

Jagoda Drąg¹, Anna Goździalska¹, Małgorzata Knapik-Czajka²,
Aleksandra Matuła¹, Jerzy Jaśkiewicz¹

1. Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, Zakład Kosmetologii Medycznej

2. Collegium Medicum Uniwersytetu Jagiellońskiego w Krakowie,
Wydział Farmaceutyczny, Zakład Analityki Biochemicznej

NIESZCZELNOŚĆ JELIT W CHOROBACH AUTOIMMUNOLOGICZNYCH

Autor korespondencyjny:

Jagoda Drąg, Krakowska Akademia im. Andrzeja Frycza Modrzewskiego,
Wydział Lekarski i Nauk o Zdrowiu, ul. G. Herlinga-Grudzińskiego 1, 30-705 Kraków
e-mail: jdrag@afm.edu.pl

Streszczenie

Zespół nieszczelnego jelita (ZNJ, zespół ciekącego jelita) to stan związany ze zwiększoną przepuszczalnością błony śluzowej jelita z powodu jej uszkodzenia i destabilizacji. Heterogenna etiologia schorzenia obejmuje infekcje, stres, niewłaściwą dietę, ciążę, menopauzę, stosowanie leków oraz alergie pokarmowe. W konsekwencji do krwi przedostają się niekompletnie strawione składniki pokarmowe, drobnoustroje oraz toksyny, które negatywnie wpływają na pracę całego organizmu. Przewlekłe narażenie na obce antygeny przeciąża układ odpornościowy, co może prowadzić do trwałego obniżenia odporności. Ostatecznie mogą się pojawiać zaburzenia ze strony układu pokarmowego, przewlekłe zmęczenie, nietolerancje pokarmowe, bóle stawowe oraz dermopatie. Rozregulowanie odpowiedzi immunologicznej może być wreszcie przyczyną przewlekłych chorób autoimmunologicznych, jak cukrzyca, toczeń układowy, choroba Crohna, zapalenie jelita grubego, stwardnienie rozsiane, choroba Hashimoto czy reumatoidalne zapalenie stawów (RZS).

Słowa kluczowe: zespół nieszczelnego jelita (ZNJ), choroby autoimmunologiczne, zonnulina, autoagresja

Wprowadzenie

Do głównych czynności jelita cienkiego należy kontynuacja trawienia rozpoczętego w jamie ustnej i żołądka, a także wchłanianie końcowych produktów trawienia, witamin, wody i elektrolitów. Jelita pełnią funkcję bariery, regulując transport substancji do krwi i chłonki. Ponadto układ immunologiczny w nabłonku jelit oraz flora fizjologiczna chronią organizm przed obcymi antygenami, makrocząsteczkami oraz toksynami. Realizacja wymienionych procesów jest możliwa dzięki ściśle określonej budowie ściany jelit, w której wyróżnić można cztery warstwy: błonę śluzową, błonę podśluzową, błonę mięśniową oraz błonę surowiczą. Najważniejszą funkcję w procesach trawiennych oraz ochronnych pełni błona śluzowa, która wytwarza dwie charakterystyczne struktury, tj. kosmki jelitowe i krypty jelitowe (gruczoły Lieberkühna), oraz błona podśluzowa [1].

Kosmki jelitowe to uwypuklenia błony śluzowej, pokryte jednowarstwowym nabłonkiem walcowatym. Wśród komórek tworzących nabłonek wyróżnić można enterocyty (komórki absorpcyjne), komórki kubkowe, komórki endokrynne oraz limfocyty śród nabłonkowe. Wolna powierzchnia enterocytów wytwarza mikrokosmki, które formują brzeżek szczoteczkowy. W błonie mikrokosmków znajdują się własne enzymy trawienne, a na powierzchni zakotwiczone są w glikokaliksie enzymy trzustkowe. Enterocyty wytwarzają ponadto naturalne antybiotyki (defensyny) oraz chemokiny. Komórki kubkowe produkują śluz. Komórki endokrynne odpowiedzialne są za produkcję oraz wydzielanie hormonów regulujących procesy trawienia i wchłaniania, np. cholecystokininy, sekretyny, motyliny, oraz biologicznie czynnych amin, np. serotoniny. Pomiędzy komórkami nabłonka znajdują się rozproszone limfocyty śród nabłonkowe, stanowiące część układu odpornościowego. Powierzchnia wchłaniania oraz trawienia, dzięki obecności fałdów okrężnych, kosmków oraz mikrokosmków, wynosi łącznie ok. 400 m² [1,2].

Krypty jelitowe są cewkowymi wgłobieniami nabłonka, w których zachodzą intensywne podziały komórkowe. Główną funkcją krypt jest ciągłe wytwarzanie i odnowa komórek nabłonkowych, przede wszystkim enterocytów. Obok komórek macierzystych znajdują się tu również dojrzałe komórki absorpcyjne, kubkowe oraz endokrynne. Ponadto stwierdza się komórki Panetha o zdolnościach fagocytarnych, które w ziarnistościach cytoplazmatycznych zawierają lizozym oraz defensyny, działające bakteriobójczo [1].

Błona podśluzowa jest zbudowana z tkanki łącznej właściwej, zawierającej włókna kolagenowe i sprężyste. Posiada liczne naczynia krwionośne i limfatyczne oraz sploty nerwowe. W dwunastnicy w błonie podśluzowej znajdują się gruczoły dwunastnicze Brunnera, które produkują śluz chroniący błonę śluzową jelit przed drażniącym wpływem kwaśnej treści żołądkowej oraz wydzielinę o pH zasadowym, co jest istotne dla aktywacji enzymów trzustkowych [1].

Błona śluzowa jelit, a w szczególności nabłonek, poprzez wykształcenie odpowiednich mechanizmów obronnych pełnią funkcję naturalnej bariery ochronnej organizmu przed patogennymi mikroorganizmami i ich antygenami, pozwalając jednocześnie komórkom na regulację procesów wchłaniania. Do takich mechanizmów należą m.in. połączenia ściśle (łac. *zonulae occludentes*, ang. *tight junction*, TJ). TJ uszczelniają przestrzeń między sąsiadującymi komórkami nabłonkowymi błony śluzowej; utworzone są przez kompleks białek przezbłonowych, takich jak kładyny, okładyny oraz białka JAMs (ang. *junctional adhesion molecules*), które łączą się z filamentami aktynowymi cytoszkieletu za pośrednictwem cytoplazmatycznych płytek białkowych. Białka cytoplazmatyczne są cząsteczkami docelowymi lub efektorowymi różnych szlaków sygnałowych, które warunkują konstrukcję oraz funkcjonowanie TJ, regulując przepuszczalność jelit [3,4].

Kolejnym mechanizmem obronnym jest obecność tkanki limfatycznej w jelitach (*gut associated lymphoid tissue*, GALT), w szczególności w błonie śluzowej oraz podśluzowej. Układ GALT tworzą limfocyty śród nabłonkowe (ang. *intraepithelial lymphocytes*, IELs), skupione grudki limfatyczne (tzw. kępkę Peyera) oraz kryptokępkę (grupy kilkuset limfocytów). Ponad 75% komórek limfatycznych całego układu odpornościowego jest częścią GALT. W organizmie człowieka około 80% wszystkich immunoglobulin jest wytwarzanych w jelicie. Wśród przeciwciał szczególną rolę odgrywają wydzielnicze IgA (ang. *secretory IgA*, S-IgA). Ich funkcją jest opłaszczanie i aglutynacja antygenów różnego pochodzenia i zapobieganiu ich adhezji do nabłonka, neutralizowanie toksyn bakteryjnych oraz działanie przeciwzapalne [5,6]. Ponadto do funkcji S-IgA zaliczyć można absorpcję antygenów pokarmowych oraz neutralizację wirusów [5]. Głównymi przedstawicielami komórkowymi układu GALT są komórki prezentujące antygen (ang. *antigen presenting cells*, APCs), limfocyty śród nabłonkowe, limfocyty T oraz B, komórki M oraz w mniejszej liczbie makrofagi, komórki tuczne oraz granulocyty. Komórki APC wychwytyują antygeny i m.in. przez wydzielanie odpowiednich cytokin i różnicowanie się decydują o powstaniu stanu zapalnego [3]. Limfocyty IEL są rozmieszczone między komórkami nabłonka błony śluzowej i w obszarach międzygrudkowych kępek Peyera. Najwięcej IEL występuje w jelicie czczym (20% komórek nabłonka), następnie w jelicie krętym (13% komórek nabłonka). Są to przede wszystkim limfocyty T, zarówno z receptorem TCR $\alpha\beta$, jak i TCR $\gamma\delta$ oraz komórki CD8 $\alpha\alpha$, które są odpowiedzialne za ochronę przewodu pokarmowego przed reakcjami immunopatologicznymi [3,6]. Limfocyty śród nabłonkowe spełniają funkcje regulatorowe, stymulują odnowę komórek nabłonka, a wydzielane przez nie TNF α i INF γ wspomagają zdolność transportu jonów przez nabłonek jelitowy. IEL mają kluczowe znaczenie w zwalczaniu zakażeń, mogą eliminować niektóre drobnoustroje chorobotwórcze, indukują powstawanie i wspomagają działanie IgA, a także odpowiadają za utrzymanie tolerancji na antygeny pokarmowe. Na terenie błon śluzowych jelit znajdują

się także limfocyty B, zlokalizowane głównie w grudkach limfatycznych kępek Peyera. Limfocyty B są zdolne do wytwarzania S-IgA, a także IgM (limfocyty B1) i IgG [5,6]. Subpopulacja B1 bierze udział tylko w pierwotnej odpowiedzi immunologicznej, a jej głównym zadaniem jest wytwarzanie przeciwciał IgM oraz w mniejszym stopniu IgA, ale w sposób niezależny od pomocniczych limfocytów T. IgM wykazują małe powinowactwo do antygenów, ale mogą wiązać kilka typów antygenów bakteryjnych [6]. Komórki M wykazują zdolność transcytozy mikroorganizmów i makrocząsteczek ze światła jelita do wnętrza organizmu oraz spełniają funkcję systemu rozpoznającego antygeny [3,7].

Przewód pokarmowy dorosłego człowieka jest zasiedlony przez około 10^{14} różnego rodzaju bakterii prezentujących około 500–1000 szczepów, należących do 40–50 rodzin. Mikroflora jelitowa dorosłego człowieka jest zdominowana przez cztery główne grupy bakterii należących do rodzajów *Bacteroidetes*, *Firmicutes*, *Proteobacteria* i *Actinobacteria* – pełni funkcję ochronną, metaboliczną oraz troficzną. Funkcja ochronna to przede wszystkim wzmocnienie bariery jelitowej przez stabilizację TJ, utrzymanie „szczelności” błony śluzowej i bariery jelitowej (zwiększenie produkcji mucyn), ponadto współzawodnictwo mikrobów o składniki pokarmowe oraz produkcja czynników zdolnych do zahamowania wzrostu organizmów pokrewnych, lub nawet do ich zabicia (np. bakteriocyn czy kwasu mlekowego). Bakterie jelitowe stymulują również syntezę IgA oraz rozwój układu immunologicznego. Rola metaboliczna to przede wszystkim udział w syntezie witamin, takich jak witamina K oraz witaminy z grupy B (np. kwas foliowy, B₁₂, biotyna). Mikroflora bierze udział w metabolizmie kancerogenów pokarmowych oraz we wchłanianiu jonów. Funkcja troficzna jest związana z fermentacją niestrawionych węglowodanów, która dostarcza krótkołańcuchowych kwasów tłuszczowych stymulujących proliferację oraz różnicowanie komórek nabłonkowych [3,7,8].

Budowa ściany jelita cienkiego, obecność kosmków oraz mikrokosmków, ponadto występowanie TJ oraz kolonizacja jelit bakteriami kontrolują procesy wchłaniania, trawienia, motoryki, funkcję endokrynną, a także są w istotny sposób odpowiedzialne za prawidłowe funkcjonowanie układu immunologicznego, co ma znaczenie w utrzymaniu organizmu w stanie homeostazy i zdrowia. Poznane zaburzenia dotyczące wymienionych aspektów są związane z zespołem nieszczelnego jelita, który coraz częściej łączy się z patomechanizmem chorób autoimmunologicznych, takich jak celiakia, cukrzyca, toczeń układowy, choroba Crohna, zapalenie jelita grubego, stwardnienie rozsiane, choroba Hashimoto czy reumatoidalne zapalenie stawów (RZS). Dokładne poznanie mechanizmów działania czynników etiologicznych zespołu nieszczelnego jelita pozwoli stworzyć holistyczne podejście do leczenia chorób autoimmunologicznych – oparte na standardowych terapiach i poszerzone o przestrzeganie higieny i prawidłowej diety. Takie podejście pozwoli na przywrócenie i utrzymanie prawidłowej funkcji jelit oraz zwiększy skuteczność prowadzonych terapii.

Zespół nieszczelnego jelita

Zespół nieszczelnego jelita (ZNJ, inaczej zespół ciekącego jelita; ang. *leaky gut syndrome, increased intestinal permeability*) to stan, który charakteryzuje się zapaleniem oraz zwiększoną przepuszczalnością błony śluzowej jelit, zaburzeniami procesów trawienia i wchłaniania wskutek bezpośredniego uszkodzenia błony śluzowej lub/i zaburzenia jelitowej flory bakteryjnej. Heterogenna etiologia schorzenia obejmuje infekcje, stres, ciężę, nieprawidłową dietę, menopauzę, leki oraz alergie pokarmowe [9].

Patomechanizm nieszczelnego jelita obejmuje między innymi wpływ czynników etiologicznych na strukturę i funkcjonowanie połączeń ścisłych. Badania pokazują, że TJ, uważane dotychczas za stabilne struktury, podlegają stałym zmianom adaptując się do różnych rozwojowych, fizjologicznych oraz patologicznych warunków [10]. Pierwsze doniesienia o zwiększeniu przepuszczalności w obrębie TJ pochodzą z badań nad enterotoksyną *Vibrio cholerae* (ang. *zonula occludens toxin, Zot*), która w sposób odwracalny powoduje otwarcie połączeń. Z uzyskanych obserwacji wysnuto hipotezę, że toksyna naśladuje endogenny, związany z układem immunologicznym, modulator TJ, który zidentyfikowany w 2000 r. został nazwany zonuliną [11,12]. Udział zonuliny jest związany z regulacją transportu płynów, makromolekuł i leukocytów pomiędzy jelitami i krwią. Ponadto przypuszcza się, że zonulina chroni przed kolonizacją bakterii [13,14]. Badania z wykorzystaniem przeciwciał oraz spektroskopii masowej wykazały, że zonulina jest prekursorem haptoglobiny 2 (ang. *pre-haptoglobin 2, pre-HP2*) o masie ok. 47 kDa. Gen zlokalizowany jest na chromosomie 16. Filogenetycznie białko wywodzi się z rodziny proteaz serynowych, ale w drodze ewolucji gen utracił sekwencję centrum katalitycznego, a tym samym białko – funkcję enzymatyczną.

Proponowaną regulację działania TJ błony śluzowej przez zonulinę tłumaczy się połączeniem białka z błonowymi receptorami, takimi jak receptor czynnika wzrostu naskórka (ang. *epidermal growth factor receptor, EGFR*) i receptor proteaz (ang. *protease activated receptor 2, PAR2*), co prowadzi do aktywacji fosfolipazy C, kinazy białkowej C oraz ostatecznie – polimeryzacji i formowania filamentów aktynowych. Efektem końcowym jest rozproszenie aktyny oraz białek cytoplazmatycznych, prowadzące do rozluźnienia TJ i nieszczelności w ścianie jelit. Zwiększenie ekspresji i aktywności zonuliny, co częściowo tłumaczy patomechanizm zespołu nieszczelnego jelita, zaobserwowano pod wpływem pewnych bakterii oraz gliadyny, składnika glutenu obecnego w zbożach. Badania wskazują, że przy braku infekcji początkowy odcinek jelita cienkiego jest prawie sterylny. Kolonizacja tego odcinka powoduje nieszczelność jelit poprzez aktywację szlaku zonuliny. Badania pokazały również, że zonulina jest syntetyzowana i uwalniana przez komórki nabłonka tylko przy bezpośrednim kontakcie komórek bakteryjnych lub/i ich składników z powierzchnią jelita [13]. Utrzymująca się w jelitach kolonizacja bakteriami grozi uszkodzeniem błony, stanem zapalnym

oraz nieszczelnością jelit. Poznano mechanizm, na drodze którego zwiększona ekspresja zonuliny przyczynia się do zespołu nieszczelnego jelita. Szlak aktywacji angażuje nabłonkowy receptor CXCR3, który wiąże gliadynę i za pośrednictwem białka MyD88 indukuje produkcję i uwalnianie zonuliny. Dodatkowo gliadyna może stymulować inne komórki wykazujące obecność receptora CXCR3, takie jak limfocyty T, komórki NK (ang. *natural killers*), przyczyniając się do aktywacji układu odpornościowego i rozwoju stanu zapalnego [14,15].

Zespół nieszczelnego jelita to również wpływ bakterii patogennych na budowę i funkcję błony śluzowej jelit. Uszkodzenie bariery jelitowej przez bakterie związane jest z łączeniem się patogenów ze strukturami powierzchniowymi enterocytów, tj. glikolipidami i glikoproteidami. Adhezja ta umożliwia przemieszczanie się mikroobów z powierzchni nabłonka, przez cytoplazmę (transcytoza), do obszarów podstawnobocznych. Stamtąd transport bakterii do struktur położnych głębiej odbywa się przez ich bezpośrednie działanie cytotoksyczne, międzykomórkową migrację lub uszkodzenie kompleksu TJ. Inny mechanizm uszkadzający to migracja granulocytów przez nabłonek, która osłabia barierę jelitową. Przykładowo *E. coli* zwiększa syntezę i wydzielanie interleukiny 8, która aktywuje migrację granulocytów [7]. *Salmonella enterica* czy *Shigella spp.* w celu przedostania się do warstwy podnabłonkowej, a następnie do innych tkanek i krążenia wykorzystują komórki M (zdolność transcytozy), prowadząc do ich ostatecznego uśmiercenia. Zdolności migracyjne posiadają komórki dendrytyczne, wyposażone w liczne wypustki. Mogą one przeciskać się między enterocytami, nie uszkadzając połączeń ścisłych, i w ten sposób wychwytywać antygeny bezpośrednio ze światła jelita. *Listeria monocytogenes* przedostaje się poprzez nabłonek w kępkach Peyera, wykorzystując proces przypominający fagocytozę. Alternatywną drogą wnikania jest przejście przez błonę śluzową. Patogeny wykorzystują receptor fragmentu Fc przeciwciał – FcRn. Bakterie związane z FcRn w trakcie transportu nie ulegają rozkładowi w endosomach [3]. *Vibrio cholerae* wydziela toksynę, która modyfikuje transport jonowy. *Shigella* oraz *E. coli* atakują i niszczą nabłonek. *E. coli*, zwiększając ekspresję receptora dla neuropeptydu galaniny 1, nasila wydzielanie jelitowe jonów chloru. Rotawirus, główna przyczyna biegunki u noworodków, indukuje jelitowy układ nerwowy. Kontakt patogenów z błoną śluzową jest również miejscem aktywacji układu odpornościowego. Enterocyty jako komórki immunofektorowe mają zdolność wydzielania cytokin, chemokin, mucyn, IgA oraz składowych kompleksu dopełniacza. Ponadto obecne na powierzchni nabłonka glikolipidy oraz glikoproteiny pełnią funkcję receptorów dla mikroorganizmów. Związanie przez powierzchniowy receptor lipopolisacharydu (składnik błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych) lub kwasu lipoteichojuowego (składnik błony komórkowej bakterii Gram-dodatnich) powoduje aktywację i rekrutację czynników transkrypcyjnych, jak np. jądrowy czynnik κB (ang. *nuclear factor κB* ; NF- κB). Skutkiem tych procesów jest inicjacja stanu zapalnego z udziałem prozapalnych cytokin [7].

Ryzyko powstania nieszczelnych jelit zwiększa się pod wpływem stresu. Funkcję regulatorową pełni czynnik uwalniający kortykotropinę (ang. *corticotropin-releasing factor*, CRF). CRF powoduje uwolnienie z przedniego płata przysadki adrenokortykotropiny (ang. *adrenocorticotrophic hormone*, ACTH), która następnie stymuluje korę nadnerczy do wydzielania kortyzolu oraz rdzeń nadnerczy do wydzielania katecholamin. W odpowiedzi na stresory, CRF, urokortyna 1 (ang. *Urocortin 1*, Ucn1), Ucn2 oraz Ucn3 – uwolnione z podwzgórza, ale także wydzielane przez komórki układu immunologicznego, lokalne neurony, komórki enterochromafinowe oraz enterocyty, działając poprzez swoiste receptory, regulują funkcję błony śluzowej oraz motorykę układu pokarmowego [16]. CRF działa bezpośrednio lub za pośrednictwem komórek tucznych (mastocytów), makrofagów, komórek dendrytycznych. Skutkiem aktywacji wymienionych komórek jest spadek ekspresji białek kompleksu TJ poprzez uwolnienie mediatorów, takich jak czynnik martwicy nowotworu (ang. *tumor necrosis factor alpha*, TNF- α) czy czynnik wzrostu nerwów (ang. *nerve growth factor*, NGF). Dodatkowo, eozynofile, wydzielając główne białko zasadowe (ang. *main basic protein*, MBP), powodują spadek ekspresji okludyny, tym samym osłabiając połączenia TJ i zwiększając przepuszczalność jelit. Stres ma również wpływ na mikroflorę jelitową: prowadzi do dysbiozy, zaburzona zostaje funkcja immunologiczna przez brak S-IgA oraz osłabiona regeneracja błony śluzowej. Zmiany te sprzyjają rozwojowi patogennych bakterii, które bezpośrednio niszczą ścianę jelit, powodując zwiększenie jej przepuszczalności [16,17].

Wśród składników pokarmowych negatywny wpływ na integralność błon komórkowych oraz przepuszczalność jelit, w badaniach z wykorzystaniem hodowli komórkowych, wykazano dla ekstraktów uzyskanych z papryczek chili, papryki słodkiej oraz szyszek chmielu. Wśród aminokwasów zwiększenie przepuszczalności powoduje alanina (badania na szczurach), w nadmiarze również tryptofan (badania na chomikach), a wśród średniołańcuchowych kwasów tłuszczowych – kwas laurynowy oraz kaprynowy (hodowla komórkowa) [18]. Alergie pokarmowe, przede wszystkim na produkty mleczne, jajka, zboża, kukurydzę, fasolę oraz orzechy, poprzez aktywację układu immunologicznego na powierzchni nabłonka jelit nasilają ich uszkodzenie. Alkohol powoduje uszkodzenie integralności błony, osłabiając połączenie międzykomórkowe przez obniżenie ekspresji białek kompleksu TJ: ZO-1 oraz kładyny-1 [19].

Rozwojowi zespołu nieszczelnego jelita sprzyja zażywanie antybiotyków oraz leków z grupy niesterydowych leków przeciwzapalnych (NLPZ), a w szczególności aspiryny oraz ibuprofenu. Antybiotyki powodują zniszczenie symbiotycznej flory bakteryjnej, która pomaga w neutralizowaniu fragmentów komórkowych, hormonów (nierozłożone estrogeny są ponownie absorbowane i deponowane w tkankach), żółci (uszkadza jelito grube), a także toksyn wirusowych i bakteryjnych. Brak fizjologicznej flory umożliwia przerost *Candida albicans*, która dodatkowo powoduje zniszczenie błony śluzowej jelita i rozszczelnienia

jelito, umożliwiając transport toksycznych związków do krwi i innych narządów. Hipotetyczny uszkodzający mechanizm związany z zażywaniem NLPZ tłumaczy się następująco. Absorpcja tej grupy leków w enterocytach hamuje fosforylację oksydacyjną w mitochondriach, prowadząc do uszkodzenia TJ. Wzrost przepuszczalności błony śluzowej powoduje zwiększoną ekspozycję na czynniki toksyczne oraz patogeny, której efektem są niespecyficzne zapalenie oraz owrzodzenie. Inną hipotezą jest zahamowanie syntezy ochronnych prostaglandyn przez NLPZ [20].

Przeciążenie układu immunologicznego, wynikające z neutralizacji toksyn, ciągłego produkowania przeciwciał (S-IgA) i mobilizacji leukocytów prowadzi do jego osłabienia, co w konsekwencji sprzyja namnożeniu mikroorganizmów i utrzymaniu przewlekłego stanu zapalnego. Rozregulowanie odpowiedzi immunologicznej w przebiegu ZNJ może być przyczyną przewlekłych chorób autoimmunologicznych, jak cukrzyca typu I, celiakia, choroba Crohna, zapalenie jelita grubego, toczeń układowy, stwardnienie rozsiane, choroba Hashimoto czy RZS.

Choroby autoimmunologiczne

Choroby autoimmunologiczne charakteryzują się uszkodzeniem i utratą funkcji narządów wskutek nadreaktywności układu odpornościowego skierowanego bezpośrednio na własne tkanki (tzw. autoimmunizacja). Patogeneza chorób z autoagresji początkowo wskazywała na udział bakterii i wirusów. Tłumaczono to podobieństwem antygenów bakteryjnych czy wirusowych do antygenów własnych, a aktywacja układu immunologicznego przy ekspozycji na obcy antygen miała jednocześnie kierować atak na komórki własne organizmu. Wyniki badań u ludzi wskazują na udział mikroorganizmów w progresji choroby, a nie w jej inicjacji. Inna teoria sugeruje, że uszkodzenie tkanek podczas aktywnej infekcji prowadzi do rozwoju autoimmunizacji. Etiologia autoagresji nie została jednak do końca poznana. Cechami wspólnymi dla chorób autoimmunologicznych jest predyspozycja genetyczna, faktyczna ekspozycja na antygen oraz prezentacja antygeny układowi odpornościowemu (w błonie śluzowej jelit czy płuc). Stała ekspozycja na antygen oraz uszkodzenie bariery ochronnej jest konieczne dla rozwoju choroby z autoagresji [9]. Wymienione czynniki są wspólne również dla zespołu nieszczelnego jelita, stąd w poznaniu patogenezy tych schorzeń warto uwzględnić te podobieństwa.

Nieszczelność jelit w chorobach autoimmunologicznych

Celiakia

Najlepiej poznanym schorzeniem, którego patogeneza jest związana z zespołem nieszczelnego jelita, jest celiakia (choroba trzewna). W etiologii choroby wia-

domie są: zaburzenie genetyczne dotyczące genów zgodności tkankowej (HLA-DQ2 i/lub DQ8) oraz obecność antygeny środowiskowego, tj. glutenu i związków z nim prolamin, obecnych w ziarnach zbóż. Kontakt białek glutenu z błoną śluzową jelit u osób predysponowanych genetycznie powoduje autoimmunizację prowadzącą do uszkodzenia błony śluzowej jelit, zaburzeń trawienia oraz wchłaniania [9]. Badania bioptatów jelit oraz krwi chorych na celiakię wskazują udział zonuliny w powstaniu nieszczelnych jelit. W badanych tkankach wykazano większe stężenie zonuliny w porównaniu do zdrowej kontroli [11,21]. W celiakii gliadyna obecna w glutenie łączy się z receptorem CXCR3 obecnym na enterocytach, co powoduje aktywację zależnego od białka MyD88 szlaku zonuliny, która rozluźniając TJ, zwiększa przepuszczalność jelit. Dodatkowo, aktywacja układu odpornościowego z udziałem interleukiny-8 podtrzymuje stan zapalny, a zwiększona przepuszczalność jelit pozwala na transport do krążenia antygenów, bakterii oraz toksyn. Zaburzenia trawienia w czasie trwania choroby wzmagają transport do krążenia niestrawionych składników, które mogą nasilać procesy autoimmunizacji. Dodatkowo, nieszczelność jelit u chorych na celiakię może być wynikiem obecności polimorfizmów w genach MYO9B, PARD3 oraz MAGI2 związanych z funkcją TJ [14].

Cukrzyca typu 1

Cukrzyca typu 1 jest chorobą autoimmunologiczną związaną z predyspozycją genetyczną w ponad 20 regionach chromosomalnych, spośród których region HLA (IDDM1 locus) jest główną determinantą ryzyka zachorowalności. Chorobę mogą aktywować wirusy takie jak np. *Coxsackie*, *Mumps rubulavirus*, EBV, CMV czy VZV, chociaż antygen nie został poznany [22,23]. W cukrzycy typu 1 stwierdzono zaburzenia w obrębie układu pokarmowego dotyczące zwiększonej przepuszczalności, stanu zapalnego oraz zaburzeń mikroflory jelitowej. Badania przeprowadzone na modelach zwierzęcych wykazały, że zmiany w jelitach poprzedzają rozwój cukrzycy o kilka tygodni, a wykazana nieszczelność jelit jest zależna od zonuliny [9]. Dodatkowo w badaniach histologicznych wykazano brak zniszczenia komórek trzustkowych przy już obecnych zmianach w przepuszczalności jelit [14]. U ludzi wykazano tę samą kolejność zmian. 42% chorych miało nieprawidłowy, podwyższony poziom zonuliny w surowicy, który korelował ze wzrostem przepuszczalności jelit *in vivo* i zmianami w ekspresji kładyny-1, kładyny-2 oraz miozyny IXB, białek, które biorą udział w tworzeniu TJ. Podwyższone stężenie zonuliny w surowicy u osób genetycznie predysponowanych, jeszcze bez objawów, poprzedza rozwój cukrzycy typu 1 średnio o 3,5 roku [23]. U chorych na cukrzycę typu 1 wykazano również polimorfizm genu MYO9B (miozyny IXB), którego produkt bierze udział w regulacji funkcji barierowej nabłonka jelitowego [14].

Nieswoiste zapalenie jelit (inflammatory bowel disease, IBD)

Choroba Crohna oraz wrzodziejące zapalenie jelita grubego (łac. *colitis ulcerosa*) określane są wspólnie jako nieswoiste choroby zapalne jelit. Ich etiologia nie jest poznana, ale badania pokazują udział czynników genetycznych, środowiskowych oraz immunologicznych. Schorzenie charakteryzuje się przewlekłym stanem zapalnym jelit, ich zwiększona przepuszczalność ma zasadnicze znaczenie [9,24]. W chorobie Crohna badania na modelach zwierzęcych pokazują, że zwiększona przepuszczalność jelit wyprzedza rozwój choroby, ale nie wykluczone, że uszkodzenie bariery jelitowej jest również konsekwencją stanu zapalnego toczącego się w jelitach [25]. Długotrwała obserwacja chorych oraz najbliższych członków ich rodzin wykazała nieszczelność jelit. Za prawdopodobną przyczynę uważa się mutację w genie NOD2, który bierze udział w modulacji odpowiedzi immunologicznej na bakterie jelitowe. Polimorfizmy NOD2 prowadzą do zaburzeń składu flory jelitowej, które sprzyjają powstaniu zmian zapalnych [25,26]. Ponadto różne warianty genu dla miozyny IxB także wskazują na związek z rozwojem choroby – dla wyjaśnienia tych zależności konieczne są dalsze badania [27].

Stwardnienie rozsiane

Stwardnienie rozsiane (łac. *sclerosis multiplex*, SM) jest schorzeniem układu nerwowego powodującym demielinizację i neurodegenerację. Uszkodzenie osłonek mielinowych oraz oligodendrocytów odbywa się za pośrednictwem limfocytów T. Reaktywnym białkiem wydaje się białko zasadowe mieliny (ang. *myelin basic protein*, MBP). W obszarach, w których następuje demielinizacja, obecne są przeciwciała anty-MBP oraz (u części chorych) anty-MOG (ang. *myelin oligodendrocyte glycoprotein*, MOG). Przyczyna i patogenezę choroby nie jest znana. Zwiększone ryzyko jej wystąpienia stwierdza się u osób z haplotypem HLA-DR2, należącymi do klasy II HLA, które uważa się za regulujące reakcje autoimmunologiczne. Badania epidemiologiczne wskazują ponadto na obecność czynnika środowiskowego, ponieważ zachorowalność, pomimo predyspozycji genetycznej, zmienia się w zależności od lokalnego ryzyka zachorowania [9,28]. U chorych na SM stwierdzono zwiększoną przepuszczalność jelit oraz podwyższony poziom zonuliny [9,29]. Grupę badanych stanowili pacjenci z postacią remitująco-nawracającą (*relapsing-remitting*) oraz postacią wtórnie postępującą (*secondary progressive*) SM. Podwyższone stężenie zonuliny wykazano u 1/3 chorych w obu grupach badanych. Chorzy z postacią remitująco-nawracającą SM, w remisji, mieli stężenie zonuliny porównywalne z grupą kontrolną zdrowych osób [9]. Inne badania wykazały obecność polimorfizmów pojedynczego nukleotydu (ang. *single nucleotide polymorphism*, SNP) w genie dla miozyny IxB [28].

Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa

Zesztywniające zapalenie stawów kręgosłupa (łac. *spondylitis ankylopoetica*, SA) jest przewlekłym, zwykle postępującym zapaleniem stawów krzyżowo-biodrowych, stawów kręgosłupa oraz pierścieni włóknistych i więzadeł kręgosłupa. W zaawansowanej postaci powoduje ograniczenie ruchomości oraz niepełnosprawność. Etiologia choroby nie jest znana. Prawdopodobny jest udział czynników genetycznych, immunologicznych (aktywacja odpowiedzi typu Th17) i środowiskowych (zakażenia bakteryjne – *Klebsiella pneumoniae*). U ponad 90% chorych rasy kaukaskiej wykryto antygen HLA-B27, który jest markerem genetycznym tej choroby. U pacjentów z SA oraz członków ich rodzin stwierdzono zwiększoną przepuszczalność jelit. Ponadto nieszczelność jelit poprzedza rozwój SA, może zatem być związana z etiologią choroby [30,31]. Li i wsp. wykazali w surowicy chorych z SA trzykrotnie zwiększoną ekspresję haptoglobiny (prekursorem jest zonulina), która może aktywować szlak zonuliny, a w konsekwencji zniszczenie TJ [32]. U 5–10% chorych z SA stwierdza się występowanie choroby Crohna lub wrzodziejącego zapalenia jelita grubego. Pomimo odmienności czynników genetycznych zwiększających ryzyko rozwoju wymienionych chorób, wspólny wydaje się immunopatomechanizm dotyczący zmian w jelitach oraz w stawach [33,34].

Podsumowanie

Zespół nieszczelnego jelita nie jest jednostką chorobową ani zdefiniowanym terminem medycznym. Liczne badania pokazują, że jest to zaburzenie towarzyszące wielu chorobom, w tym autoimmunologicznym – stąd rosnące zainteresowanie tym tematem. W chorobach związanych bezpośrednio z dysfunkcją układu pokarmowego, takich jak celiakia czy idiopatyczne zapalenia jelit, poszukiwanie mechanizmów zaburzenia bariery jelitowej jest logiczne. Niespodziewane jest natomiast stwierdzenie tego typu nieprawidłowości w chorobach, których główne objawy lokalizują się w innych niż jelita narządach. Z przedstawionych informacji można wnioskować, że ZNJ niejednokrotnie poprzedza rozwój choroby podstawowej. Poznanie przyczyn i mechanizmu ZNJ może pozwolić na zidentyfikowanie czynników wyzwalających daną chorobę oraz umożliwić opracowanie postępowania mającego na celu regenerację i odbudowę ściany jelit. Przywrócenie prawidłowej budowy i funkcji bariery jelitowej może zwiększyć skuteczność rutynowo stosowanych terapii.

Bibliografia

1. Sawicki W, Malejczyk J. *Histologia*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2012.
2. Konturek SJ. *Fizjologia człowieka*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Wrocław 2007.
3. Górską S, Jarzab A, Gamian A. *Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy*. Postepy Hig Med Dosw (online). 2009; 63, 653–667.
4. Fasano A. *Physiological, pathological, and therapeutic implications of zonulin-mediated intestinal barrier modulation: living life on the edge of the wall*. Am J Pathol. 2008; 173(5), 1243–1252.
5. Działo J, Niedźwiedzka-Rystwej P, Mękal A, Deptuła W. *Charakterystyka tkanki limfatycznej błon śluzowych przewodu pokarmowego i układu oddechowego*. Alergia Astma Immunologia. 2010; 15(4): 197–202.
6. Gieryńska M, Kalinowska-Gacek E. *Błony śluzowe – stan gotowości immunologicznej. Część II*. Życie Weterynaryjne. 2009; 84(2): 115–122.
7. Canny GO, McCormick BA. *Bacteria in the intestine, helpful residents or enemies from within?* Infect Immun. 2008; 76(8): 3360–3373.
8. O’Hara AM, Shanahan F. *The gut flora as a forgotten organ*. EMBO Rep. 2006; 7(7), 688–693.
9. Fasano A. *Leaky gut and autoimmune diseases*. Clinic Rev Allerg Immunol. 2012; 42(1): 71–78.
10. Fasano A. *Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer*. Physiol Rev. 2011, 91(1), 151–175.
11. Fasano A, Not T, Wang W, et al. *Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease*. Lancet. 2000; 358: 1518–1519.
12. Wang W, Uzzau S, Goldblum SE, et al. *Human zonulin, a potential modulator of intestinal tight junctions*. J Cell Sci. 2000; 113: 4435–4440.
13. El Asmar R, Panigrahi P, Bamford P, et al. *Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure*. Gastroenterology. 2002; 123(5): 1607–1615.
14. Visser J, Rozing J, Sapone A, et al. *Tight junctions, intestinal permeability, and autoimmunity: celiac disease and type 1 diabetes paradigms*. Ann N Y Acad Sci. 2009; 1165: 195–205.
15. Lammers KM, Lu R, Brownley J, et al. *Gliadin induces an increase in intestinal permeability and zonulin release by binding to the chemokine receptor CXCR3*. Gastroenterology. 2008; 135(1): 194–204.e3.
16. Rodiño-Janeiro BK, Alonso-Cotoner C, Pigrau M, et al. *Role of corticotropin-releasing factor in gastrointestinal permeability*. J Neurogastroenterol Motil. 2015; 21(1): 33–50.
17. Konturek PC, Brzozowski T, Konturek SJ. *Stress and the gut: pathophysiology, clinical consequences, diagnostic approach and treatment options*. J Physiol Pharmacol. 2011; 62(6): 591–599.

18. Ulluwishewa D, Anderson RC, McNabb WC, et al. *Regulation of tight junction permeability by intestinal bacteria and dietary components*. J Nutr. 2011; 141(5): 769–776.
19. Wang Y, Tong J, Chang B, et al. *Effects of alcohol on intestinal epithelial barrier permeability and expression of tight junction-associated proteins*. Mol Med Rep. 2014; 9(6): 2352–2356.
20. Matsui H, Shimokawa O, Kaneko T, et al. *The pathophysiology of non-steroidal anti-inflammatory drug (NSAID)-induced mucosal injuries in sach and small intestine*. J Clin Biochem Nutr. 2011; 48(2): 107–111.
21. Drago S, El Asmar R, De Pierro 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: 408–419.
22. Precechtelova J, Borsanyiova M, Sarmirova S, et al. *Type I diabetes mellitus: genetic factors and presumptive enteroviral etiology or protection*. J Pathog. 2014; 10.1155/2014/738512.
23. Sapone A, de Magistris L, Pietzak M, et al. *Zonulin upregulation is associated with increased gut permeability in subjects with type I diabetes and their relatives*. Diabetes. 2006; 55(5): 1443–1449.
24. Vanuytsel T, Vermeire S, Cleynen I. *The role of Haptoglobin and its related protein, Zonulin, in inflammatory bowel disease*. Tissue Barriers. 2013; 1(5): 10.4161/tisb.27321.
25. Teshima CW, Dieleman LA, Meddings JB. *Abnormal intestinal permeability in Crohn's disease pathogenesis*. Ann N Y Acad Sci. 2012; 1258: 159–165.
26. Strober W, Asano N, Fuss I, et al. *Cellular and molecular mechanisms underlying NOD2 risk-associated polymorphisms in Crohn's disease*. Immunol Rev. 2014; 260(1): 249–260.
27. Prager M, Durmus T, Büttner J, et al. *Myosin LXB variants and their pivotal role in maintaining the intestinal barrier: a study in Crohn's disease*. Scand J Gastroenterol. 2014; 49(10): 1191–1200.
28. Kempainen A, Suvela M, Tienari PJ, et al. *MYO9B polymorphisms in multiple sclerosis*. Eur J Hum Genet. 2009; 17(6): 840–843.
29. Yacyshyn B, Meddings J, Sadowski D, et al. *Multiple sclerosis patients have peripheral blood CD45RO+ B cells and increased intestinal permeability*. Dig Dis Sci. 1996; 41(12): 2493–2498.
30. Cauli A, Dessole G, Fiorillo MT, et al. *Increased level of HLA-B27 expression in ankylosing spondylitis patients compared with healthy HLA-B27-positive subjects: a possible further susceptibility factor for the development of disease*. Rheumatology (Oxford). 2002; 41(12): 1375–1379.
31. Zambrano-Zaragoza JF, Agraz-Cibrian JM, González-Reyes C, et al. *Ankylosing spondylitis: from cells to genes*. Int J Inflamm. 2013; 10.1155/2013/501653.
32. Li T, Huang Z, Zheng B, et al. *Serum disease-associated proteins of ankylosing spondylitis: results of a preliminary study by comparative proteomics*. Clin Exp Rheumatol. 2010; 28(2): 201–207.
33. Rudwaleit M, Baeten D. *Ankylosing spondylitis and bowel disease*. Best Pract Res Clin Rheumatol. 2006; 20(3): 451–471.

34. Rashid T, Wilson C, Ebringer A. *The link between ankylosing spondylitis, Crohn's disease, Klebsiella, and starch consumption*. Clin Dev Immunol. 2013; 10.1155/2013/872632.

Leaky gut syndrome in autoimmune diseases

Abstract

Leaky gut syndrome (LGS) is associated with increased permeability of the intestinal mucosa due to the destruction of its structure and associated abnormal function. Heterogeneous etiology includes infections, stress, pregnancy, diet, menopause, medication, and food allergies. The end result is damage and destabilization of the intestinal mucosa leading to loss of the ability to properly filter nutrients and other substances. As a result of increased intestinal permeability, incompletely digested nutrients, microbes and toxins that would be removed in normal conditions enter the bloodstream, thereby adversely affecting the whole organism. Chronic exposure to foreign antigens overloads the immune system. Finally, disorders of the digestive system may appear, resulting in chronic fatigue, food intolerances, joint pain and dermopathy. Dysregulation of the immune response in the course of LGS may finally lead to chronic autoimmune diseases including diabetes, systemic lupus erythematosus, Crohn's disease, colitis, multiple sclerosis, Hashimoto's disease, or rheumatoid arthritis (RA).

Key words: leaky gut syndrome (LGS), autoimmune diseases, zonulin, autoimmunity