiajaliselt või krooniliselt põletikutsütokiinide sekreteerimise kaudu mõjutada epiteeli terviklikkust ja seega peensoole barjääri. Nii on suure-

nenud läbilaskvus läbiv tegur metaboolsetes haigustes, kus ebatervislikust eluviisist tingituna tekib SCFAde defitsiit ja tiheliiduste kahjustumine. Väidet kinnitavad loomkatsed, mille alusel on mittealkohoolse rasvmaksa (NAFLD, *non-alcoholic fatty liver disease*), mittealkohoolse steatohepatiidi (NASH, *non-alcoholic steatohepatitis*) või 2. tüüpi diabeedi (T2D, *type 2 diabetes*) patogeneesis olulisel kohal või isegi põhjuslikuks tekkemehhanismiks suurenenud läbilaskvusest tingitud bakterite ja nende produktide migratsioon maksa ja teistesse kudedesse. Viimane omakorda viitab, et soole suurenenud läbilaskvus ei piirdu lokaalse põletikuga, vaid on võimeline arenema süsteemseks (1).

Crohni tööbe (CD, *Crohn's disease*) iseloomustab krooniline põletik, selle tekkega seostatakse ligi 100 CDd soodustavat geenilookust ning samaväärsel hulgal ka eksogeenseid tegureid, näiteks D-vitamiini või butüraadi defitsiiti. Oluline on, et olene-mata CD tekkemehhanismist iseloomustab haigust peensoole suurenenud läbilaskvus, mis järelikult peab olema CDd põhjustavaks nähtuseks, mitte pelgalt kaasnevaks sümptomiks. Suurenenud läbilaskvuse üheks väljundiks on põletikutsütokiinidest (TNF, INF γ , IL-1 β , IL-13) tingitud tiheliiduste kahjustumine ning lekke- ja pooripõhiste radade avanemine. Ka CD ravis on haigusele omapärane sõltuvus peensoole läbilaskvusest – läbilaskvuse vähendamisega on võimalik CD viia remissiooni ning vastupidi – läbilaskvuse suurendamisega on võimalik süvendada haiguse kliinilist kulgu (1, 16).

Soole ärritussündroomi (IBS, *irritable bowel syndrome*) korral on suurenenud valu-aistingud, madalatase-meline põletik ja soole suurenenud läbilaskvus omavahel seotud. Kuigi IBSi puhul esinev madalatase-meline põletik on soole suurenenud läbilaskvuse alalhoidja, ei ole haiguse algset tekkepõhjust teada. Siiski on leitud diarröa-IBSi vormi puhul, et haiguse sümptomaatika ägedus on otseses seoses peensoole läbilaskvusega ning seega avaldub probiootikumide raviefekt läbilaskvuse vähendamises (1).

Toiduallergiatega lapsi seostatakse väiksema mitmekesisusega mikroflooraga – näiteks esineb vähem *Bacteroidetes*'i, *Bifidobacterium*'i ja *Lactobacillus*'e kolooniaid. Nende bakterite kaitsev roll on märgatav isegi aastaid enne esmaste sümptomite teket, nende toodetavad SCFA

osalevad põletiku allasurumises, nende defitsiidi korral aga esineb toiduliste antigeenide suurem transport limaskestast proopriasse ja sellest tulenev soolebarjääri degradeerumine. Seetõttu ongi atoopiliste haigustega isikutele probiootikumide manustamisel täheldatav sümptomaatika vähenemine (5).

I tüüpi diabeeti (T1D, *type I diabetes*) seostatakse peensoole põletiku, soole suurenenud läbilaskvuse ja vähenenud tolerantsusega toiduantigeenidele. Põletikku seostatakse loomkatsete alusel T1D puhul eelkõige interleukiin-17 tasakaalu häirimisega – madalal tasemel häirub epiteeli parandusvõime, kõrgel tasemel hakkab prevaleerima krooniline põletik. Mõlemad neist on olulised T1D patogeneesis. Siingi on oluline roll mikrobioomil – SCFAsid tootvate bakterite hulk on pöördviimise seoses pankrease β -rakkude autoantikehade tasemega (17).

Sarnaselt T1D-ga on peensoole läbilaskvusel roll ka gestatsioonidiabeedi (GDM, *gestational diabetes mellitus*) tekkes. Nimelt on praeguseks teada, et GDM-i põdenud emadel on keskmiselt seedetraktis vähem sahhariidide metabolismis osalevaid baktereid, aga rohkem mutsiini lagundavaid kolooniaid (18). Ühtlasi on oluline SCFAde hulk sooles, mis (lisaks eeltoodud kasudele) on isu vähendava ja insuliinitundlikkust suurendava toimega. Kuigi probiootikumide mõju kohta veresuhkrule on andmed teaduskirjanduses veel vastandlikud, on teada, et bakteriaalsete produktide (näiteks lipopolüsahhariidid, LPS) esinemisel organismis on põhjuslik roll põletiku, suurema insuliiniresistentsuse ja hüperglükeemia tekkes. Järelikult, tagades suurema tiheleeliduste terviklikkuse, on võimalik vältida nimetatud efektide teket (19, 20).

Kuigi siinkohal on käsitletud eelkõige autoimmuunseid või kroonilisi haigusprotsesse, võivad peensoole läbilaskvust mõjutada ka infektsioonhaigused. Näiteks viirus SARS-CoV-2 häirib antibakteriaalsete peptiidide sünteesi (21), enteroviiruste on aga omane suurendada läbilaskvust immuunvastusega kaasneva interferoonide toime kaudu (22).

PEENSOOLE LIMASKESTA LÄBILASKVUSE MÄÄRAMINE

Peensoole limaskestast läbilaskvuse määramise meetodid jagatakse *in vivo* ja *in vitro*

analüüsideks. *In vitro* meetoditest on ilmselt tuntuim Ussingu kamber, kliinilises praktikas kasutatakse siiski pigem *in vivo* meetodeid, mille läbiviimine on lihtsam ja vähem invasiivne. *In vivo* meetodid jaotatakse omakorda aktiivseteks ja passiivseteks: aktiivsete testide korral mõõdetakse patsiendile eelnevalt manustatud aine sisaldust organismis, passiivsete testide korral määratakse biomarkerite sisaldust otse.

Ussingu kamber põhineb kahe vedelikuruumi eraldamisel epiteeli bioptaadiga ning epiteeli ühendamisest vooluringi, misjärel saab mõõta difusiooni, aktiivset transporti ja metabolismi. Kuna proovis jääb struktuur, ensümaatilise koostis ja transportijate jaotus kehaomaseks, on selle alusel mõõdetud tulemused mudeldatud rakukultuuridest täpsemad (1, 23).

Rohkem kasutatakse Ussingu kambrit teadus- ja arendustöös kontrollmeetodina. Selle eeliseks on läbilaskvuse koefitsientide korreleeruvus inimeste ja teiste imetajate vahel ning see võimaldab laboriloomadel põhinevaid andmeid võrrelda inimesega (23).

Alternatiivina on kasutatav ka mikroskoopia. Kuigi valgusmikroskoopias saab määrata rakkude üldist suurust ja morfoloogiat, on hoopis praktilisem konfokaalne mikroskoopia, mida teostatakse endoskoopilise protseduuri käigus ehk *in vivo*. Konfokaalmikroskoopiaga on patsiendile eelnevalt manustatud fluorestsentsvärvi alusel määratav lünkade sagedus epiteelis (näiteks CD diagnoosimiseks) või on võimalik jälgida intraepiteliaalsete lümfotsüütide aktiivsust ja vedeliku leket läbi epiteeli (oluline mitte-IgE-seoseliste allergiate puhul) (24, 25).

SAHHARIIDIDE TESTID

Peensoole läbilaskvuse määramisel on üsna hästi tuntud sahhariididel põhinevad aktiivsed testid. Nende eeliseks on asjaolu, et jämesooles leiduvad bakterid lagundavad testides kasutatavaid sahhariide ja seega saab määrata konkreetset peensoole läbilaskvust. Kasutatakse seedimatuid oligosahhariide, mis teoorias läbivad epiteeli ja jõuavad vereringesse vaid epiteeli olulisel kahjustumisel. Meetodi täpsustamiseks võrreldakse sahhariidide hulka epiteeli vabalt läbivate väiksemate molekulidega (1).

Säärane peensoolele omane test on laktuloosi ja mannitooli test (L/M), kus laktuloos on vastavalt seedimatu molekul

ning mannitool väiksem, epiteeli vabalt läbiv molekul. Patsiendile manustatakse sahhariide koos ning seejärel määratakse nende suhe uriinis, kasutades kõrgsurvevedelikkromatograafiat ja/või mass-spektrometrit. Sääraselt on määratav suurenenud läbilaskvus atoopiliste haiguste, Crohni tõve ja tsöliaakia korral. Paraku ei saa L/M-i kasutada piiranguteta, kuna mannitooli kasutamine verepreparaatide säilitamisel välistab uuritavate seast vereülekannet saanud isikud ning kuna laktuloosi puuduseks on bioaktiivsus seedetraktis (võime esile kutsuda diarröad) (1, 26).

L/M-i oluliseks puuduseks on veel heterogeensus meetodikates (varieeruvad doosid,

puudulik meetodika kirjeldus, segaselt määratud referentsväärtused ja erinev tulemuste kujutamine), mistõttu pole tihti erinevate asutuste tulemused võrreldavad (27). Sellegipoolest on 2022. aastal Gani ja kaasautorite avaldatud metaanalüüsi kohaselt L/M usaldusväärne meetod terve inimese ja kroonilise haige soolebarjääri eristamiseks isegi siis, kui haigus ei ole parasjagu ägedas faasis (26).

L/M-ist täpsemate tulemuste saamiseks on võimalik kasutada mitmiksuhkru-testi (*the multi sugar test*), kus manustatakse sahhariididena sukroosi, laktuloosi, sukraloosi, erütritooli ja ramnoosi koos. Selliselt on võimalik ühe testiga jälgida peen- ja jämesoole (ning nende alaosa) läbilaskvust eraldi (1).

Tabel 1. Valik peensoole läbilaskvuse biomarkereid ja nende tähendus

Marker	Füsioloogiline koht organismis	Korrelatsioon haigusseisunditega	Allikas
LPS	Peensoole valendikus	Kõrgem tase viitab tõenäolisele bakterite translokatsioonile	1
EndoCAB	Vereplasmas	Postoperatiivselt madalam tase	1
LPB	Vereplasmas	Kõrgem tase viitab suuremale LPSi sisaldusele vereplasmas	28
Tsitruilliin	Enterotsüütides	Madalam tase viitab peensoole epiteeli kahjustusele	29
I-FABP	Tühisoole enterotsüütides	Kõrgem tase viitab peensoole epiteeli kahjustumisele seoses soole verevarustushäire või nekrotiseeriva enterokoliidiga	1
I-BABP	Niudesoole enterotsüütides	Analoogne I-FABP-ga	1
Zonuliin	Seedetrakti epiteelis	Kõrgem tase viitab peensoole läbilaskvuse tõusule, universaalne mitmetele haigusseisunditele	9
Klaudiin-3	Mitmete elundite epiteelides	Kõrgem tase viitab peensoole tiheliiduste kahjustusele seoses CD ja tsöliaakiaga	30
Kalprotektiin	Mitmete leukotsüütide tsütoplasmas	Kõrgem tase viitab sooles toimuvale immuunreaktsioonile	31
α-GST	Maksas, neerudes, peen- ja jämesooles	Kõrgem tase võib viidata soole verevarustushäirele	32
ASCA	Vereplasmas	Olemasolu viitab seedetrakti haiguse olemasolule või suuremale riskile haigestuda, eelkõige seos CD, T1D ja tsöliaakiaga	33

LPS – lipopolüsahhariid; EndoCAB – endotoksiinivastane antikeha; LPB – lipopolüsahhariidiga seonduv valk; I-FABP – tühisoolele omane rasvhappeseoseline valk; I-BABP – niudesoolele omane rasvhappeseoseline valk; CD – Crohni tõbi; α-GST – alfa-glutatiooni S-transferaas; ASCA – pagarpärmivastane antikeha; T1D – I tüüpi diabeet

BIOMARKERID

Soolebarjääri läbilaskvuse hindamiseks on võimalik ka passiivne mõõtmine, kus määratakse markerühendite kogus ilma patsiendiga manipuleerimata. Selle eelised on kiirus ning puuduv risk maksa- ja neerutoksilisuse tekke suhtes (1). Kokkuvõtvalt on tabelis 1 toodud enam levinud peensoole läbilaskvust hindavad biomarkerid.

Bakteriaalse LPSi taseme otsene määramine on siiani tehniliselt keeruline sobivate meetodite vähesuse tõttu. Üheks võimaluseks on krabiiliigi odasaba vererakkude test (*limulus ameocyte lysate assay*), kus LPSi segamisel vererakkudega toimub registreeritav reaktsioon (34). Potentsiaalseks lahenduseks on ka kasutada endotoksiinivastaste antikehade (EndoCAB, *endotoxin core antibody*) määramist, kuid praeguse seisuga puudub tõendusmaterjal, et EndoCAB tase korreleeruks suurenenud läbilaskvusega (1).

LPSi määramise asemel on määratav ka LPSiga seonduv valk (LPB, *lipopolysaccharide binding protein*), mille tase veres korreleerub L/M-i tulemustega, olenemata uuritava kehakaalust, vanusest ja soost. Puuduseks aga LPB, EndoCAB-i ja LPSi määramisel on vähene spetsiifilisus – markerite kõrge-
nenud tase võib olla tingitud soolevälisest bakteriaalsest infektsioonist (28).

Vereplasmast on määratav ka tsitruilliini tase, mis korreleerub positiivselt enterotsüütide hulga ehk madalam tase vereplasmas viitab limaskestast kahjustusele. Näiteks on madalamal tsitruilliini tasemel seos nekrotiseeriva koliidi, lühikese soole sündroomi, enterotsüütide atroofia, keemiaravi ja ägeda

infektsiooniga. Ühtlasi on see enterotsüütide hulgaga korreleerumise tõttu efektiivne marker seedetraktis imenduvate toitainete koguste hindamiseks (29).

Rasvhappeseoselised valgud (FABP, *fatty acid binding protein*) on veel üks võimalus peensoole terviklikkuse hindamiseks perifeersest verest. Seedetraktis esinevad näiteks I-FABP (tühisooles), L-FABP (maksas, neerus, sooles) ja I-BABP (niudesooles) ning nende taset saab mõõta ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) testiga. Normaalse FABP tase viitab enterotsüütide füsioloogilisele uuenumiskiirusele, kõrge tase aga epiteeli liigsele kahjustumisele. FABPde eeliseks on nende erinev jaotuvus mööda soolestikku, mistõttu saab alatüüpide määramisega täpsemalt kindlaks teha kahjustuse asukoha (1, 35).

Uudne läbilaskvuse näitaja on ka zonuliini tase vereplasmas, mis haigusmarkerina on küllaltki universaalne – suurema tasemega seostatavad seisundid on näiteks kõrge vanus, ülekaalulisus, NAFLD, GDM, T1D, hüperlipideemia, tsöliaakia, autism ja nekrotiseeriv enterokoliit. Zonuliini määramisel on aga probleemiks kasutatavate

ELISA-testide vähene spetsiifilisus zonuliini suhtes ehk tulemuste mittekattumine mass-spektromeetriaga (9, 36).

Glutatiooni S-transferaasi (GST) perekonda kuuluvaid ensüüme leidub enamikus organismi rakkudest. Neerudele, maksale ja soolele on omased α -klassi GSTd ning nende kõrgem tase on potentsiaalne epiteelikahtlaste näitaja. Siiski pole praeguste teadmiste alusel α -GST efektiivne marker krooniliste protsesside kulu hindamiseks sooles, pigem võib tavapärasest kõrgem tase viidata mesenteriaalarteri verevarustushäirele (31, 37).

Klaudiin-3 on tiheliiduseid tugevdav valk, selle taset määratakse venoossest verest või uriinist ELISA-meetodiga ning see korreleerub negatiivselt inimese tiheliiduste seisundiga – haiguse ägedamas faasis on klaudiin-3 tase normaalväärtustest kõrgem. Huvitaval kombel on klaudiin-3-ga määratav ka psoriaasi ja areataalopeetsia korral kaasnev läbilaskvuse suurenemine (30, 38). Klaudiin-3 puuduseks jääb selle vähene spetsiifilisus, kuna nimetatud valku leidub ka muudes epiteelpindades, näiteks maos ja hingamisteedes (34, 39).

Tabel 2. Valik patoloogilisi seisundeid ja mikrobioomi seos nendega

Seisund	Bakterid, mille osakaal suureneb	Bakterid, mille osakaal väheneb	Allikas
Füsioloogiline stress	<i>Peptostreptococcus, Staphylococcus, Peptoniphilus, Acidaminococcus, Fusobacterium</i>	<i>Bacteroides, Faecalibacterium, Collinsella, Roseburia</i>	42
IBS	<i>Clostridium, Ruminococcus, Dorea</i>	<i>Ruminococcus albus, R. callidus, Bacteroides fragilis, B. vulgates</i>	43
Crohni tõbi	<i>Neisseriaceae corrodens, Pasteurellaceae, Veillonella parvula, E. coli</i>	<i>Faecalibacterium prausnitzii, Roseburia</i>	43
Alkoholism	<i>Streptococcus, Enterobacteriaceae, Proteobacteria</i>	<i>Faecalibacterium, Akkermansia, Bacteroides</i>	44
NAFLD	<i>E. coli</i>		43
Ülekaalulisus	<i>Porphyromonas, Campylobacter, Bacteroides, Staphylococcus, Parabacteroides, Dialister, Ruminococcus</i>	<i>Lactobacillus, Bifidobacterium, Faecalibacterium, Akkermansia, Methanobrevibacter, Coprococcus</i>	43
T1D	<i>Bacteroidetes</i> , butüraati ja laktaati produtseerivad bakterid	Bakterite üldine mitmekesisus väheneb	43
T2D	<i>Proteobacteria, Bacteroidetes, Firmicutes</i>		43
Allergia	<i>Staphylococcus aureus, Prevotellaceae</i>	<i>Bacteroidetes, Lactobacillus, Bifidobacterium</i>	5
Gestatsioonidiabeet	<i>Prevotellaceae</i>	<i>Firmicutes</i>	18

IBS – soole ärritussündroom; NAFLD – mittealkohoolne rasvmaks; T1D – I tüüpi diabeet; T2D – II tüüpi diabeet

Kvalitatiivsete markeritena on kasutatavad pagaripärmivastased antikehad (ASCA, *anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies*). ASCAd tekivad vastusena seene rakuseinas asuvale mannaanile, kuid neid esineb paljude seedetraktiseoseliste haiguste ja seisundite korral. Kuigi ASCAde taset veres on seostatud zonuliini tasemega, ei ole senini statistiliselt olulist tõendusmaterjali, et ASCAsid saaks kasutada kvantitatiivsete markeritena (33, 40).

Lisaks vereplasmale ja uriinile on peensoole läbilaskvust võimalik hinnata ka fekaalproovist. Potentsiaalseteks markeriteks võiksid sobida zonuliini, butüraadi või hemolüsiinide tasemed roojas, kuid senini on teaduskirjandus nende kohta puudulik või isegi vastandlik. Nimelt on viidatud isegi SCFAde suurema kontsentratsiooni ja suurenenud läbilaskvuse vahelisele seosele. Tõenäoliselt tähendab see, et peensoole suurenenud läbilaskvus pärsib SCFAde imendumist ja tingib seega suurenenud ekskretsiooni (1, 28, 41).

Populaarseim indikaator on neutrofiilidest immuunvastuse ajal vabanev kalprotektiin. Selle eeliseks on stabiilsus seedetrakti läbimisel (1) ning seega on see lihtne ja mitteinvasiivne biomarker CD kulu, ägenemiste ja ravivastuse jälgimiseks. Fekaalse kalprotektiini kasutamise näidustuseks on selle objektiivsus ravi määramisel võrreldes traditsioonilisema sümptompõhise raviga. Kalprotektiini määramise puudusteks peensoolepõhise patoloogia korral on selle vähene spetsiifilisus – võrdsete suurustega haavandite korral on jämesooles sekreteeritav kalprotektiini hulk oluliselt suurem. Ühtlasi esineb märgatavaid erinevusi kalprotektiini määramise meetodites – näiteks võivad kiirtesti (*lateral flow rapid test*) ja ELISA-testi tulemused sama proovimaterjali kasutades erineda üle 3 korra (32).

Paljulubav meetod oleks ka soolestiku mikrobioomi kaardistamine, selle jälgimine ajas ning bakterite kasutamine biomarkeritena (42). Tabelis 2 on kokkuvõtlikult toodud valik organismi seisundeid ning nendega seostatavaid muutusi mikrobioomis võrreldes tervete isikutega.

KOKKUVÕTE

Peensoole läbilaskvus on dünaamiline, suuresti mikrobioomist sõltuv ja mitmete haigusseisundite sümptomaatika kujundaja. Kuigi suurenenud läbilaskvust põhjustavaid

tegureid on mitmeid, on kõigile omane bakteriaalse migratsiooni suurenemine soolevalendikust peensoole seinale.

Bakterite peensoole seinale tungimiseks on kaks meetodit: lekke- ja pooripõhine rada. Radade avanemine toimub põletikutsütokiinide toimel immuunvastuse käigus, kusjuures lisaks tsütokiinidele on organismil olemas ka zonuliini perekonna valgud, mis otseselt reguleerivad peensoole läbilaskvust ja on võimelised seda hetkeliselt suurendama.

Peensoole suurenenud läbilaskvus võib tingida krooniliste haigusprotsesside tekke, näiteks on sellega otseselt seotud CD, IBS, allergiad, T1D, T2D ja veel mitmed muud haigusseisundid. Peensoole läbilaskvus on suurenenud isegi olukordades, kus pealtnäha ei avaldu sümptomid seedetrakti kaudu, näiteks kuuluvad siia alla areataalalopeetsia või psoriaas.

Kuna mitmete haiguste kliiniline kulgu on otseses seoses peensoole läbilaskvuse suurusega, on vajalik seda kliiniliselt määrata. Kuigi paljulubavaid biomarkereid on mitmeid – teiste seas zonuliini, tsitrulliini, FABP või LPSi tase analüüdis –, on jätkuvalt puuduseks segased referentsväärtused ja testide madal positiivne prognoosiväärtus.

AUTORITE VÕIMALIKU HUVIKONFLIKTI DEKLARATSIOON

Autorid kinnitavad, et huvide konflikti ei esine.

SUMMARY

Factors possibly affecting small intestinal permeability and methods for its determination

Mikk Kelder¹, Tamara Vorobjova²

In terms of nutrient acquisition, the small intestine is the most important organ of the human body. Small intestinal permeability represents the ability of any substance to pass through the epithelium, even in the absence of the corresponding transporter protein. Since the permeability of the small intestine is dynamic, largely dependent on the microbiome and shapes the symptoms of several diseases, it is important to be able to determine it reliably and to interpret the obtained results based on scientific knowledge. For this purpose, mostly in vivo

¹ student, Faculty of Medicine, University of Tartu, Estonia,

² Department of Immunology, University of Tartu, Estonia

Correspondence to: Mikk Kelder
mikk.kelder@ut.ee

Keywords: small intestinal permeability, determination of small intestinal permeability, tight junctions, microbiome

methods are used, for example, active tests based on the administration of saccharides. As an alternative, it is possible to determine the level of biomarkers in the blood, urine or faeces. For example, the levels of calprotectin, zonulin, citrulline and claudin-3 are used, but their disadvantage is still low specificity, low evidence basis or inaccuracies in the tests used.

KIRJANDUS / REFERENCES

1. Bischoff SC, Barbara G, Buurman W, et al. Intestinal permeability - a new target for disease prevention and therapy. *BMC Gastroenterol* 2014;14.
2. Buckley A, Turner JR. Cell biology of tight junction barrier regulation and mucosal disease. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2018;10.
3. Monaco A, Ovrzyn B, Axis J, et al. The epithelial cell leak pathway. *Int J Mol Sci* 2021;22:7677.
4. Odenwald MA, Turner JR. Intestinal Permeability defects: is it time to treat? *Clin Gastroenterol Hepatol* 2013;11:1075–83.
5. Ali A, Tan H, Kaiko GE. Role of the Intestinal Epithelium and Its Interaction With the Microbiota in Food Allergy. *Front Immunol* 2020;11:604054.
6. Mabbott NA, Donaldson DS, Ohno H, et al. Microfold (M) cells: Important immunosurveillance posts in the intestinal epithelium. *Mucosal Immunol* 2013;6:666–77.
7. Johansson ME v, Sjövall H, Hansson GC. The gastrointestinal mucus system in health and disease. *Nat Publish Group* 2013;10:352–61.
8. Niewiem M, Grzybowska-Chleboczy U. Intestinal barrier permeability in allergic diseases. *Nutrients* 2022;14:1893.
9. Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Res* 2020;9.
10. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: The biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev* 2011;91:151–75.
11. Malesza JJ, Malesza M, Walkowiak J, et al. High-fat, western-style diet, systemic inflammation, and gut microbiota: a narrative review. *Cells* 2021;10.
12. Brandtzaeg P. The gut as communicator between environment and host: Immunological consequences. *Eur J Pharmacol* 2011;668.
13. Molès JP, Tuailon E, Kankasa C, et al. Breastmilk cell trafficking induces microchimerism-mediated immune system maturation in the infant. *Pediatr Allergy Immunol* 2018;29:133–43.
14. Rashidah NH, Lim SM, Neoh CF, et al. Differential gut microbiota and intestinal permeability between frail and healthy older adults: A systematic review. *Ageing Res Rev* 2022;82:101744.
15. Valentini L, Ramminger S, Haas V, et al. Small intestinal permeability in older adults. *Physiol Rep* 2014;2:281.
16. Teshima CW, Dieleman LA, Meddings JB. Abnormal intestinal permeability in Crohn's disease pathogenesis. *Ann N Y Acad Sci* 2012;1258:159–65.
17. Vaarala O. Gut microbiota and type 1 diabetes. *Rev Diabet Stud* 2012;9:251.
18. Plows JF, Stanley JL, Baker PN, et al. The pathophysiology of gestational diabetes mellitus. *Int J Mol Sci* 2018;19.
19. Taylor BL, Woodfall GE, Sheedy KE, et al. Effect of probiotics on metabolic outcomes in pregnant women with gestational diabetes: a systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. *Nutrients* 2017;9.
20. Kijmanawat A, Panburana P, Reutrakul S, et al. Effects of probiotic supplements on insulin resistance in gestational diabetes mellitus: A double-blind randomized controlled trial. *J Diabetes Investig* 2019;10:163–70.
21. Li S, Zhou Y, Yan D, et al. An Update on the Mutual impact between SARS-CoV-2 infection and gut microbiota. *Viruses* 2022;14:1774.
22. Good C, Wells AI, Coyne CB. Type III interferon signaling restricts enterovirus 71 infection of goblet cells. *Sci Adv* 2019;5.
23. Guan C, Yang Y, Tian D, et al. Evaluation of an ussing chamber system equipped with rat intestinal tissues to predict intestinal absorption and metabolism in humans. *Eur J Drug Metab Pharmacokinet* 2022;47:639–52.
24. Rusticeanu M, Zimmer V, Lammert F. Visualising and quantifying intestinal permeability -where do we stand. *Ann Hepatol* 2021;23:100266.
25. Karczewski J, Troost FJ, Konings I, et al. Regulation of human epithelial tight junction proteins by *Lactobacillus plantarum* in vivo and protective effects on the epithelial barrier. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2010;298:851–9.
26. Gan J, Nazarian S, Teare J, et al. A case for improved assessment of gut permeability: a meta-analysis quantifying the lactulose:mannitol ratio in coeliac and Crohn's disease. *BMC Gastroenterol* 2022;22.
27. Denno DM, VanBuskirk K, Nelson ZC, et al. Use of the lactulose to mannitol ratio to evaluate childhood environmental enteric dysfunction: a systematic review. *Clin Inf Dis* 2014;59:S213–9.
28. Seethaler B, Basrai M, Neyrinck AM, et al. Biomarkers for assessment of intestinal permeability in clinical practice. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2021;321:G11–7.
29. Maric S, Restin T, Muff JL, et al. Citrulline, biomarker of enterocyte functional mass and dietary supplement. *Metabolism, transport, and current evidence for clinical use. Nutrients* 2021;13.
30. Rafik D, Younis I, Atef R, et al. Claudin-3 is a novel intestinal integrity marker in patients with alopecia areata: Correlation with the disease severity. *J Cosmet Dermatol* 2023;22:1377–81.
31. Grootjans J, Thuijls G, Verdarm F, et al. Non-invasive assessment of barrier integrity and function of the human gut. *World J Gastrointest Surg* 2010;2:61.
32. Vernia F, di Ruscio M, Stefanelli G, et al. Is fecal calprotectin an accurate marker in the management of Crohn's disease? *J Gastroenterol Hepatol* 2020;35:390–400.
33. Kvehaugen AS, Aasbrenn M, Farup PG. Anti-Saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA) are associated with body fat mass and systemic inflammation, but not with dietary yeast consumption: a cross-sectional study. *BMC Obes* 2017;4.
34. Wang ZH, Wang A, Gong Z, et al. Plasma claudin-3 is associated with tumor necrosis factor-alpha-induced intestinal endotoxemia in liver disease. *Clin Res Hepatol Gastroenterol* 2019;43:410–6.
35. Vorobjova T, Tagoma A, Talja I, et al. FABP4 and I-FABP Levels in Pregnant Women Are Associated with Body Mass Index but Not Gestational Diabetes. *J Diabetes Res* 2022;2022.
36. Scheffler L, Crane A, Heyne H, 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* 2018;9:22.
37. Gearhart SL, Delaney CP, Senagore AJ, et al. Prospective Assessment of the Predictive Value of α -Glutathione S-Transferase for Intestinal Ischemia. *Am Surg* 2003;69:324–9.
38. Sikora M, Chrabąszcz M, Waśkiel-Burnat A, et al. Claudin-3 – a new intestinal integrity marker in patients with psoriasis: association with disease severity. *Journal of the Eur Academy Dermatol Venereol* 2019;33:1907–12.
39. Barmeyer C, Fromm M, Schulzke JD. Active and passive involvement of claudins in the pathophysiology of intestinal inflammatory diseases. *Pflügers Archiv - Eur J Physiol* 2016;469:15–26.
40. Vermeire S, Peeters M, Vlietinck R, et al. Anti-saccharomyces cerevisiae antibodies (ASCA), phenotypes of IBD, and intestinal permeability: a study in IBD families. *Inflamm Bowel Dis* 2001;7:8–15.
41. de la Cuesta-Zuluaga J, Mueller NT, Álvarez-Quintero R, et al. Higher fecal short-chain fatty acid levels are associated with gut microbiome dysbiosis, obesity, hypertension and cardiometabolic disease risk factors. *Nutrients* 2019;11:51.
42. Karl JP, Margolis LM, Madslie EH, et al. Changes in intestinal microbiota composition and metabolism coincide with increased intestinal permeability in young adults under prolonged physiological stress. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2017;312:G559–71.
43. Gomaa EZ. Human gut microbiota/microbiome in health and diseases: a review. *Antonie van Leeuwenhoek*. 2020;113:2019–40.
44. Pohl K, Moodley P, Dhanda AD. Alcohol's impact on the gut and liver. *Nutrients* 2021;13.