

РОЛЬ ЗОНУЛИНА КАК ПРЕДИКТОРА ЗАБОЛЕВАНИЙ У ДЕТЕЙ ПЕРВОГО ГОДА ЖИЗНИ: ПРОТОКОЛ СИСТЕМАТИЧЕСКОГО ОБЗОРНОГО ИССЛЕДОВАНИЯ ЛИТЕРАТУРЫ

Малыгина О.Г.¹, Бекарова М.М.¹, Селедueva Е.Д.^{1,2}, Усынина А.А.¹

¹ФГБОУ ВО «Северный государственный медицинский университет» Минздрава России, Архангельск, e-mail: perinat@mail.ru;

²ГБУЗ АО «Архангельская областная клиническая больница», Архангельск

В настоящее время продолжается изучение роли зонулина в патогенезе заболеваний, связанных с повышением проницаемости эпителиального барьера кишечной стенки для чужеродных антигенов. Систематизация доказательств роли зонулина в прогнозировании заболеваний у младенцев отсутствует. Данная статья представляет собой протокол исследования, целью которого являются выявление и систематизация данных о проведенных с 2000 г. исследованиях роли зонулина как предиктора заболеваний, в том числе кишечника, у детей первого года жизни. Исследовательский вопрос систематического обзора: Какова роль зонулина как предиктора заболеваний, в том числе кишечника, у детей первого года жизни? Планируется проведение систематического обзорного исследования литературы. Поиск релевантных исследовательскому вопросу публикаций будет проведен на русском и английском языках в электронных библиографических базах данных eLIBRARY.RU, PubMed, CochraneLibrary, GoogleScholar и JSTOR. Годы поиска: 2000–2023. Определена стратегия поиска для каждой из электронных баз данных с учетом ключевых слов. Систематический обзор литературы по методологии scopingreview даст детальную характеристику проведенных исследований по определению уровня зонулина и ассоциированных с его изменением функциональных расстройств или заболеваний у младенцев и тем самым поможет выявить вопросы, требующие дальнейшего изучения. Выполнение систематического обзора литературы позволит улучшить планирование дальнейших исследований, в том числе комплексных, конечной глобальной целью которых будет улучшение здоровья детей.

Ключевые слова: дети, зонулин, кишечник, младенцы, новорожденные, протокол, систематическое обзорное исследование литературы.

THE ROLE OF ZONULIN AS A PREDICTOR OF HEALTH ISSUES IN INFANTS: A SCOPING REVIEW PROTOCOL

Malygina O.G.¹, Bekarova M.M.¹, Seledueva E.D.^{1,2}, Usynina A.A.¹

¹FGBOU VO «Northern State Medical University» of the Ministry of Healthcare of the Russian Federation, Arkhangelsk, e-mail: perinat@mail.ru;

²GBUZ AO «Arkhangelsk regional clinical hospital», Arkhangelsk

Currently, the study of the role of zonulin in the pathogenesis of diseases associated with increased permeability of the epithelial barrier of the intestinal wall to foreign antigens continues. There are no systematic reviews of evidence for the role of zonulin in predicting diseases in infants. This article is a study protocol of systematic review of the literature that will be undertaken to identify and systematize data on studies conducted since 2000 on the role of zonulin as a predictor of diseases, including intestinal diseases, in infants. Research question of scoping review is What is the role of zonulin as a predictor of diseases, including intestinal diseases, in infants? It is planned to conduct scoping review. The search for publications relevant to the research question will be carried out in Russian and English in electronic bibliographic databases eLIBRARY.RU, PubMed, Cochrane Library, Google Scholar, and JSTOR. Search years: 2000–2023. A search strategy was determined for each of the electronic databases, taking into account keywords. The planned scoping review will provide a detailed description of the studies conducted to determine the level of zonulin and associated changes in functional disorders or diseases in infants, thereby helping to identify issues requiring further investigations. Conducting a scoping review will improve the planning of further studies, including comprehensive ones, the ultimate global goal of which is to improve the health of children.

Keywords: children, zonulin, gut, infants, newborn, protocol, scoping review.

Белок зонулин, впервые выделенный у человека в 2000 г., принимает участие в патогенезе повышения проницаемости кишечной стенки. Зонулин (ZO-1), идентифицированный как прегаптоглобулин-2, представляет собой аналог кишечного эпителиального белка *Zonula occludens toxin (Zot)* холерного вибриона и в норме экспрессируется и секретируется на поверхность кишечного эпителия [1]. Зонулин обуславливает потерю тесных контактов, существующих в норме между боковыми стенками энтероцитов, что делает возможным более легкое проникновение чужеродных антигенов через эпителиальный барьер кишечной стенки. Транслокация иммунных комплексов и бактерий через кишечную стенку составляет суть многих заболеваний и может вызывать серьезные последствия, в том числе системное воспаление [2].

К настоящему времени проведены исследования по определению уровня зонулина в крови, мочи и кале детей, что имело значение как для понимания физиологических изменений уровня данного белка по мере роста ребенка, так и для подтверждения патологического процесса у пациентов. В. Łoniewska и соавт. при исследовании уровня фекального зонулина у здоровых детей в возрасте 1, 6, 12 и 24 месяцев обнаружили постепенное повышение его по мере роста ребенка [3]. Повышенная секреция зонулина была выявлена у детей разного возраста при целиакии [4], воспалительных заболеваниях кишечника (болезни Крона и язвенном колите) [5], некротическом энтероколите [6] и аллергии [7].

Интересны результаты исследований по возможности раннего прогнозирования риска целиакии, в том числе у детей раннего возраста. Так, Т.М. Da Fonte и соавт. на основе принятия повышенной проницаемости кишки ключевым фактором патогенеза аутоиммунных заболеваний, включая целиакию, изучали динамику уровня зонулина у детей в возрасте 1 год и старше до начала клинических проявлений заболевания. Исследователи выявили статистически значимое повышение уровня зонулина у детей с впоследствии диагностированной целиакией. Интервал от повышения уровня зонулина до начала заболевания составлял в среднем 18,3 месяца (при размахе от 6 до 78 месяцев) [4].

Исследования последних лет свидетельствуют о перспективности определения уровня зонулина для неинвазивной диагностики заболеваний у детей в более раннем возрасте – на первом году жизни и даже в периоде новорожденности. Значительное повышение уровня зонулина в крови по сравнению со здоровыми новорожденными было выявлено у детей с ротавирусной инфекцией и гастрошизисом. Уровень зонулина также был повышен у новорожденных с некротическим энтероколитом, но статистически значимых отличий по сравнению с контрольной группой в исследовании выявлено не было [8]. В более позднем исследовании, однако, уже было показано статистически значимое увеличение уровня зонулина при последующей манифестации некротического энтероколита у недоношенных

младенцев. Кроме того, был выявлен более высокий уровень зонулина у недоношенных по сравнению с рожденными в срок детьми [6]. Данное исследование представляет интерес в плане использования определения зонулина для прогнозирования заболеваний в младенческом возрасте. Увеличение уровня зонулина в плазме крови в динамике в послеоперационном периоде у новорожденных, оперированных по поводу врожденной кишечной непроходимости, ассоциировалось с большей частотой гнойно-септических осложнений. Также было выявлено изначально более высокое по сравнению со здоровыми детьми содержание зонулина в плазме крови у младенцев с врожденной кишечной непроходимостью [9].

Были предприняты попытки выявить ассоциации уровня зонулина с другими факторами, в том числе диетой младенцев. S.Kolyva и соавт. не удалось установить различий в уровнях зонулина в сыворотке крови у детей 3–4 месяцев жизни, получающих грудное молоко, смешанное или искусственное питание. Это же исследование не выявило гендерных различий в уровне зонулина у младенцев, не подтверждена ассоциация с массой тела при рождении и наличием аллергических или аутоиммунных заболеваний в семье ребенка [10]. Уровень фекального зонулина у детей первых двух лет жизни коррелировал с 19 представителями кишечной микробиоты, в том числе с *Bacillales* (отрицательная корреляция), а также *Clostridiales* и *Ruminococcus* (в обоих случаях – положительная корреляция) [11]. Назначение антибактериальной терапии беременной ассоциировалось с высоким уровнем зонулина в пуповинной крови, в то время как антибактериальная терапия в родах приводила к повышению уровня фекального зонулина у ребенка в первую неделю жизни. У детей, рожденных оперативным путем, уровень фекального зонулина был более высоким по сравнению с таковым при вагинальных родах [12].

К настоящему времени опубликованы многочисленные обзоры по изучению проблемы повышенной проницаемости кишечника у детей. Несистематические обзоры литературы, доступные в зарубежных (англоязычных) и отечественных библиографических базах данных, включают результаты исследований уровня зонулина в различных биологических средах у детей. Авторам не удалось найти систематическое обзорное исследование литературы (scoping review) о роли зонулина как предиктора заболеваний, в том числе кишечника, у детей первого года жизни при поиске в таких базах данных, как eLIBRARY.RU, MEDLINE (www.pubmed.gov) и CochraneLibrary, а также среди доступных к просмотру зарегистрированных протоколов планируемых исследований ресурсов The Open Science Framework (<https://osf.io>) и Clinical Trials.gov.

Цель данного обзорного систематического исследования литературы по методологии scoping review – выявить и систематизировать данные о проведенных с 2000 г. исследованиях

роли зонулина как предиктора заболеваний, в том числе кишечника, у детей первого года жизни.

Систематическое обзорное исследование литературы будет выполнено согласно методологическим рекомендациям Института Джоанны Бриггс (JBI – The Joanna Briggs Institute) 2020 г. [13]. Результаты будут представлены в соответствии с рекомендациями по публикации результатов исследований, проводимых по методологии *scoping review*, – PRISMA-ScR (The Preferred Reporting Items for Systematic Review sand Meta-Analyses Extension for Scoping Reviews) 2018 г. [14]. При этом планируется использование чек-листа и диаграммы (блок-схемы PRISMA) систематического обзора с указанием в последней количества идентифицированных исследований и критериев исключения.

Настоящее исследование было предпринято с целью ответить на вопрос: *Какова роль зонулина как предиктора заболеваний, в том числе кишечника, у детей первого года жизни?*

Исследования, релевантные теме планируемого обзора, с изучением уровня зонулина или динамики его содержания в различных локусах/средах в популяции детей в хронологическом возрасте от 0 до 1 года. В случае лонгитюдных исследований считать их приемлемыми для настоящего обзора, если определение зонулина было проведено в том числе в возрасте детей до 1 года жизни и прогнозируемое на основании однократного или повторного измерения уровня зонулина неблагоприятное событие (заболевание или функциональное нарушение) произошло в младенческом возрасте, то есть до достижения ребенком хронологического возраста 1 года. Исследования с описанием клинических случаев (дизайн *Casestudy* или *Caseseries*) считать релевантным настоящему обзору, если в таких исследованиях было определение уровня зонулина и обсуждалась его возможная (или доказанная исследователями) ассоциация с имевшейся у ребенка/детей патологией.

Исследование уровня зонулина в биологических средах организма ребенка возраста 0–1 год; изменение уровня зонулина при наличии у ребенка функционального нарушения или заболевания, в том числе кишечника; изучение предикторной роли зонулина в отношении заболеваний, в том числе кишечника, у младенцев.

Госпитальные и амбулаторные условия пребывания детей первого года жизни. В данном *scoping review* отсутствуют исключения для исследований по социальному или географическому признаку.

Все релевантные исследовательскому вопросу публикации, индексируемые в электронных базах данных eLIBRARY.RU, MEDLINE (PubMed), CochraneLibrary, JSTOR и GoogleScholar, будут включены в систематический обзор.

Стратегия поиска в электронных библиографических базах данных с определенными критериями для каждой из них представлена в таблице.

Стратегия поиска в электронных библиографических базах данных

Электронная библиографическая база данных	Стратегия поиска
<p>Научная электронная библиотека eLIBRARY.RU</p>	<p>Ключевые слова: (зонулин новорожденные) or (зонулин дети) or (зонулин младенцы)</p> <p>Где искать:</p> <ul style="list-style-type: none"> – в названии публикации – в аннотации – в ключевых словах – в списках цитируемой литературы – в полном тексте публикации <p>Тип публикации:</p> <ul style="list-style-type: none"> – статьи в журналах – книги – материалы конференций – депонированные рукописи – наборы данных – диссертации – отчеты – патенты – гранты
<p>PubMed</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. All fields 2. Query box: (zonulin) AND ((newborn) OR (infant) OR (child)) 3. Publication date: From 2000/1/1 to 2023/12/31 4. Species: Humans 5. Articlelanguage: English, Russian
<p>Cochrane Library</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Key word: zonulin 2. Language: English 3. Years: 2000–2023
<p>JSTOR</p>	<ol style="list-style-type: none"> 1. Key words: zonulin 2. Access type: everything, all content 3. Return articles dated between 2000–2023 4. For search results: search only for pages written in English

Google Scholar	<p>Расширенный поиск на английском языке:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. newborn OR infant OR child* "zonulin" 2. Where my words occur: anywhere in the article 3. Return articles dated between 2000–2023. 4. Type of the articles: any type. 5. Include patents, include citations. 6. For search results: search only for pages written in English
----------------	--

Поисковая система по научным публикациям GoogleScholar в настоящем систематическом обзоре литературы будет использована как дополнительный ресурс для поиска. Ограничение поиска источников доказательств определенными временными рамками (2000–2023 гг.) определяется годом открытия зонулина (2000 г.). Не предполагается использование компьютерных программ на этапе идентификации; поиск будет проведен вручную. Исключение дублирования публикаций будет проводиться вручную двумя исследователями независимо друг от друга. Референции каждой из релевантных исследовательскому вопросу публикации будут изучены для поиска дополнительных источников доказательств. На этапе скрининга планируется коллегиальное обсуждение полнотекстовых статей на предмет приемлемости их для обзора. Оценка методологического качества исследований не будет проводиться. Результаты поиска будут представлены в виде диаграммы – блок-схемы систематического обзора [14].

Планируется систематизация по типу публикаций, стране проведения исследования, возрасту исследуемой популяции/выборки, численности выборки, нозологии прогнозируемых заболеваний. Также будут учитываться биологические среды (кровь, моча, фекалии) при определении уровня зонулина.

Учитывая отсутствие в данном исследовании необходимого основания для получения разрешения этического комитета (а именно: контакта с пациентами, доступа к индивидуальной информации), его заключение не требовалось. Планирование исследования сопровождалось обсуждением членами Правления регионального отделения Российского общества неонатологов, главными внештатными специалистами – неонатологом и детским хирургом министерства здравоохранения Архангельской области. Результаты исследования будут опубликованы в рецензируемом журнале и доложены на конференциях регионального и российского уровней по профилю исследования.

В обзор будут включены все доказательства независимо от типа публикации (тезисы, полнотекстовые статьи, материалы конференций, обзорные статьи, оригинальные исследования, комментарии к публикациям и т.д.), что позволит избежать ошибок, связанных

с ограничением по типу публикаций. Ограничением настоящего систематического обзора является включение в него только опубликованных доказательств; исследования, результаты которых явились предметом устного обсуждения, не войдут в обзор. Публикации ограничиваются индексируемыми в электронных базах данных eLIBRARY.RU, MEDLINE (PubMed), Cochrane Library, JSTOR и Google Scholar, к которым авторы имеют свободный доступ. В обзор не будут включены исследования, опубликованные на языках, отличных от русского и английского, что сделает возможным ошибку поиска, связанную с ограничением по выбору языков. Вместе с тем авторы предполагают, что в настоящее время англоязычный абстракт является обязательным элементом при публикации результатов подавляющего большинства оригинальных исследований и обзоров, что должно минимизировать языковую предвзятость.

Заключение

Представлен протокол исследования роли зонулина как предиктора заболеваний, в том числе кишечника, у детей первого года жизни. Данное исследование внесет свой вклад в систематизацию имеющихся к настоящему времени знаний о зонулине как предикторе патологии детей в возрасте до 1 года. Планируемый систематический обзор литературы по методологии *scopingreview* даст детальную характеристику проведенных исследований по определению уровня зонулина и ассоциированных с его изменением функциональных расстройств или заболеваний у младенцев, тем самым поможет выявить вопросы, требующие дальнейшего изучения. К настоящему времени авторам не удалось найти подобное систематическое обзорное исследование литературы. Выполнение его позволит улучшить планирование дальнейших исследований, в том числе комплексных, конечной глобальной целью которых будет улучшение здоровья детей.

Список литературы

1. Fasano A. Intestinal zonulin: open sesame! // *Gut*. 2001. Vol. 49. Is. 2. P. 159-162. DOI: 10.1136/gut.49.2.159.
2. de Jong P.R., González-Navajas J.M., Jansen N.J.G. The digestive tract as the origin of systemic inflammation // *Crit Care*. 2016. Vol. 20. Is. 1. P. 279. DOI: 10.1186/s13054-016-1458-3.
3. Łoniewska B., Adamek K., Węgrzyn D., Kaczmarczyk M., Skonieczna-Żydecka K., Clark J., Adler G., Tousty J., Uzar I., Tousty P., Łoniewski I. 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. Vol. 9. Is. 3. P. 777. DOI: 10.3390/jcm9030777.

4. DaFonte T.M., Valitutti F., Kenyon V., Locascio J.J., Montuori M., Francavilla R., Passaro T., Crocco M., Norsa L., Piemontese P., Baldassarre M., Fasano A., Leonard M.M., CD-GEMM Study Group. Zonulin as a Biomarker for the Development of Celiac Disease // *Pediatrics*. 2024. Vol. 153. Is. 1. e2023063050. DOI:10.1542/peds.2023-063050.
5. Cenni S., Casertano M., Trani M., Pacella D., Martinelli M., Staiano A., Miele E., Strisciuglio C. The use of calgranulin-C (S100A12) and fecal zonulin as possible non-invasive markers in children with inflammatory bowel disease: a clinical study // *Eur J.Pediatr*. 2023. Vol. 182. P. 1299-1308. DOI: 10.1007/s00431-022-04771-7.
6. Хасанова С.С., Камилова А.Т. Динамика значений фекального зонулина у недоношенных детей первых двух недель жизни // *Российский вестник перинатологии и педиатрии*. 2019. №2. DOI: 10.21508/1027-4065-2019-64-2-52-56.
7. Niewiem M., Grzybowska-Chlebowczyk U. Assessment of Selected Intestinal Permeability Markers in Children with Food Allergy Depending on the Type and Severity of Clinical Symptoms // *Nutrients*. 2022. Vol. 14. Is. 20. P. 4385. DOI: 10.3390/nu14204385.
8. Tarko A., Suchojad A., Michalec M., Majcherczyk M., Brzozowska A., Maruniak-Chudek I. Zonulin: A Potential Marker of Intestine Injury in Newborns // *Dis Markers*. 2017. Vol. 2017. P. 2413437. DOI:10.1155/2017/2413437.
9. Обедин А.Н., Минаев С.В., Муравьева А.А. Превентивная диагностика воспалительных осложнений после хирургического вмешательства у новорожденных с врожденными пороками развития // *Медицинский вестник Северного Кавказа*. 2011. Т. 23. №3. С. 11-13.
10. 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 // *Eur J.Pediatr*. 2021. Vol. 180. P. 3273-3278. DOI: 10.1007/s00431-021-04102-2.
11. Kaczmarczyk M., Löber U., Adamek K., Węgrzyn D., Skonieczna-Żydecka K., Malinowski D., Łoniewski I., Markó L., Ulas T., Forslund S. K., Łoniewska B. 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. Vol. 19. Is. 177. DOI: 10.1186/s12967-021-02839-w.
12. Łoniewska B., Węgrzyn D., Adamek K., Kaczmarczyk M., Skonieczna-Żydecka K., Adler G., Jankowska A., Uzar I., Kordek A., Celewicz M., Łoniewski I. 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. Vol. 8. Is. 4. P. 473. DOI: 10.3390/jcm8040473.

13. Peters M.D.J., Marnie C., Tricco A.C., Pollock D., Munn Z., Alexander L., McInerney P., Godfrey C. M., Khalil H. Updated methodological guidance for the conduct of scoping reviews // *JBI Evid Synth.* 2020. Vol. 18. Is. 10. P. 2119-2126. DOI: 10.11124/JBIES-20-00167.
14. Tricco A.C., Lillie E., Zarin W., O'Brien K.K., Colquhoun H., Levac D., Moher D., Peters M.D.J., Horsley T., Weeks L., Hempel S., Akl E.A., Chang C., McGowan J., Stewart L., Hartling L., Aldcroft A., Wilson M.G., Garritty C., Lewin S., Godfrey C.M., Macdonald M.T., Langlois E.V., Soares-Weiser K., Moriarty J., Clifford T., Tunçalp Ö., Straus S.E. PRISMA extension for scoping reviews (PRISMA-ScR): checklist and explanation // *Ann Intern Med.* 2018. Vol. 169. Is. 7. P. 467-473. DOI: 10.7326/M18-0850.