Нефрология.
2022. Том 26. №2. С. 46-64
ISSN 1561-6274 (print)

Nephrology (Saint-Petersburg).
2022;26(2):46-64
ISSN 2541-9439 (online)

© М.О. Пятченков, А.Ш. Румянцев, Е.В. Щербаков, А.Г. Марков, 2022
УДК 616.61 : 616.34.019.941

doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-2-46-64

СТРУКТУРНО-ФУНКЦИОНАЛЬНЫЕ НАРУШЕНИЯ КИШЕЧНОГО БАРЬЕРА И ХРОНИЧЕСКАЯ БОЛЕЗНЬ ПОЧЕК. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ЧАСТЬ II

Михаил Олегович Пятченков[1]✉, Александр Шаликович Румянцев[2,3], Евгений Вячеславович Щербаков[4], Александр Георгиевич Марков[5]

[1,4] Кафедра нефрологии и эфферентной терапии, Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова, Санкт-Петербург, Россия;
[2] кафедра факультетской терапии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;
[3] кафедра пропедевтики внутренних болезней, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;
[5] кафедра общей физиологии, Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия

[1] pyatchenkovMD@yandex.ru. https://orcid.org/0000-0002-5893-3191
[2,3] rash.56@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-9455-1043
[4] evgenvmeda@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-3045-1721
[5] a.markov@spbu.ru. https://orcid.org/0000-0002-2867-044X

РЕФЕРАТ

Последние несколько десятилетий ознаменовались значительным прогрессом в изучении микробно-тканевого комплекса кишечника и его роли в патогенезе широкого круга заболеваний. Все больше данных подтверждают наличие дисфункции кишечного барьера, в том числе, при различных нефропатиях. Пациенты с хронической болезнью почек (ХБП) характеризуются специфическими нарушениями качественного и количественного состава кишечной микробиоты. Эти изменения способствуют увеличению ферментации пищевых белков в уремические токсины, такие как р-крезил сульфат, индоксил сульфат и триметиламиноксид (ТМАО), расстройствам механизмов иммунной толерантности слизистой оболочки, дезорганизации плотных контактов кишечного эпителия, что неизбежно ведет к повышению трансэпителиальной проницаемости. Транслокация бактерий и продуктов микробного метаболизма из просвета кишечника в системную циркуляцию ответственна за системное воспаление, которое в настоящее время рассматривается в качестве одной из ведущих причин прогрессирования ХБП и связанных с ней осложнений. Тем не менее, точные механизмы взаимодействия между кишечником и почками остаются малоизученными. Во второй части обзора дана подробная характеристика структурно-функциональным нарушениям слизисто-эпителиального барьера кишечника, выявляемым при различных нефропатиях. Обсуждаются механизмы индуцированного уремией повреждения кишечного эпителия, а также современные возможности терапевтической коррекции последствий дисфункции кишечного барьера у больных с ХБП.

Ключевые слова: кишечный барьер, плотные контакты, кишечная проницаемость, хроническая болезнь почек, уремия

Для цитирования: Пятченков М.О., Румянцев А.Ш., Щербаков Е.В., Марков А.Г. Структурно-функциональные нарушения кишечного барьера и хроническая болезнь почек. Обзор литературы. Часть II. *Нефрология* 2022;26(2):46-64. doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-2-46-64

STRUCTURAL AND FUNCTIONAL INTESTINAL BARRIER ABNORMALITIESAND CHRONIC KIDNEY DISEASE.LITERATURE REVIEW. PART II

Mikhail O. Pyatchenkov[1]✉, Alexandr Sh. Rumyantsev[2,3], Evgeniy V. Sherbakov[4], Alexander G. Markov[5]

[1,4] Department of Nephrology and Efferent Therapy, Military Medical Academy S.M. Kirov, Saint Petersburg, Russia;
[2] Department of Faculty Therapy, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia;
[3] Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russian Federation;
[5] Department of General Physiology, Saint Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

[1] pyatchenkovMD@yandex.ru, https://orcid.org/0000-0002-5893-3191
[2-3] rash.56@mail.ru, https://orcid.org/0000-0002-9455-1043
[4] evgenvmeda@mail.ru. https://orcid.org/0000-0002-3045-1721
[5] a.markov@spbu.ru,https://orcid.org/0000-0002-2867-044X

ABSTRACT

The last few decades have been marked by significant progress in the investigation of the intestinal microbial-tissue complex and its role in the pathogenesis of a wide range of diseases. The presence of intestinal barrier dysfunction has also been confirmed in various nephropathies. Patients with chronic kidney disease (CKD) are characterized by specific alterations of the qualitative and quantitative composition of the gut microbiota. These changes contribute to an increase in the fermentation of food proteins into uremic toxins, such as p-cresyl sulfate, indoxyl sulfate and trimethylaminoxide, disorders of immune tolerance mechanisms of the mucous membrane, disorganization of intestinal epithelium tight junctions, which inevitably leads to an increase of transepithelial permeability. Translocation of bacteria and microbial metabolism products from the intestinal lumen into the systemic circulation is responsible for systemic inflammation, which is currently considered as one of the leading causes of the CKD progression and related complications. However, the exact mechanisms of gut-kidney interaction remain poorly understood. The second part of the review gives a detailed description of the structural and functional disorders of the intestinal muco-epithelial barrier identified in various nephropathies. The mechanisms of uremia-induced intestinal epithelial disruption are discussed, as well as the current therapeutic strategies that may attenuate consequences of intestinal barrier dysfunction in patients with CKD.

Keywords: intestinal barrier, tight junction, intestinal permeability, chronic kidney disease, uremia

For citation: Pyatchenkov M.O., Rumyantsev A.Sh., Shcherbakov E.V., Markov A.G. Structural and functional disorders of the intestinal barrier and chronic kidney disease. Literature review. Part II. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2022;26(2):46-64. doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-2-46-64

ВВЕДЕНИЕ

Желудочно-кишечный тракт человека колонизирован микробиотой – сложным сообществом микроорганизмов, которые существуют в симбиотических отношениях с хозяином, участвуя в переваривании и всасывании нутриентов, синтезе и биотрансформации питательных веществ, модуляции иммунной системы, защите от патогенов, тем самым способствуя поддержанию гомеостаза организма [1, 2]. Важнейшей функцией слизистой оболочки кишечника является формирование барьера, способного ограничить транслокацию люминальных бактерий, продуктов их метаболизма и пищевых антигенов в системную циркуляцию, обеспечивая при этом селективный транспорт электролитов, воды и питательных веществ. Именно тонко настроенное взаимодействие этой сложной многокомпонентной системы позволяет поддерживать равновесную проницаемость и симбиотические взаимоотношения с комменсальной микрофлорой [3]. В свою очередь дисфункция барьера и синдром повышенной эпителиальной проницаемости кишечника, известный в зарубежной литературе как синдром «дырявой кишки», могут быть ключевым звеном патогенеза множества заболеваний, причем как кишечных, так и системных [4, 5]. За последние несколько лет также был достигнут значительный прогресс в изучении механизмов, лежащих в основе патогенетической связи кишечник–почки. Прогрессирование хронической болезни почек (ХБП) до терминальной стадии сопровождается специфическими изменениями в составе кишечной микробиоты, развитием воспаления стенки кишечника, нарушением целостности слизисто-эпителиального слоя, что приводит к ускоренной системной транслокации токсичных продуктов микробного метаболизма, последующему повреждению почек, а также развитию различных осложнений у больных с нефропатиями [6, 7]. Исходя из вышесказанного, поиск путей воздействия на механизмы формирования дисбактериоза и синдрома повышенной эпителиальной проницаемости кишки может рассматриваться в качестве одного из важнейших направлений патогенетической терапии и профилактики неблагоприятных исходов у пациентов с ХБП.

Основные сведения, касающиеся нормальной структуры и физиологии кишечного барьера, методов оценки его проницаемости, качественных и количественных изменений состава кишечной микробиоты, выявляемых у больных с ХБП, а также механизмов их возникновения, подробно рассмотрены в первой части нашего обзора [8]. В настоящей статье представлены клинические и экспериментальные данные, связывающие почечную недостаточность с повышенной проницаемостью кишечника и системным воспалением. Кроме того, обсуждаются современные возможности терапевтической коррекции последствий дисфункции кишечного барьера, восстановления целостности и нормализации его проницаемости у больных с ХБП.

Структурно-функциональные нарушения слизисто-эпителиального слоя стенки кишки при ХБП

Все больше данных свидетельствуют о том, что поражение почек сопровождается нарушениями структуры и функции всех компонентов кишечного барьера, что неизбежно ведет к повышению его проницаемости [9]. Индуцированные уремией изменения кишечной микробиоты у больных с ХБП подробно описаны в первой части наше-

го обзора. Стоит отметить, что наблюдаемые отклонения в составе кишечной микрофлоры у этих больных осложняются разнообразными дефектами слизисто-эпителиального слоя, которые облегчают попадание бактерий и их токсинов в системный кровоток. Неблагоприятные эффекты токсичных веществ дисбиотической микробной флоры усугубляются уменьшением синтезируемых нормальной микробиотой веществ, участвующих в защитных реакциях организма. Среди последних можно выделить короткоцепочечные жирные кислоты (КЦЖК), которые необходимы для поддержания целостности и нормального функционирования кишечного эпителия [10]. M. Magnusson и соавт. одними из первых продемонстрировали повышенную проницаемость кишечной стенки для перорально введенного полиэтиленгликоля с высокой молекулярной массой путем определения его содержания в моче у животных и людей с ХБП [11, 12]. Учитывая роль плотных контактов (ПК), как ключевого структурно-функционального элемента эпителиального барьера, наблюдаемое увеличение проницаемости кишечника при уремии может быть связано именно с нарушением их функционирования. Руководствуясь этой гипотезой, N. Vaziri и соавт. изучили изменения молекулярных компонентов ПК в тканях кишки крыс с ХБП, вызванные субтотальной нефрэктомией и аденин-индуцированным хроническим тубулоинтерстициальным нефритом. Было выявлено выраженное снижение экспрессии белков окклюдина, клаудина-1 и ZO-1 во всех отделах желудочно-кишечного тракта у животных с почечной недостаточностью по сравнению со здоровыми крысами. При этом между группами отсутствовала разница в степени экспрессии мРНК изучаемых протеинов, что может указывать на посттранскрипционный или посттрансляционный механизм выявленных изменений. Структурные нарушения ПК эпителия толстой кишки у животных с ХБП сопровождались отеком и выраженной инфильтрацией мононуклеарными лейкоцитами слизистой оболочки [13, 14]. В исследовании A. Gonzalez и соавт. окрашивание слизистой оболочки толстой кишки альциановым синим выявило почти 50% снижение содержания муцина у крыс с 5/6 нефрэктомией. Иммуногистохимический анализ также показал, что экспрессия основного компонента кишечной слизи муцина 2 (Muc2) у этих животных была на 30% меньше по сравнению с контролем. Обнаруженные изменения ассоциировались со значительным снижением тканевого уровня клаудина-1, ZO-1, кишечного противовоспалительного ИЛ-10 и антимикробного кателицидин-ассоциированного пептида (CRAMP) на фоне выраженного повышения плазменного уровня липополисахарида (ЛПС) [15]. В исследовании J. Yang секвенирование ДНК бактериальных колоний в фекалиях 5/6 нефрэктомированных мышей продемонстрировало у них снижение микробного разнообразия с относительным увеличением разновидностей клостридий и уменьшением лактобацилл по сравнению с контрольными животными без патологии почек. Дисбактериоз при ХБП был связан с повышенной проницаемостью кишечника, подтвержденной увеличением активности флюоресцеина в крови через 4 ч после перорального введения FITC-декстрана. При этом экспрессия клаудина-1 в толстой кишке мышей с ХБП была снижена, в то время как содержание каналообразующего клаудина-2 увеличивалось [16]. N. Zhou и соавт. обнаружили дисфункцию кишечного барьера в экспериментальной модели IgA-нефропатии. Экспрессия мРНК белков ПК ZO-1, окклюдина и Muc2 была значительно снижена у модельных животных по сравнению с контрольной группой. Выявленные изменения сопровождались преобладанием в кишечной флоре бактерий рода *Ruminococcus2* и *Flavonifractor*, снижением численности бактерий рода *Turicibacter*, а также достоверным повышением уровня маркеров, свидетельствующих о повышенной проницаемости кишечной стенки (диаминоксидазы и D-лактата) [17]. Схожие данные были получены T. Kovács и соавт. у больных с IgA-нефропатией. Повышенная кишечная проницаемость, оцененная при помощи теста с функциональной экскрецией ^{51}Cr-EDTA, не только обратно коррелировала с выраженностью протеинурии и/или гематурии, но и служила значимым неблагоприятным прогностическим фактором снижения функции почек в течение 4-летнего периода наблюдения [18]. Таким образом, нарушение целостности кишечного барьера может лежать в основе иммунного дисбаланса слизистой оболочки кишки и играть важную роль в патогенезе IgA-нефропатии.

Повреждение слизисто-эпителиального слоя кишки облегчает системную транслокацию бактерий, продуктов микробного метаболизма, а также протеинов, вовлеченных в структуру кишечного барьера. Следовательно, повышение их содержания в биологически средах, выявляемое у животных и людей с патологией почек, может служить косвенным подтверждением нарушения целостности и повышенной проницаемости кишечной стенки. Так, J. Almeida Duarte и соавт. по-

казали, что у крыс с экспериментальной уремией люминальные бактерии могут проникать через стенку кишечника и попадать в мезентериальные лимфатические узлы [19]. M. Bossola и соавт. обнаружили фрагменты ДНК кишечных бактерий в крови больных, получающих лечение гемодиализом (ГД) [20]. Схожие результаты были получены F. Wang и соавт., которые также идентифицировали бактериальные ДНК в крови 20% (6 из 30) пациентов с терминальной почечной недостаточностью. Все выявленные в крови штаммы (*Klebsiella spp., Proteus spp., Escherichia spp., Enterobacter spp.* и *Pseudomonas spp.*) доминировали в кишечнике у обследуемых больных. Уровни D-лактата плазмы, высокочувствительного С-реактивного белка (вчСРБ) и ИЛ-6 были значительно выше у пациентов с бактериальной транслокацией, чем у пациентов без нее [21].

Содержание циркулирующего эндотоксина (естественная форма ЛПС), являющегося структурным компонентом клеточной стенки некоторых грамотрицательных бактерий, повышается по мере прогрессирования ХБП, и достигает максимальных значений у пациентов на заместительной почечной терапии. В когорте из 306 пациентов, находящихся на ГД, уровень эндотоксина в крови коррелировал с тяжестью системного воспаления при отсутствии клинически обнаруживаемой инфекции [22]. Кроме того, в ряде исследований у лиц с ХБП была показана взаимосвязь эндотоксемии с повышенной проницаемостью кишечника [23] и системным воспалением [24, 25]. Однако, учитывая короткий период полураспада и ограничения использующегося для его анализа реакции лизата амебоцитов (Limulus amebocyte lysate, LAL-тест), измерение содержания эндотоксина может быть не самым лучшим методом оценки кишечной проницаемости. В качестве альтернативы может быть использован подход с определением уровня CD14, который играет ключевую роль во врожденном иммунитете в качестве рецептора распознавания образов эндотоксина. По данным R. Poesen и соавт., концентрация растворимого CD14 увеличивается параллельно со снижением функции почек, а кроме того, связана с общей и сердечно-сосудистой смертностью [26].

Для повышенной проницаемости кишечной стенки также типично увеличение концентрации в крови большинства уремических токсинов, уровень которых обычно коррелирует со скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) [27, 28]. Так, например, кишечная микробиота у пациентов с сахарным диабетом 2 типа и прогрессирующей ХБП характеризуется значительным увеличением видов бактерий, продуцирующих ЛПС (*Proteobacteria, Verrucomicrobia, Fusobacteria)* и ТМАО (*Clostridium*, *Escherichia*, *Enterobacter*, *Acinetobacter*, *Proteus)*. Дисбиотические изменения при этом ассоциируются с повышенными показателями кишечной проницаемости (зонулин), системного воспаления (ФНО-α, ИЛ-6, СРБ) и эндотелиальной дисфункции (эндотелин-1) [29, 30]. P. Aronov и совт. подтверждено кишечное происхождение нескольких наиболее известных уремических токсинов. В плазме крови у пациентов с ХБП 5 стадии и интактной толстой кишкой методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) было обнаружено более 30 только водорастворимых веществ, которые присутствовали в значительно более низкой концентрации или вообще отсутствовали у лиц с нормальной функцией почек и у больных с терминальной почечной недостаточностью, перенесших тотальную колонэктомию [31]. Между тем, не существует единого мнения относительно ведущего механизма их накопления у больных с нарушением функции почек. R. Poesen и соавт. с помощью метода газовой хроматографии-масс-спектрометрии выявили в образцах кала у гемодиализных больных более высокое содержание индолов, р-крезола, бензолов, альдегидов, фуранов и жирных кислот с разветвленной, средней и короткой цепями, а также снижение образования кетонов по сравнению со здоровыми ровесниками. В то же время, отмечалось сходство в профилях метаболитов изучаемой когорты больных с сопоставимыми по возрасту, полу, индексу массы тела и наличию сахарного диабета совместно проживающими с ними здоровыми лицами, имеющими общие диетические привычки. Следовательно, наблюдаемые у больных с ХБП изменения содержания уремических токсинов, по мнению авторов, преимущественно были связаны с особенностями питания пациентов и, в меньшей степени, с конкретной патологией почек [32]. Именно нарушение усвоения белка и низкое потребление клетчатки, характерные для больных с тяжелой ХБП, могут способствовать протеолитическому брожению и последующей избыточной продукции микробных уремических токсинов [26]. T. Gryp и соавт., напротив, установили, что при прогрессировании почечной недостаточности наблюдается увеличение концентрации в плазме крови уремических токсинов, связанных с белками, в то время как уровни этих веществ и их предшественников в кале и моче остаются неизмененными. Культивирование об-

разцов кала *ex vivo* не выявило значимой разницы в скорости бактериального синтеза р-крезола, индола и индол-3-уксусной кислоты. Таким образом, установленные различия в содержании этих уремических токсинов между больными на разных стадиях ХБП предполагают, что снижение фракционного клиренса почками является основной причиной повышения их уровня в плазме [34]. В свою очередь, результаты исследования, проведенного X. Wang и соавт., представляют доказательства того, что именно аберрантная микробиота у пациентов с ХБП является главной детерминантой ускоренного биосинтеза многочисленных токсичных соединений. Метаболомы кала и сыворотки крови 223 пациентов, получающих лечение ГД, были тесно взаимосвязаны и характеризовались накоплением уремических токсинов и вторичных желчных кислот, оказывающих негативное воздействие на различные физиологические реакции организма. Одними из наиболее обогащенных видов были *Eggerthella lenta* и *Fusobacterium nucleatum*. Трансплантация кишечной микробиоты от пациентов с ХБП приводила к повышению концентрации в крови уремических токсинов, а также усугубляла фиброз почек и окислительный стресс у стерильных мышей с лекарственно-индуцированным нефритом, чего не наблюдалось у мышей-реципиентов микробиоты от здоровых доноров [35]. Последующие исследования в этом направлении, возможно, дадут ответ на вопрос, может ли модуляция микробиоты кишечника с помощью диеты, пробиотиков или других терапевтических средств уменьшить системные проявления уремической токсичности, улучшить выживаемость и качество жизни, а также отсрочить необходимость в лечении диализом или трансплантации почки у пациентов ХБП.

По мнению ряда исследователей, зонулин представляет собой перспективный маркер хронического воспаления и нарушения стабильности барьера кишечника. Этот пептид, являющийся предшественником гаптоглобина 2, увеличивает проницаемость эпителиального слоя тонкой кишки за счет обратимой модуляции межклеточных ПК, правильное функционирование которых имеет решающее значение для поддержания парацеллюлярного транспорта [36]. Повышение концентрации сывороточного и фекального зонулина обнаружено при широком круге патологий [37, 38]. Результаты исследований, в которых изучалось содержание зонулина у больных с нефропатиями, имеют весьма противоречивых характер. В своей работе J. Ficek и соавт. показали, что концентрации зонулина, вчСРБ, ИЛ-6 и ФНО-α были достоверно выше у пациентов на ГД, в то время как уровни гаптоглобина 2, ЛПС и D-лактата не отличались от здоровой контрольной группы [39]. С другой стороны – у больных с диабетической нефропатией было обнаружено более низкое содержание сывороточного зонулина по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с СД 2 типа без патологии почек [40–42]. Кроме того, положительная корреляция между концентрацией зонулина и СКФ наблюдалась в выборке пациентов с сердечной недостаточностью [43], ранними стадиями ХБП [44] и реципиентов почечного трансплантата [45].

Согласно данным H. Trachtman и соавт., содержание зонулина повышено у детей с нефротическим синдромом. Клинические данные 114 пациентов были получены из многоцентрового обсервационного когортного исследования NEPTUNE. Средний уровень зонулина в плазме крови составил 14,2±5,0 против 10,2±2,5 нг/мл в группе контроля (p=0,0025). Концентрация зонулина не зависела от причины и клинической активности заболевания, уровня протеинурии, характера иммуносупрессивной терапии [46]. Между тем, точная патофизиологическая причина повышения уровня зонулина при нефротическом синдроме (изменение в механизмах регуляции, синтеза или внепочечного клиренса) требует дальнейшего изучения.

У больных с нарушением функции почек, особенно в терминальной стадии, было показано повышение уровня различных биомаркеров, характеризующих воспаление кишечной стенки, повреждение энтероцитов и дезорганизацию ПК. Среди них: интестинальная фракция белков, связывающих жирные кислоты (I-FABP) [47], бета-D-глюкан [48], сывороточный и фекальный бутират [49], кальпротектин [50], альфа-1 антитрипсин [51]. Данные систематического обзора 15 исследований с использованием разнообразных неинвазивных методов оценки проницаемости кишечника, в целом, свидетельствуют о ее повышение у больных с прогрессирующей ХБП. По мнению авторов, количественная ПЦР бактериальной ДНК в крови и уровень D-лактата наименее подвержены влиянию снижения функции почек [52]. Следует, однако, отметить, что ни один из биомаркеров не был валидирован в репрезентативной популяции пациентов с ХБП, поэтому их использование в качестве индикатора повышенной проницаемости кишечника у этой категории пациентов нуждается в уточнении.

Механизмы индуцированного уремией повреждения эпителиального слоя кишечного барьера

В попытке понять механизмы вызванных уремией дефектов ПК N. Vaziri и соавт. подвергали колоноциты человека (клеточная линия T84) воздействию сред с клинически значимым содержанием мочевины. Концентрация мочевины была приближена к постдиализным (74 или 42 мг/дл) значениям, как правило, выявляемым у больных с терминальной почечной недостаточностью. Было установлено концентрационно-зависимое снижение трансэпителиального сопротивления клеточного монослоя, свидетельствующее о повышении его проницаемости, а также снижение экспрессии белков ПК (рис. 1). Добавление в питательную среду уреазы, имитирующей присутствие микробной флоры, приводило к последующему резкому снижению содержания окклюдина, клаудина-1 и ZO-1 и даже отслоению клеток. В то же время, изолированное добавление к культуре клеток уреазы или плазмы крови здорового человека с нормальным содержанием мочевины не оказывало существенного влияния на электрофизиологические показатели эпителия [53, 54]. Эти результаты выявили потенциальный механизм, ответственный за нарушение барьерной функции кишечника и эндотоксемию у людей и животных с прогрессирующей ХБП. Снижение экскреции продуктов азотистого обмена с мочой приводит к повышению их концентрации во внутриклеточном и внеклеточном жидкостных компартментах организма, в том числе к их интенсивному поступлению в желудочно-кишечный тракт. Наиболее распространенным среди этих соединений является мочевина, которая считается нетоксичным инертным уремическим метаболитом. В просвете кишечника мочевина гидролизуется микробной

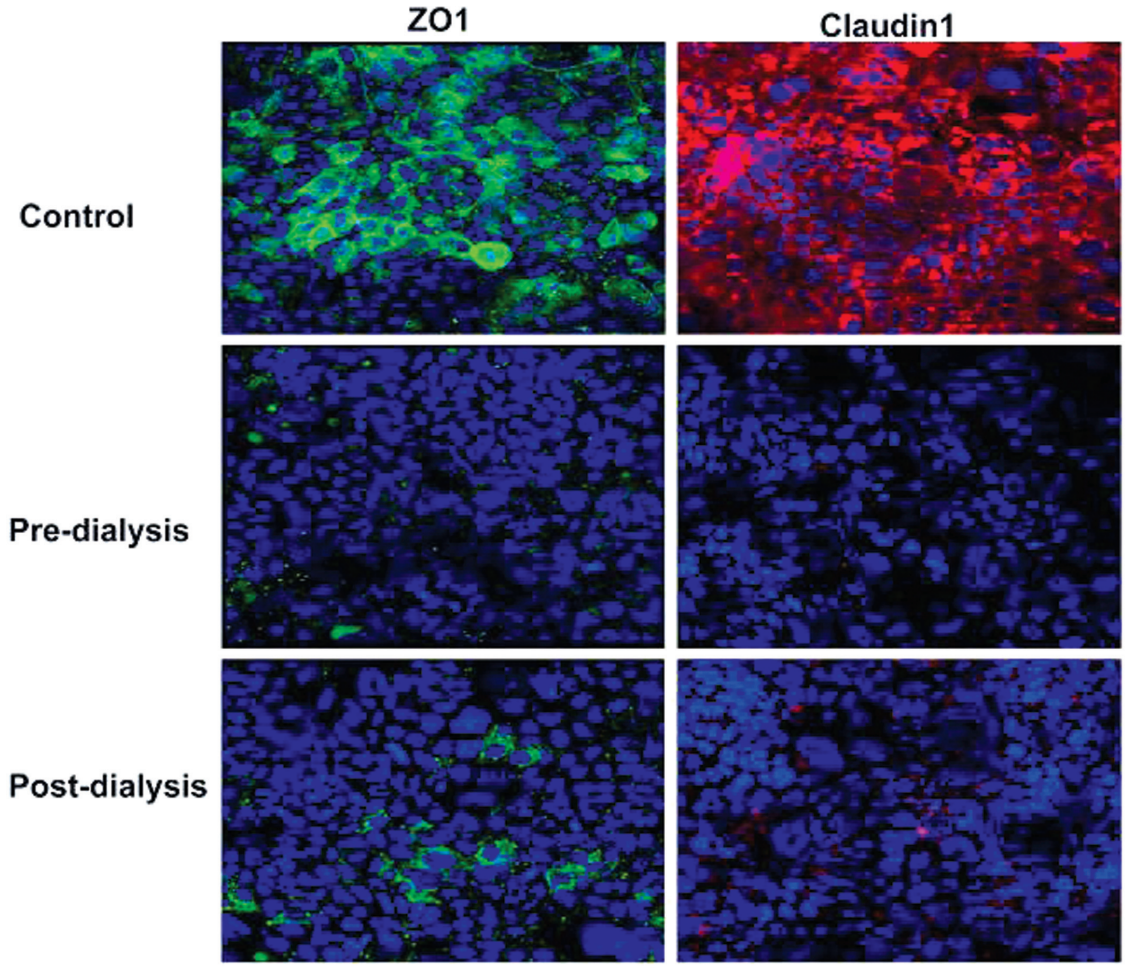

Рисунок 1. Изображения, демонстрирующие иммуноокрашивание антителами к клаудину-1 и ZO-1 клеток монослоя эпителия кишечника T84, подвергнутых воздействию образцов плазмы, полученных от здорового контрольного индивидуума (Control) и пациента с терминальной почечной недостаточностью непосредственно до (Pre-dialysis) и после (Post-dialysis) гемодиализа, визуализированные с помощью конфокальной микроскопии. Воспроизведено с разрешения N.D. Vaziri [53]
Figure 1. Representative photomicrographs depicting claudin-1 and ZO1 immunostaining of intestinal epithelial T84 cell monolayers exposed to media containing plasma samples obtained from a healthy control individual and an ESRD patient immediately before and after hemodialysis and visualized by confocal microscopy. Reprinted with permission from Vaziri N.D. [53]

уреазой, образуя большое количество аммиака [$CO(NH_2)2 + H_2O \rightarrow CO_2 + 2NH_3$], который легко превращается в гидроксид аммония [$NH_3 + H_2O \rightarrow NH_4OH$]. Гидроксид аммония, в свою очередь, приводит к повышению pH химуса кишки, раздражению слизистой оболочки, развитию субклинического энтероколита, локальной лейкоцитарной инфильтрации и гиперпродукции цитокинов с последующим нарушением структуры и целостности трансмембранных и каркасных белков ПК. Конечным результатом вышеперечисленных изменений является развитие синдрома повышенной эпителиальной проницаемости с неконтролируемым транспортом бактерий и молекул микробного происхождения в кровоток, что способствует хроническому системному воспалению и оксидативному стрессу. Воспаление, вместе с тем, усиливает разрушение эпителиального барьера, вызывая активацию (фосфорилирование) киназы легкой цепи миозина, приводящей к реорганизации структуры ПК [6].

Нельзя не отметить, что в другом похожем исследовании с использованием более физиологичной тройной клеточной ко-культуры Caco-2/HT29-MTX/Raji B уремическая плазма больных, находящихся на перитонеальном диализе, способствовала повышению парацеллюлярной проницаемости клеточного монослоя для FITC-дектрана, не вызывая при этом значимых изменений трансэпителиального сопротивления, содержания белков ПК, а также не приводила к транслокации *E.coli* [55]. Эти данные в очередной раз демонстрируют всю сложность многокомпонентной структуры кишечного барьера, требующей комплексного подхода к оценке его многогранных функций.

Дисрегуляции белков ПК у мышей с ХБП может сочетаться с увеличением количества апоптотических эпителиальных клеток толстой кишки [56]. Хотя точная роль апоптоза эпителия кишечника остается неизученной, предыдущие исследования показали, что этот механизм гибели энтероцитов активируется на животных моделях сепсиса, а селективное ингибирование апоптоза эпителия кишечника у трансгенных мышей, сверхэкспрессирующих антиапоптотический белок Bcl-2, снижает проницаемость и улучшает выживаемость [57]. Таким образом, апоптоз эпителиальных клеток может играть немаловажную роль в нарушении целостности кишечного барьера при ХБП, что согласуется с данными других аналогичных исследований [13, 14].

Также установлено, что экспрессия белка теплового шока HSP70 в толстой кишке значительно ниже у мышей с ХБП, чем у контрольных животных [56]. В нормальной слизистой оболочке кишечника HSP70 и HSP27 функционируют как стабилизаторы ПК. Экспрессия HSP70 снижается в слизистой оболочке пациентов с язвенным колитом [58, 59]. Факторы, которые приводят к снижению содержания HSP70 у мышей с ХБП, по-видимому, связаны с дисбактериозом, поскольку добавление пробиотиков приводит к частичному восстановлению экспрессии HSP70, а также снижению выраженности апоптоза [56]. Следовательно, наблюдаемое снижение содержания HSP70 в толстой кишке может быть частично ответственно за развитие синдрома повышенной эпителиальной проницаемости кишечника у мышей с ХБП через дестабилизацию ПК.

Накапливающиеся в крови больных с ХБП уремические токсины, кроме того, способны вызывать структурно-функциональные нарушения эндотелиальных клеток и их межклеточных контактов. Повышение проницаемости эндотелия регулируется медиаторами воспаления и факторами роста, концентрация которых, как известно, повышается на поздних стадиях почечной недостаточности. R. Maciel и соавт. изучали влияние уремии на морфологию эндотелия и содержание белков плотных и адгезионных контактов в культивируемых эндотелиальных клетках. Было установлено, что сочетанное действие уремической плазмы и токсинов (р-кризил сульфата, индоксил сульфата, неорганического фосфата) дезорганизует цитоскелет эндотелиальных клеток, изменяя экспрессию белка F-актина, а также приводит к снижению содержания ZO-1 и VE-кадгерина, что сопровождалось повышением проницаемости эндотелиального монослоя для FITC-декстрана. Кроме того, в образцах подвздошных и почечных артерий реципиентов почечного трансплантата авторы обнаружили схожее разрушение эндотелиальной выстилки сосудов с заметно сниженным количеством ZO-1 и VE-кадгерина. С другой стороны – в срезах артерий доноров почки, служивших контрольной группой, наблюдался непрерывный интактный эндотелий с неизмененной экспрессией аналогичных белков [60].

Хроническая уремия сама по себе может способствовать структурно-функциональным нарушениям мезотелия брюшины даже у пациентов, которые еще не находятся на лечении перитонеальным диализом (ПД) [61]. На модели субтотальной нефрэктомии у крыс S. Combet и соавт. продемонстрировали повышенную проницаемость брюшины для небольших растворенных веществ с сопутствующим увеличение активности синта-

зы оксида азота за счет активации ее эндотелиальных и нейрональных изоформ. Помимо этого, у уремических крыс были обнаружены очаги сосудистой пролиферации и фиброза брюшины, что было связано с повышением тканевой активности фактора роста эндотелия сосудов и фактора роста фибробластов, а также депонированием в сосудах конечных продуктов гликирования [62]. Во время ПД низкий уровень pH и высокая концентрация глюкозы в диализате дополнительно способствуют повреждению межклеточных контактов мезотелиоцитов брюшины, причем изменения индуцируются не только самой глюкозой, но и гиперосмоляльностью, а также стимулируемым гипергликемией увеличением образования трансформирующего фактора роста-β1 и активных форм кислорода (АФК) [63]. Учитывая, что межклеточные соединения простого эпителия имеют общие черты в различных тканях, можно ожидать подобные изменения и в стенке кишки. Однако это предположение требует проведения дополнительных исследований.

Другие факторы, способствующие повреждению кишечного барьера у больных с ХБП

Застойная сердечная недостаточность, гиперволемия и генерализованный отек слизистых оболочек являются нередкими осложнениями ХБП и, следовательно, могут способствовать нарушению барьерной функции эпителия желудочно-кишечного тракта. Индуцированная гемодиализом брыжеечная ишемия даже при нормальном уровне артериального давления приводит к нарушению структуры и функции слизистой оболочки кишечника с повышением ее проницаемости и, как следствие, увеличению транслокации бактерий и их метаболитов в системный кровоток [64]. Злоупотребление диуретиками и интрадиализная гипотензия могут еще больше усугубить регионарную гипоперфузию и повреждение брыжейки [65]. Длительная ишемия изменяет мембранный потенциал, нарушает нормальное распределение ионов, ухудшает цитоскелетную организацию клеток и приводит к увеличению внутриклеточного объема. Кроме того, истощение запасов АТФ тканей сопровождается повышенной экспрессией провоспалительных цитокинов, молекул адгезии и биоактивных веществ, таких как эндотелин и тромбоксан A_2. Эти агенты действуют как мощные сосудосуживающие средства, которые способствуют дальнейшим изменениям в кровоснабжении. Реперфузия ишемизированной ткани приводит к образованию токсичных активных форм кислорода (АФК, которые индуцируют окислительный стресс и непосредственно нарушают целостность клеточных мембран посредством перекисного окисления липидов). Кроме того, АФК повышают хемотаксис, клеточную адгезию и активацию лейкоцитов, выделяющих протеазы, эластазы и дополнительное количество самих АФК [66]. Подтверждением вышесказанному может служить исследование Wu T. и соавт., в котором пациенты на ГД с частой интрадиализной гипотензией имели значимо более низкую экспрессию окклюдина, клаудина-1 и ZO-1 по сравнению с лицами с прогрессирующей недиализной ХБП [67]. Кроме того, на целостность кишечного барьера могут повлиять кишечные микрокровоизлияния, вызванные системной антикоагулянтной терапией, используемой при каждой процедуре гемодиализа, в сочетании с уремической дисфункцией тромбоцитов [68]. В то же время, частый режим ГД по сравнению с обычным связан с более низкими уровнями циркулирующего эндотоксина [69]. Исходя из этого, можно предположить, что гемодинамическая стабильность при таком режиме диализа позволит лучше поддерживать регионарную органную перфузию и избежать повреждения слизистой оболочки кишечника.

Повышенная трансэпителиальная проницаемость, как защитный механизм у больных с ХБП

Повышенная проницаемость кишечной стенки может служить и защитным механизмом при гиперволемии, характерной для прогрессирующей почечной недостаточности. Так, E. Freire и соавт. оценивали секрецию воды и электролитов (K^+, Na^+, Cl^-) в толстой кишке крыс на 3-, 7- и 14-й день после субтотальной нефрэктомии. У экспериментальных животных в проксимальный и дистальный отдел изолированной толстой кишки хирургически вводили поливиниловые канюли таким образом, чтобы получился закрытый перфузионный контур. Полиионный раствор подавали в систему с постоянной скоростью специальным перистальтическим насосом. Пробы отбирали каждые 20 мин в течение 1 ч. Секреция воды и электролитов в толстой кишке была наиболее выраженной на 7-й и 14-й день после нефрэктомии. Важно отметить, что изучаемые показатели секреции изменялись пропорционально объему крови и уровню центрального венозного давления. Таким образом, гиперволемия была основной причиной секретагогического феномена толстой кишки, наблюдаемого в данном исследовании [70]. Другие авторы также приводят схожие клинические и экспериментальные данные, указывающие на то,

что желудочно-кишечный тракт под воздействием острых изменений объема плазмы может изменять свой абсорбционный паттерн, делая его даже секреторным [71, 72]. Подобную реакцию можно объяснить двумя механизмами. Во-первых, характерные для почечной недостаточности артериальная гипертензия и гиперволемия стимулируют высвобождение натрийуретических пептидов, которые, в свою очередь, увеличивают экскрецию Na^+ и воды за счет ингибирования Na^+/K^+-АТФазного насоса в почках. Кроме того, натрийуретический пептид инактивирует ренин и альдостерон, два мощных гормона, стимулирующих всасывание воды в толстой кишке. Во-вторых, значительная потеря Na^+ и Cl^- толстой кишкой обусловлена изменением активности АТФаз мембраны энтероцитов. Высокая концентрация ионов в просвете кишки за счет осмотического градиента способствует секреции воды, большая часть которой попадает туда через парацеллюлярные пространства [70].

У больных с терминальной стадией почечной недостаточности, получающих лечение ПД, мезотелий брюшины является основной поверхностью, через которую происходит перенос мелких и крупных растворенных веществ из просвета капилляров в брюшную полость. Проницаемость брюшины варьирует у разных пациентов, что отражает ее отличия в способности транспортировать растворенные вещества и воду. Тест на перитонеальное равновесие позволяет классифицировать больных на четыре категории: высокие, средневысокие, средненизкие и низкие транспортеры в зависимости от соотношения концентрации глюкозы, мочевины, креатинина, K^+ или Na^+ в плазме крови и диализате. Для высоких транспортеров характерно эффективное удаление растворенных веществ из-за высокой проницаемости брюшины. Однако они показывают плохую ультрафильтрацию, которая приводит к быстрому падению осмотического градиента между диализной жидкостью и кровью. В отличие от этого низкие транспортеры обладают отличной ультрафильтрацией, но недостаточным удалением растворенных веществ, что отражает низкую проницаемость брюшины. C. Retana и соавт. изучали количество, распределение и функции белков плотных контактов в культурах мезотелиальных клеток брюшины больных, получающих лечение ПД. В зависимости от результатов теста перитонеального равновесия больных разделили на группы высоких и низких транспортеров. Контрольные биоптаты были получены от пациентов, перенесших абдоминальные операции, без нарушений функции почек. По сравнению с контролем иммунофлюоресценция клаудина-1, окклюдина и ZO-1 в обеих группах была слабой и прерывистой по контуру клеток. При этом монослой клеток группы высоких траспортеров проявлял наиболее низкие значения трансэпителиального сопротивления, что свидетельствует о повышенной проницаемости и согласуется с транспортными характеристиками брюшины у этой категории больных [63].

Дисрегуляция иммунного барьера кишечной стенки и системное воспаление при ХБП.

Дисбактериоз и уремия при ХБП могут негативно влиять на нормальные механизмы иммунной толерантности кишечника, так как функциональное состояние врожденной и адаптивной иммунных систем во многом определяется воздействием на нее окружающих факторов. J. Yang и соавт. в недавнем исследовании проанализировали субпопуляционный состав лейкоцитов толстой кишки и сообщили об отсутствии значимых различий в количестве регуляторных Т-клеток (нейтрофилов Ly6G и макрофагов F4/80) у мышей с 5/6 нефрэктомией и контрольных животных. Тем не менее, экспрессия цитокинов и соотношение провоспалительные/резидентные макрофаги было выше в толстой кишке у мышей с ХБП [16]. K. Andersen и соавт. показали, что уремия у мышей с дефицитом α3-цепи коллагена 4 типа ассоциирована с повышением числа активированных CD4 и CD8 Т-лимфоцитов, а также ИЛ-17- или интерферон-γ-продуцирующих Т-клеток в селезенке. Напротив, количество регуляторных Т-клеток Foxp3+ было снижено по сравнению с контролем. Также были увеличены популяция активированных (CD86+) CD11c+ антиген-презентирующих клеток и уровень пентраксина-2 (функциональный аналог человеческого СРБ) в плазме крови, что свидетельствует о системной иммунной активации у Col4α3-дефицитных мышей. Связанное с прогрессирующей ХБП системное воспаление у этих животных ассоциировалось с кишечным дисбактериозом с обилием протеобактерий, транслокацией бактерий через кишечный барьер в печень и повышением сывороточного уровня эндотоксина. Когда культивированные эпителиальные клетки толстой кишки подвергались воздействию сыворотки от Col4α3-дефицитных или здоровых мышей, только уремическая сыворотка снижала трансэпителиальное сопротивление. Эрадикация факультативной анаэробной флоры антибиотиками предотвратила транслокацию бактерий, значительно снизила концентрацию эндотоксина в сыворотке крови и полностью нормализовала содержание всех маркеров

системного воспаления до уровня неуремического контроля [73]. Результаты данной работы в очередной раз подтверждают гипотезу о том, что уремия ассоциируется с дисбиозом кишечника, дисфункцией кишечного барьера и бактериальной транслокацией, которые запускают состояние персистирующего системного воспаления при ХБП.

Кишечные трансэпителиальные транспортеры и ХБП.

Значительное количество питательных соединений, бактериальных метаболитов фармацевтических агентов и многих других веществ пересекают кишечный барьер посредством активного транспорта. На удивление, мало что известно о роли клеточных транспортеров этих молекул у пациентов с ХБП. Тем не менее, по некоторым из них имеется больше данных [74]. Одним из таких веществ является мочевая кислота. На кишечную экскрецию мочевой кислоты приходится примерно одна треть от ее общего клиренса в организме, в то время как почечный клиренс составляет остальные две трети. В физиологических условиях в почках это процесс регулируется апикальным SLC2A9 вместе с базолатеральными транспортерами SLC22A6 (OAT1) и SLC22A8 (OAT3), в то время как апикальный ABCG2 является ключевым кишечным транспортером. Базолатеральный транспортер, ответственный за поглощение мочевой кислоты из крови в клетки, неизвестен. Потенциальными кандидатами являются SLC22A6 и SLC22A7, поскольку они экспрессируются на базолатеральной мембране энтероцитов и способны транспортировать мочевую кислоту. В исследованиях на животных моделях было показано, что гиперурикемия вызывает повышение экспрессии мРНК ABCG2 в подвздошной кишке крыс с 5/6 нефрэктомией, что может играть компенсаторную роль в увеличении кишечной экскреции мочевой кислоты при ХБП [75]. В другой экспериментальной работе Shinozaki Y. и соавт. у мышей с почечной недостаточностью была выявлена сниженная кишечная абсорбция пищевого антиоксиданта эрготионеина, содержащегося в таких продуктах, как злаки, грибы и бобы. Эти изменения авторы связали с дисфункцией карнитин/органического катионного транспортера 1 (OCTN1), расположенного на апикальной мембране энтероцита и являющегося специфическим переносчиком эрготионеина [76].

Продолжает активно изучаться вопрос о механизмах системного накопления уремических токсинов при почечной недостаточности. Считается, что концентрации этих растворенных веществ в сыворотке крови определяются как их почечным клиренсом, так и адсорбцией в кишечнике [31, 32, 34, 35]. Результаты экспериментальных исследований на животных показали, что транспортеры органических анионов (OAT1/OAT3) играют важную роль в почечном клиренсе индоксил сульфата и р-крезил сульфата [77]. Предполагается, что в кишечнике эта функция отведена семейству белков, ассоциированных с множественной лекарственной устойчивостью (MRP) [74]. Не менее актуальным направлением являются исследования в области дисрегуляции трансэпителиальных кишечных транспортеров лекарственных средств, поскольку уремическая среда, влияя на их активность, может привести к значимым нарушениям фармакокинетики используемых препаратов [78].

Патология барьера кишки при остром повреждении почек.

Острое повреждение почек (ОПП) является серьезной клинической проблемой, которая часто приводит к различным осложнениям, включая дыхательную, сердечную недостаточность, синдром системного воспалительного ответа и в том числе структурно-функциональные нарушение кишечного барьера с последующим развитием сепсиса и полиорганной недостаточности. Высокий уровень смертности от ОПП остается практически неизменным в течение последних 50 лет, отчасти вследствие высокой частоты этих внепочечных осложнений [79, 80]. В работах ряда авторов были предприняты попытки более детального изучения механизмов повреждения кишечника вследствие ОПП [81,82]. Системные изменения гомеостаза организма на фоне острой и хронической почечной недостаточности имеют общие черты, поэтому изучение патологии кишечного барьера у больных с ОПП может предоставить ценную информацию об аналогичных отклонениях у лиц с ХБП. Исследования в этом направлении являются перспективными и с позиции уточнения причинно-следственной связи между почечной недостаточностью, микробиотой и иммунным ответом. Так, S. Park и соавт. в своей работе продемонстрировали, что реперфузионно-ишемическое повреждение почек у мышей индуцировало высвобождение ИЛ-17А из тонкой кишки, опосредуя структурные дефекты тканей печени и кишечника. Гистологическое исследование тонкой кишки после ОПП показало апоптоз эндотелия капилляров кишечных ворсинок, нарушение проницаемости сосудов и эпителиальный некроз. Уровень ФНО-α, ИЛ-17А и ИЛ-6 в плазме крови значительно повышался как вследствие ишемического, так и неишемического (нефрэктомия) механизма

ОПП. Тонкий кишечник, по-видимому, являлся источником ИЛ-17А, поскольку его содержание было выше в портальном кровотоке и тонком кишечнике по сравнению с уровнями, измеренными в системном кровообращении и печени. Мыши дикого типа, получавшие нейтрализующие антитела против ФНО-α, ИЛ-17А, ИЛ-6, или мыши с дефицитом рецепторов ФНО-α, ИЛ-17А, ИЛ-6 были защищены от повреждения печени и тонкого кишечника вследствие ОПП. Таким образом, модуляция воспалительного ответа и высвобождение цитокинов в тонком кишечнике могут иметь важное терапевтическое значение в уменьшении осложнений, возникающих при почечной недостаточности [83].

Кишечник, являясь самым крупным органом иммунной системы, влияет на различные внекишечные биологические функции. Учитывая, что чрезмерная активация врожденного иммунного ответа важна в патогенезе ОПП, существует вероятность того, что дисбактериоз и нарушение иммунной толерантности слизистой оболочки кишечника могут отражаться на ее клинических исходах. J. Yang и соавт. показали, что реперфузионно-ишемическое ОПП у мышей приводит к выраженным нарушениям качественного и количественного состава микробиоты, целостности кишечного барьера и бактериальной транслокации. Уже на следующие сутки после временного двустороннего пережатия почечных сосудов микробное сообщество кишечника прооперированных мышей характеризовалось относительным обилием *Escherichia* и *Enterobacteriacea*, а также уменьшением количества *Lactobacilli, Ruminococacceae* и *Lachnospiraceae*. Дисбактериоз был связан со снижением количества фекальных КЦЖК, ускоренным апоптозом колоноцитов, воспалением, изменением состава белков ПК, увеличением тканевого содержания ИЛ-17А$^{+}$CD4-клеток, нейтрофилов и воспалительных макрофагов. Индуцированные ОПП изменения стенки кишки привели к повышению ее проницаемости, а также существенному росту уровня эндотоксина в крови. Обнаружение фрагментов кишечной ДНК в ткани печени подтверждало факт транслокации просветного содержимого в другие органы. У безмикробных мышей-реципиентов, которым выполнялась трансплантация кала от животных с моделированным ОПП, развивалось более тяжелое повреждение почек по сравнению с мышами, колонизированными микробиотой от фиктивно оперированных животных. Выраженность поражения почек коррелировала с уровнями ИНФ-γ и ФНО-α. В то же время, пероральный прием антибиотиков в течение 2 нед до реперфузионно-ишемического повреждения почек приводил к заметному снижению микробного разнообразия кишечной флоры и оказывал выраженное защитное действие против ОПП. Сывороточный креатинин, степень повреждения канальцев и количество инфильтрирующих почки нейтрофилов и макрофагов значительно уменьшились. Этот ренопротекторный эффект был связан со снижением Th17, Th1 ответа, наряду с расширением пула регуляторных Т-клеток и макрофагов М2. Эрадикация кишечной микрофлоры также приводила к снижению выраженности апоптоза колоноцитов, воспаления толстой кишки, восстановлению экспрессии клаудина-1 и -2 и кишечной проницаемости. Эти результаты демонстрируют уникальную двунаправленную связь между почками и кишечником и дают основание полагать, что дисбактериоз является не только следствием ОПП, но и может быть одним из основных модификаторов исхода поражения почек [84].

Потенциал различных терапевтических вмешательств, направленных на коррекцию последствий дисфункции кишечного барьера при ХБП.

Диетические вмешательства. Как было отмечено в первой части нашего обзора, одной из основных причин изменений состава и функций кишечной микробиоты у пациентов с прогрессирующей ХБП считается ограничение в рационе богатых калием фруктов и овощей, а также других продуктов с высоким содержанием клетчатки. Нормальная симбиотическая флора преобразуют эти сложные неперевариваемые углеводы в КЦЖК, являющиеся важным питательными субстратом для энтероцитов и Т-регуляторных лимфоцитов, число которых заметно снижено у больных с патологией почек [9]. N. Vaziri и соавт. показали, что повышенное содержание крахмала в рационе может замедлить прогрессирование почечной недостаточности. Крысы с аденин-индуцированной ХБП, получавшие в течение 3 нед диету с низким содержанием клетчатки, демонстрировали снижение клиренса креатинина, интерстициальный фиброз, воспаление, повреждение канальцев, повышение активности провоспалительных, прооксидантных и профибротических молекул, снижение антиоксидантных ферментов и нарушение целостности ПК эпителия толстой кишки. Диета с высоким содержанием крахмала существенно уменьшила эти отклонения [85]. Также было установлено, что дополнительный прием пищевых волокон значительно уменьшает концентрацию уремических

токсинов в сыворотке крови у больных на ГД [86] и связан со снижением активности воспалении и смертности у пациентов с ХБП [87]. Акарбоза, являющаяся ингибитором альфа-глюкозидазы тонкой кишки, может увеличить количество непереваряемых углеводов, поступающих в толстую кишку, повысить содержание бутирата, снизить pH содержимого просвета кишки, тем самым, ингибируя бактериальное дезаминирование и увеличивая катаболизм аммиака. В исследовании P. Evenepoel и соавт. девять здоровых добровольцев получали акарбозу в течение 3 нед, что привело к достоверному снижению сывороточного p-крезола вследствие изменений в метаболизме бактериальных аминокислот [88].

Пребиотики, пробиотики и синбиотики. Потенциальная роль измененного состава микрофлоры кишечника в патогенезе уремической интоксикации и системного воспаления послужила основой для предположения о том, что вмешательства, которые воздействуют на микробиоту, могут обладать терапевтическим потенциалом для коррекции ХБП связанных с ней осложнений [9, 89].

Пребиотики – это неперевариваемые пищевые ингредиенты, которые избирательно стимулируют рост и активность определенного вида кишечных бактерий. В качестве пребиотиков обычно используются инулин, фруктоолигосахариды, галактоолигосахариды, соевые олигосахариды, ксилоолигосахариды и пиродекстрины. Они способствуют росту бифидобактерий и лактобактерий, подавляя при этом другие группы микрорганизмов, такие как клостридии и энтеробактерии. Согласно исследованию B. Meijers и соавт., инулин, обогащенный олигофруктозой, значительно снижал концентрацию и скорость образования p-крезил сульфата у 22 пациентов на ГД [90]. На животной модели аденин-индуцированной ХБП было показано, что пребиотическая лактулоза улучшала функцию почек за счет замедления прогрессирования тубулярного интерстициального фиброза, изменяя при этом микробиоту кишечника и ингибируя выработку уремических токсинов [91]. В недавней работе M. Miyoshi и соавт. пребиотики (частично гидролизованная гуаровая камедь) улучшали оцененную по Бристольской шкале консистенцию стула у гемодиализных пациентов, отчасти благодаря нормализации состава кишечной микробиоты и повышению концентрации КЦЖК [92]. По всей видимости, тип пребиотика имеет немаловажное значение для индуцирования изменений содержания микробных уремических токсинов в плазме крови. Так, C. Ramos и соавт. в двойном слепом плацебо-контролируемом исследовании изучали влияние фруктоолигосахарида на микробные уремические токсины у 50 больных с додиализными стадиями ХБП. Дополнительный прием на протяжении 3 мес 12 г/сут этого пребиотика приводил к незначительному снижению общего и свободного p-крезил сульфата в сыворотке крови. При этом не наблюдалось никакого эффекта от вмешательства в изменении мочевой фракции p-крезил сульфата, сывороточных и мочевых фракций индоксил сульфата и индол 3-уксусной кислоты. Также не было выявлено отличий в динамике маркеров проницаемости кишечника (зонулин), кишечно-трофических факторов (эпидермальный фактор роста и глюкагоноподобный пептид-2) и воспаления (вчСРБ, ИЛ-6) в сыворотке крови по сравнению с группой плацебо [93].

Пробиотики представляют собой живые микроорганизмы (бифидобактерии, лактобациллы и стрептококки), которые реализуют свои благотворные эффекты за счет изменения pH содержимого кишечника, индукции образования слизи, выработки антимикробных пептидов, стимуляции секреции IgA, модуляции локальных и системных иммунологических реакций, конкуренции с патогенами за питательные вещества или места адгезии. Первые представители этой группы препаратов включали бактерии, обладающие уреазой, предназначенные для снижения уровня мочевины. Это привело к увеличению выработки аммиака и гидроксида аммония, что способствовало еще большему воспалению кишечной стенки. Позже пилотное 6-месячное проспективное исследование выявило значительное снижение уровня азота мочевины, креатинина, мочевой кислоты и улучшение качества жизни у пациентов с ХБП 3–4 стадий после лечения Ренадилом (ацидофильные лактобациллы, термофильные стрептококки и бифидобактерии) [94]. Однако последующее контролируемое исследование с участием 22 пациентов с терминальной почечной недостаточностью не показало значимого снижения концентрации связанного с белками уремического токсина индоксил глюкуронида, маркеров системного воспаления, а также не улучшило параметры качества жизни после двух месяцев приема данного препарата [95]. В другой работе, напротив, было установлено, что введение пробиотика, содержащего *Bifidobacterium longum* в устойчивых к желудочному соку капсулах, может эффективно снижать уровни гомоцистеина и индоксил сульфата в сыворотке крови у пациентов на ГД [96]. Противоречивые результаты упомяну-

тых исследований могут свидетельствовать о том, что изменение структуры и функций микробного сообщества кишечника является следствием сочетания уремических, диетических, лекарственных и некоторых других факторов, которые вместе создают неблагоприятное окружение для симбиотической микробиоты. Следовательно, попытки восстановить нормальный микробиом путем введения полезных микроорганизмов без одновременного улучшения биохимической среды вероятнее всего будут тщетными.

Синбиотики – это комбинация пре- и пробиотических препаратов, обладающая иммуномодулирующим и противовоспалительным потенциалом. Установлено, что использование этих средств также может быть полезным у больных с почечной недостаточностью. Так, четырехнедельный прием комплекса «PROBINUL-NEUTRO» снижал концентрацию p-крезола в плазме крови, но не улучшал желудочно-кишечные симптомы у 30 пациентов с ХБП 3–4 стадии [97]. В исследовании SINERGY синбиотическая терапия также приводила к уменьшению в сыворотке крови содержания p-крезил сульфата (но не индоксил сульфата) и благоприятным изменениям микробиома кала у 37 пациентов с ХБП 4–5 стадии [98]. Двухмесячное введение комплекса «NATUREN G» пациентам с ХБП 3б–4 стадии ассоциировалось со значимым снижением концентрации индоксил сульфата в крови, уменьшением проницаемости тонкой кишки и выраженности гастроинтестинальных симптомов [99].

КЦЖК. В исследовании S. Marzocco и соавт. пищевая добавка пропионата натрия вводилась в форме капсул в течение 12 нед 20 гемодиализным больным, и это эффективно снижало концентрацию уремических токсинов (индоксил сульфата – на 30%, p-крезил сульфата – на 50%), параметры воспаления, окислительного стресса, а кроме того, у пациентов повышалась резистентность к инсулину и улучшался метаболизм железа. Через четыре недели после окончания лечения все параметры снова ухудшились [100]. В экспериментальной работе A. Gonzalez и соавт. добавление бутирата натрия в пищевой рацион крыс с ХБП приводило к значительному снижению уровня циркулирующего ЛПС, восстановлению муцинового слоя, комплексов ПК, повышению содержания кишечного ИЛ-10, кателицидин-ассоциированного антимикробного пептида (CRAMP) и даже снижению уровня мочевины и протеинурии (рис. 2, 3). Бутират также активировал фосфорилирование 5'АМФ-активируемой протеинкиназы (AMPK) через повышение тканевого содержания Ca/кальмодулин-зависимой протеинкиназы бета (CaMKKβ) [15]. Данный механизм, как было показано ранее на модели эпителиального барьера клеточной линии Caco-2, задействован в повторной сборке ПК [101]. В эксперименте на животных недавно было показано, что терапия КЦЖК снижала уровень креатинина и мочевины в сыворотке крови у мышей с острым почечным повреждением. Улучшение функции почек было связано со снижением активности воспаления и продукции активных форм кислорода, ингибированием апоптоза в почечной ткани и увеличением пролиферации клеток за счет активации аутофагии. Кроме того, КЦЖК улучшали митохондриальный биогенез, тем самым, защищая эпителиальные клетки почек от гипоксии [102].

Нормализация моторики кишечника. Нормализация моторной функции кишки также важна для поддержания нормального состава микробиоты кишки и ее проницаемости. Исследования показали, что ревень и его экстракты ускоряют моторику кишечника, нормализуют кишечную флору, поддерживают барьерные функции кишечной стенки, могут замедлить прогрессирование почечной недостаточности, а также скорректировать метаболические нарушения при диабетической нефропатии. C. Ji и соавт. изучали влияние ректального введения экстракта ревня на кишечный барьер крыс с 5/6 нефрэктомией. Результаты показали значительное уменьшение отека собственной пластинки и воспалительной лимфомоноцитарной инфильтрации слизистого слоя. Кроме того, наблюдалось подавление чрезмерного роста условно-патогенных кишечных бактерий, в том числе *Akkermansia*, *Methanosphaera* и *Clostridiaceae*. Модификация кишечной микробиоты показала значимую корреляцию с маркерами целостности кишечного барьера (повышались изначально сниженные уровни окклюдина, клаудина-1, ZO-1), тканевым (тормозилась активация сигнальных путей макрофагов TLR4–MyD88–NF-kB) и системным воспалительным ответом (снижался уровень ИЛ-1β, ИЛ-6 и ЛПС) [103]. В предшествующих работах подобные терапевтические вмешательства также приводили к снижению уровня мочевины, индоксил сульфата, нивелированию окислительного стресса, тем самым, замедляя почечный интерстициальный фиброз [104]. Активатор хлорных каналов лубипростон, широко использующийся как слабительное средство, замедляет прогрессирование ХБП и накопление уремических токсинов за счет модуляции

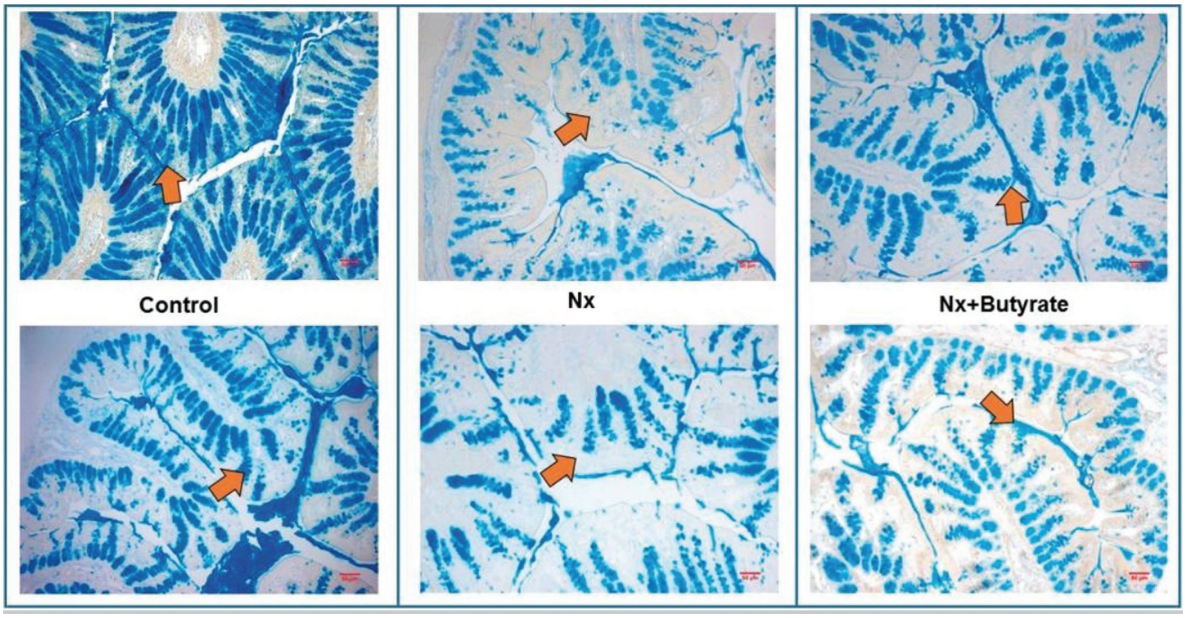

Рисунок 2. Снижение экспрессии муцина у животных с ХБП (Nx) по сравнению с контролем (Control) и его восстановление после лечения бутиратом (Nx+Butyrate). Образцы проксимальной части толстой кишки (0,5 см) фиксировали в растворе Карноя. Альциановый синий окрашивал муцин, придавая ему синий цвет при световой микроскопии (стрелка), Ув. 10; воспроизведено с разрешения Oxford University Press [15].

Figure 2. Reduced expression of colonic mucin stained by Alcian blue in Nx animals was corrected by butyrate treatment. Representative sections of colonic mucin of two animals from each group (control, Nx and butyrate-treated Nx animals) are shown. The proximal part of the colon (0.5 cm) was collected and stored in Carnoy's solution. Alcian blue stained the mucin in the colon, imparting a blue color under a light microscope (×10 magnification). Please note the decrease in mucin expression of CKD animals (shown by the arrows) and its resurgence following butyrate treatment. Compared with the controls, the blue-stained areas representing mucin expression were significantly less in the Nx groups. Butyrate treatment reversed this effect. A total of six animals per group were used to assess mucin expression. Reprinted with permission from Oxford University Press [15].

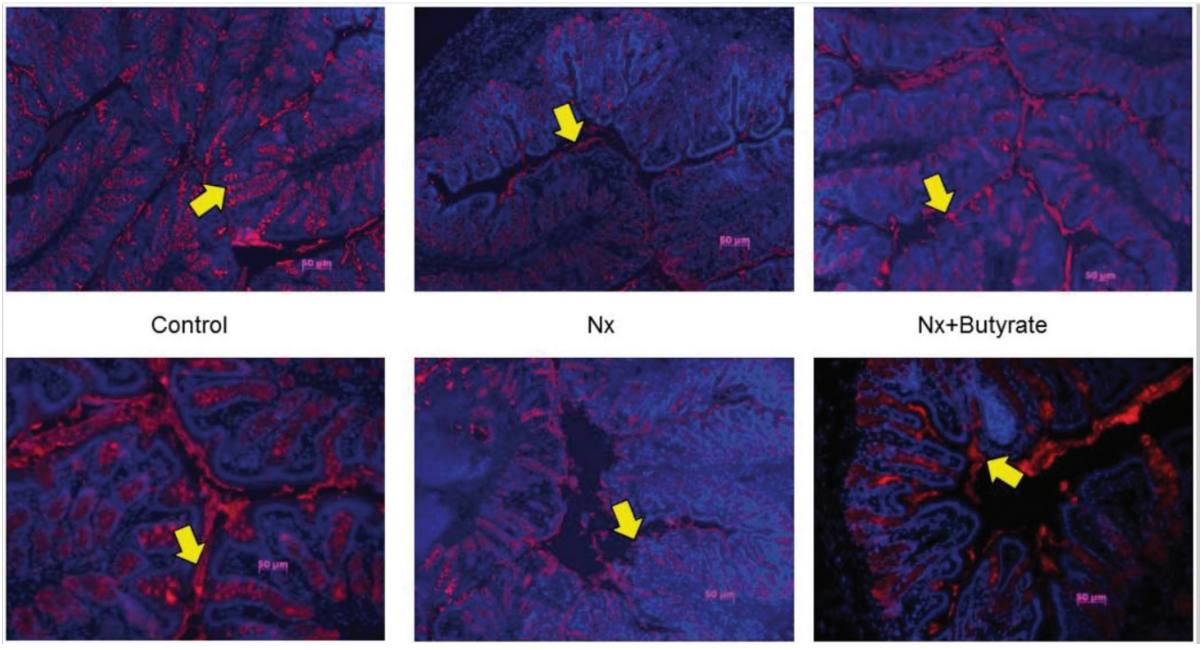

Рисунок 3. Снижение экспрессии Muc2 в группе животных с ХБП (Nx) по сравнению с контролем (Control) и ее восстановление после лечения бутиратом (Nx+Butyrate). Экспрессию Muc2 определяли иммуногистохимическим методом с использованием антител к Muc2, которые окрашивают его в красный цвет при флюоресцентной микроскопии (стрелка). Воспроизведено с разрешения Oxford University Press [15].

Figure 3. Muc2 expression in the colon analyzed immunohistochemically revealed decreased expression of Muc2 in the Nx group was abrogated by butyrate. Fluorescent microscopy of Muc2, stained red, merged with DNA-capturing 4'-6-diamidino-2-phenylindole, stained blue. Representative sections of colonic mucin of two animals from each group (control, Nx and butyrate-treated Nx) are shown. A total of six animals per group were used to assess Muc2 expression. The proximal part of the colon (0.5 cm) was collected and stored in Carnoy's solution. Muc2 expression was determined by immunohistochemistry using Muc2 antibody. The yellow arrow points to the Muc2 (red) expression. Compared with controls, Muc2 expression was significantly lower in the Nx groups. The butyrate-treated group had a significant increase in mucin expression. Reprinted with permission from Oxford University Press [15].

микробиоты кишечника и кишечной среды. Пероральное введение лубипростона мышам с аденин-индуцированной почечной недостаточностью понижало уровень артериального давления, защищало от тубулоинтерстициального повреждения, фиброза почек и воспаления. Эти эффекты были связаны с восстановлением исходно сниженных уровней бактерий семейства *Lactobacillaceae* и рода *Prevotella*. Анализ микробного метаболома с помощью капиллярного электрофореза и масс-спектрометрии показал, что терапия лубипростоном также значимо снизила уровень индоксил сульфата, гиппурата и недавно обнаруженного уремического токсина транс-аконитата [105].

Другие терапевтические стратегии. Высокоэффективный препарат активированного угля АСТ-120 может поглощать уремические токсины и их предшественники в желудочно-кишечном тракте, уменьшая их всасывание в кровь. АСТ-120 адсорбирует значительные количества различных органических соединений в толстой кишке, включая индоксил сульфат [106], р-крезил сульфат [107] и конечные продукты гликирования [108]. Учитывая способность активированного угля эффективно адсорбировать аммиак, AST-120 потенциально может уменьшить тяжесть повреждения кишечного барьера, вызванного уремией. Это предположение было подтверждено в работе N. Vaziri и соавт., в котором введение AST-120 мышам с ХБП приводило к частичному восстановлению эпителиальных белков ПК, снижению уровня эндотоксина в плазме, а также маркеров окислительного стресса и воспаления [109]. Метаанализ, включивший восемь исследований, показал, что AST-120 значимо снижает концентрацию индоксил сульфата в крови, но его применение все еще остается спорным с точки зрения влияния на замедление прогрессирования почечной недостаточности и снижения риска смертности от всех причин [110]. В работах *in vitro* и *in vivo* также была показана потенциальная роль фосфат-связывающего препарата севеламера гидрохлорида в качестве средства, способного модулировать дисбактериоз и уменьшать содержание эндотоксина/ЛПС у больных, находящихся на ГД [111, 112].

Увеличение клиренса уже попавших в циркуляцию уремических токсинов в некоторой степени можно добиться за счет изменения режима диализа. В отличие от водорастворимых веществ, таких как мочевина, соединения, связанные с белками, плохо удаляются с помощью диализа. Было показано, что ежедневный ГД снижает преддиализные концентрации индол-3-уксусной кислоты, индоксил сульфата, р-крезил сульфата и гомоцистеина. Увеличение скорости потока диализата и коэффициента массопереноса диализатора также может повысить скорость их выведения [113]. Добавление активированного угля в диализат оказало аналогичное влияние на содержание связанных с белками уремических токсинов [114]. Пациенты на ПД имеют более низкие уровни токсинов, связанных с белками, в плазме крови, чем пациенты на ГД, хотя клиренс этих веществ более эффективен при лечении ГД [115]. Клиническое значение этого наблюдения все еще остается невыясненным.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последнее время знания о метаболическом потенциале микробно-тканевого комплекса кишечника и его жизненно важной роли в патогенезе ряда хронических заболеваний прогрессивно расширяются. Приведенные в обзоре результаты клинических и экспериментальных исследований наглядно демонстрируют, что структурно-функциональные нарушения кишечного барьера, неотъемлемым компонентом которого является кишечная микробиота, служат как следствием различных нефропатий, так и причиной развития и прогрессирования ХБП. Нарушение функции почек, посредством механизмов преимущественно связанных с гидролизом накапливающейся мочевины, приводит к воспалению и отеку стенки кишки, что сопровождается дезорганизацией межклеточных соединительных комплексов, а также расстройствами иммунной толерантности слизистой оболочки. У больных на заместительной почечной терапии эти изменения усиливаются за счет факторов, непосредственно связанных с процедурой диализа (интрадиализная гипотония, мезентериальная ишемия и др.). Кроме того, состояние уремии вызывает схожие с эпителием кишечника повреждения других барьерных структур, таких как эндотелий и мезотелий. Повышение проницаемости кишечного барьера, в свою очередь, способствует системной транслокации бактерий и токсичных продуктов микробного метаболизма, которые вызывают оксидативный стресс, локальное и системное воспаление. Именно они в настоящее время рассматриваются в качестве ключевых механизмов патогенеза многочисленных органных дисфункций, развивающихся на фоне ХБП.

Необходимо отметить, что большая часть данных, подтверждающих наличие структурно-функциональных нарушений кишечного барьера при ХБП, получена в работах *in vitro* и *ex vivo*. Подобные ассоциации в клинических исследованиях

не так убедительны. С одной стороны, это объясняется отсутствием надежных методов оценки проницаемости кишечника у этой категории больных, так как функция почек влияет на результаты большинства тестов. С другой стороны – учитывая ключевую роль почек в поддержании гомеостаза организма, можно предположить существование так называемого «почечно-кишечного порога», определяемого суммой разнообразных системных патологических влияний/процессов, при достижении которого запускается комплекс изменений тонко настроенной структуры кишечного барьера. Именно в этот момент необходимо безотлагательно начинать осуществлять целенаправленные вмешательства, включая диетические, пробиотические, пребиотические, синбиотические и другие подходы, направленные на восстановление целостности и нормализацию его проницаемости. Выяснение всех составляющих «почечно-кишечного порога» является важной темой для последующих научных исследований, а также в будущем может предоставить новую лечебную стратегию замедления прогрессирования почечной недостаточности и предотвращения неблагоприятных исходов у пациентов с ХБП.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ
REFERENCES

1. Gagliardi A, Totino V, Cacciotti F et al. Rebuilding the Gut Microbiota Ecosystem. *Int J Environ Res Public Health* 2018;15(8):1679. doi: 10.3390/ijerph15081679

2. Ткаченко ЕИ, Гриневич ВБ, Губонина ИВ и др. Болезни как следствие нарушений симбиотических взаимоотношений организма хозяина с микробиотой и патогенами *Вестник Российской Военно-медицинской академии* 2021;2(74):243–252. doi: 10.17816/brmma58117

Tkachenko EI, Grinevich VB, Gubonina IV et al. Disease as a result of violations of the symbiotic relationship between the host and the microbiota with pathogens. Bulletin of the Russian Military Medical Academy. 2021;23(2):243–252 (In Russ.). doi: 10.17816/brmma.58117

3. Chelakkot C, Ghim J, Ryu S. Mechanisms regulating intestinal barrier integrity and its pathological implications. *Exp Mol Med* 2018;50(8):1–9. doi: 10.1038/s12276-018-0126-x

4. Turner J. Intestinal mucosal barrier function in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2009;9(11):799–809. doi: 10.1038/nri2653

5. Camilleri M. Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans. *Gut* 2019;68(8):1516–1526. doi: 10.1136/gutjnl-2019-318427

6. Vaziri N, Zhao Y, Pahl M. Altered intestinal microbial flora and impaired epithelial barrier structure and function in CKD: the nature, mechanisms, consequences and potential treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2016;31(5):737–746. doi: 10.1093/ndt/gfv095

7. Rysz J, Franczyk B, Ławiński J et al. The Impact of CKD on Uremic Toxins and Gut Microbiota. *Toxins (Basel)* 2021;13(4):252. doi: 10.3390/toxins13040252

8. Пятченков МО, Марков АГ, Румянцев АШ. Структурно-функциональные нарушения кишечного барьера и хроническая болезнь почек. Обзор литературы. Часть I. *Нефрология* 2022;26(1):10–26. doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-1-10-26

Pyatchenkov MO, Markov AG, Rumyantsev AS. Structural and functional intestinal barrier abnormalities and chronic kidney disease. Literature review. Part I. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2022;26(1):10–26 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-1-10-26

9. Vaziri N, Zhao Y, Pahl M. Altered intestinal microbial flora and impaired epithelial barrier structure and function in CKD: the nature, mechanisms, consequences and potential treatment. *Nephrol Dial Transplant* 2016;31(5):737–746. doi: 10.1093/ndt/gfv095

10. Лукичев БГ, Румянцев АШ, Акименко В. Микробиота кишечника и хроническая болезнь почек. Сообщение первое. *Нефрология* 2018;22(4):57–73. doi: 10.24884/1561-6274-2018-22-4-57-73

Lukichev BG, Rumyantsev AS, Akimenko V. Colonic microbiota and chronic kidney disease. Message one. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2018;22(4):57–73 (In Russ.). doi: 10.24884/1561-6274-2018-22-4-57-73

11. Magnusson M, Magnusson K, Sundqvist T, Denneberg T. Increased intestinal permeability to differently sized polyethylene glycols in uremic rats: effects of low- and high-protein diets. *Nephron* 1990;56(3):306–311. doi: 10.1159/000186158

12. Magnusson M, Magnusson K, Sundqvist T, Denneberg T. Impaired intestinal barrier function measured by differently sized polyethylene glycols in patients with chronic renal failure. *Gut* 1991;32(7):754–759. doi: 10.1136/gut.32.7.754

13. Vaziri N, Yuan J, Rahimi A et al. Disintegration of colonic epithelial tight junction in uremia: a likely cause of CKD-associated inflammation. *Nephrol Dial Transplant* 2012;27(7):2686–2693. doi:10.1093/ndt/gfr624

14. Vaziri N, Yuan J, Nazertehrani S et al. Chronic kidney disease causes disruption of gastric and small intestinal epithelial tight junction. *Am J Nephrol* 2013;38(2):99–103. doi: 10.1159/000353764

15. Gonzalez A, Krieg R, Massey H et al. Sodium butyrate ameliorates insulin resistance and renal failure in CKD rats by modulating intestinal permeability and mucin expression. *Nephrol Dial Transplant* 2019;34(5):783–794. doi:10.1093/ndt/gfy238

16. Yang J, Lim S, Ko Y et al. Intestinal barrier disruption and dysregulated mucosal immunity contribute to kidney fibrosis in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2019;34(3):419–428. doi: 10.1093/ndt/gfy172

17. Zhou N, Shen Y, Fan L et al. The Characteristics of Intestinal-Barrier Damage in Rats With IgA Nephropathy. *Am J Med Sci* 2020;359(3):168–176. doi: 10.1016/j.amjms.2019.11.011

18. Kovács T, Kun L, Schmelczer M et al. Do intestinal hyperpermeability and the related food antigens play a role in the progression of IgA nephropathy? I. Study of intestinal permeability. *Am J Nephrol* 1996;16(6):500–505. doi: 10.1159/000169050

19. de Almeida Duarte J, de Aguilar-Nascimento J, Nascimento M, Nochi R Jr. Bacterial translocation in experimental uremia. *Urol Res* 2004;32(4):266–270. doi: 10.1007/s00240-003-0381-7

20. Bossola M, Sanguinetti M, Scribano D et al. Circulating bacterial-derived DNA fragments and markers of inflammation in chronic hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4(2):379–385. doi:10.2215/CJN.03490708

21. Wang F, Jiang H, Shi K et al. Gut bacterial translocation is associated with microinflammation in end-stage renal disease patients. *Nephrology (Carlton)* 2012;17(8):733–738. doi: 10.1111/j.1440-1797.2012.01647.x

22. Feroze U, Kalantar-Zadeh K, Sterling K et al. Examining associations of circulating endotoxin with nutritional status, inflammation, and mortality in hemodialysis patients. *J Ren Nutr* 2012;22(3):317–326. doi: 10.1053/j.jrn.2011.05.004

23. Guo S, Al-Sadi R, Said H, Ma T. Lipopolysaccharide causes an increase in intestinal tight junction permeability in vitro and in vivo by inducing enterocyte membrane expression and localization of TLR-4 and CD14. *Am J Pathol* 2013;182(2):375–387. doi: 10.1016/j.ajpath.2012.10.014

24. Chaves L, Mc Skimming D, Bryniarski M et al. Chronic kidney disease, uremic milieu, and its effects on gut bacterial microbiota dysbiosis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2018;315(3):F487–F502. doi: 10.1152/ajprenal.00092.2018

25. Terawaki H, Yokoyama K, Yamada Y et al. Low-grade endotoxemia contributes to chronic inflammation in hemodialysis

patients: examination with a novel lipopolysaccharide detection method. *Ther Apher Dial* 2010;14(5):477–482. doi: 10.1111/j.1744-9987.2010.00815.x

26. Poesen R, Ramezani A, Claes K et al. Associations of Soluble CD14 and Endotoxin with Mortality, Cardiovascular Disease, and Progression of Kidney Disease among Patients with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2015;10(9):1525–1533. doi: 10.2215/CJN.03100315

27. Stubbs J, House J, Ocque A et al. Serum Trimethylamine-N-Oxide is Elevated in CKD and Correlates with Coronary Atherosclerosis Burden. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(1):305–313. doi: 10.1681/ASN.2014111063

28. Kim S, Song I. The clinical impact of gut microbiota in chronic kidney disease. *Korean J Intern Med* 2020;35(6):1305–1316. doi:10.3904/kjim.2020.411

29. Salguero M, Al-Obaide M, Singh R et al. Dysbiosis of Gram-negative gut microbiota and the associated serum lipopolysaccharide exacerbates inflammation in type 2 diabetic patients with chronic kidney disease. *Exp Ther Med* 2019;18(5):3461–3469. doi:10.3892/etm.2019.7943

30. Al-Obaide M, Singh R, Datta P et al. Gut Microbiota-Dependent Trimethylamine-N-oxide and Serum Biomarkers in Patients with T2DM and Advanced CKD. *J Clin Med* 2017;6(9):86. doi: 10.3390/jcm6090086

31. Aronov P, Luo F, Plummer N et al. Colonic contribution to uremic solutes. *J Am Soc Nephrol* 2011;22(9):1769–1776. doi: 10.1681/ASN.2010121220

32. Poesen R, Windey K, Neven E et al. The Influence of CKD on Colonic Microbial Metabolism. *J Am Soc Nephrol* 2016;27(5):1389–1399. doi: 10.1681/ASN.2015030279

33. Vanholder R, Pletinck A, Schepers E, Glorieux G. Biochemical and Clinical Impact of Organic Uremic Retention Solutes: A Comprehensive Update. *Toxins* 2018;10(1): 33. doi: 10.3390/toxins10010033

34. Gryp T, De Paepe K, Vanholder R et al. Gut microbiota generation of protein-bound uremic toxins and related metabolites is not altered at different stages of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2020;97(6):1230–1242. doi: 10.1016/j.kint.2020.01.028

35. Wang X, Yang S, Li S et al. Aberrant gut microbiota alters host metabolome and impacts renal failure in humans and rodents. *Gut* 2020;69(12):2131-2142. doi: 10.1136/gutjnl-2019-319766

36. Fasano A, Not T, Wang W et al. Zonulin, a newly discovered modulator of intestinal permeability, and its expression in coeliac disease. *Lancet* 2000;355(9214):1518–1519. doi: 10.1016/S0140-6736(00)02169-3

37. Leech B, Schloss J, Steel A. Association between increased intestinal permeability and disease: A systematic review. *Adv Integr Med* 2019;6:23–34. doi: 10.1016/j.aimed.2018.08.003

38. Sturgeon C, Fasano A. Zonulin, a regulator of epithelial and endothelial barrier functions, and its involvement in chronic inflammatory diseases. *Tissue Barriers* 2016;4(4):e1251384. doi: 10.1080/21688370.2016.1251384

39. Ficek J, Wyskida K, Ficek R et al. Relationship between plasma levels of zonulin, bacterial lipopolysaccharides, D-lactate and markers of inflammation in haemodialysis patients. *Int Urol-Nephrol* 2017;49(4):717–725. doi: 10.1007/s11255-016-1495-5

40. Carpes L, Nicoletto B, Canani L et al. Could serum zonulin be an intestinal permeability marker in diabetes kidney disease? *PLoS One*. 2021;16(6):e0253501. doi: 10.1371/journal.pone.0253501

41. Sirin F, Korkmaz H, Eroglu I et al. Serum zonulin levels in type 2 diabetes patients with diabetic kidney disease. *Endokrynol Pol* 2021;72(5):545–549. doi: 10.5603/EP.a2021.0056

42. Hasslacher C, Kulozik F, Platten I et al. Serum zonulin as parameter of intestinal permeability in longstanding type 2 diabetes: correlations with metabolism parameter and renal function. *J Diabetes Metab Disord Control* 2018;5(2):58–62. doi: 10.15406/jdmdc.2018.05.00138

43. Dschietzig T, Boschann F, Ruppert J et al. Plasma Zonulin and its Association with Kidney Function, Severity of Heart Failure, and Metabolic Inflammation. *Clin Lab* 2016;62(12):2443–2447. doi: 10.7754/Clin.Lab.2016.160512

44. Lukaszyk E, Lukaszyk M, Koc-Zorawska E et al. Zonulin, inflammation and iron status in patients with early stages of chronic kidney disease. *Int Urol Nephrol* 2018;50(1):121–125. doi:10.1007/s11255-017-1741-5

45. Malyszko J, Koc-Zorawska E, Levin-Iaina N, Malyszko J. Zonulin, iron status, and anemia in kidney transplant recipients: are they related? *Transplant Proc* 2014 Oct;46(8):2644–2646. doi: 10.1016/j.transproceed.2014.09.018. PMID: 25380885.

46. Trachtman H, Gipson D, Lemley K et al. Plasma Zonulin Levels in Childhood Nephrotic Syndrome. *Front Pediatr* 2019;7:197. doi: 10.3389/fped.2019.00197

47. Okada K, Sekino M, Funaoka H et al. Intestinal fatty acid-binding protein levels in patients with chronic renal failure. *J Surg Res* 2018;230:94–100. doi: 10.1016/j.jss.2018.04.057

48. Swift O, Vilar E, Farrington K. Unexplained inflammation in end-stage kidney disease: Is the combination of enhanced gastrointestinal permeability and reticuloendothelial dysfunction its cause? *Semin Dial* 2019;32(5):417–423. doi: 10.1111/sdi.12810

49. Wang S, Lv D, Jiang S et al. Quantitative reduction in short-chain fatty acids, especially butyrate, contributes to the progression of chronic kidney disease. *Clin Sci (Lond)* 2019;133(17):1857–1870. doi: 10.1042/CS20190171

50. Borges N, Barros A, Nakao L et al. Protein-Bound Uremic Toxins from Gut Microbiota and Inflammatory Markers in Chronic Kidney Disease. *J Ren Nutr* 2016;26(6):396–400. doi: 10.1053/j.jrn.2016.07.005

51. Aguilera A, Bajo M, Espinoza M et al. Gastrointestinal and pancreatic function in peritoneal dialysis patients: their relationship with malnutrition and peritoneal membrane abnormalities. *Am J Kidney Dis* 2003;42(4):787–796. doi: 10.1016/s0272-6386(03)00920-x

52. Terpstra M, Singh R, Geerlings S, Bemelman F. Measurement of the intestinal permeability in chronic kidney disease. *World J Nephrol* 2016;5(4):378–388. doi:10.5527/wjn.v5.i4.378

53. Vaziri N, Goshtasbi N, Yuan J et al. Uremic plasma impairs barrier function and depletes the tight junction protein constituents of intestinal epithelium. *Am J Nephrol* 2012;36(5):438–443. doi: 10.1159/000343886

54. Vaziri N, Yuan J, Norris K. Role of urea in intestinal barrier dysfunction and disruption of epithelial tight junction in chronic kidney disease. *Am J Nephrol* 2013;37(1):1–6. doi: 10.1159/000345969

55. Garcia A, Macedo M, Azevedo M et al. Effect of uremic state in intestine through a co-culture in vitro intestinal epithelial model. *Int J Pharm* 2020;584:119450. doi: 10.1016/j.ijpharm.2020.119450

56. Yang J, Lim S, Ko Y et al. Intestinal barrier disruption and dysregulated mucosal immunity contribute to kidney fibrosis in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2019;34(3):419–428. doi: 10.1093/ndt/gfy172

57. Coopersmith C, Chang K, Swanson P et al. Overexpression of Bcl-2 in the intestinal epithelium improves survival in septic mice. *Crit Care Med* 2002;30(1):195–201. doi: 10.1097/00003246-200201000-00028

58. Borges T, Wieten L, van Herwijnen M et al. The anti-inflammatory mechanisms of Hsp70. *Front Immunol* 2012; 3:95. doi: 10.3389/fimmu.2012.00095

59. Samborski P, Grzymisławski M. The role of HSP70 heat shock proteins in the pathogenesis and treatment of inflammatory bowel diseases. *Adv Clin Exp Med* 2015;24:525–530. doi: 10.17219/acem/44144

60. Maciel R, Cunha R, Busato V et al. Uremia Impacts VE-Cadherin and ZO-1 Expression in Human Endothelial Cell-to-Cell Junctions. *Toxins (Basel)* 2018;10(10):404. doi:10.3390/toxins10100404

61. Contreras-Velázquez J, Soto V, Jaramillo-Rodríguez Y et al. Clinical outcomes and peritoneal histology in patients starting peritoneal dialysis are related to diabetic status and serum albumin levels. *Kidney Int Suppl* 2008;(108):S34–41. doi: 10.1038/sj.ki.5002599

62. Combet S, Ferrier M, Landschoot M et al. Chronic uremia induces permeability changes, increased nitric oxide synthase expression, and structural modifications in the peritoneum. *J Am Soc Nephrol* 2001;12(10):2146–2157. doi: 10.1681/ASN.V12102146

63. Retana C, Sanchez E, Perez-Lopez A et al. Alterations of intercellular junctions in peritoneal mesothelial cells from pa-

tients undergoing dialysis: effect of retinoic Acid. *Perit Dial Int* 2015;35(3):275–287. doi:10.3747/pdi.2012.00323

64. McIntyre C, Harrison L, Eldehni M et al. Circulating endotoxemia: a novel factor in systemic inflammation and cardiovascular disease in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(1):133–141. doi: 10.2215/CJN.04610510

65. Khanna A, Rossman J, Fung H, Caty M. Intestinal and hemodynamic impairment following mesenteric ischemia/reperfusion. *J Surg Res* 2001;99(1):114–119. doi: 10.1006/jsre.2001.6103

66. Stewart A, Pratt-Phillips S, Gonzalez L. Alterations in Intestinal Permeability: The Role of the "Leaky Gut" in Health and Disease. *J Equine Vet Sci* 2017;52:10–22. doi:10.1016/j.jevs.2017.02.009

67. Wu T, Lim P, Jin J et al. Impaired Gut Epithelial Tight Junction Expression in Hemodialysis Patients Complicated with Intradialytic Hypotension. *Biomed Res Int* 2018;2018:2670312. doi: 10.1155/2018/2670312

68. Gerson L. The presence of hemodialysis has been associated with GI hemorrhage, likely owing to intermittent usage of heparin for dialysis treatments and the presence of uremia-induced platelet dysfunction. *Am J Med* 1985;79: 552–559

69. Jefferies H, Crowley L, Harrison L et al. Circulating endotoxaemia and frequent haemodialysis schedules. *Nephron Clin Pract* 2014;128(1-2):141–146. doi: 10.1159/000366519

70. Freire E, Albuquerque J, Leal I et al. Effect of chronic renal dysfunction on the permeability of the colon to water and electrolytes: experimental study in rats. *Arq Bras Cir Dig* 2019;32(4):e1472. doi: 10.1590/0102-672020190001e1472

71. Rola F, Dos-Santos A, Xavier-Neto J et al. Effects of acute volemic changes on jejunal compliance in dogs. *Braz J Med Biol Res* 1989;22(4):523–531. PMID: 2590735.

72. Graça J, Leal P, Gondim F et al. Variations in gastric compliance induced by acute blood volume changes in anesthetized rats. *Braz J Med Biol Res* 2002;35(3):405–410. doi: 10.1590/s0100-879x2002000300018

73. Andersen K, Kesper M, Marschner J et al. Intestinal Dysbiosis, Barrier Dysfunction, and Bacterial Translocation Account for CKD-Related Systemic Inflammation. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(1):76–83. doi: 10.1681/ASN.2015111285

74. Meijers B, Farré R, Dejongh S et al. Intestinal Barrier Function in Chronic Kidney Disease. *Toxins (Basel)* 2018;10(7):298. doi: 10.3390/toxins10070298

75. Nagura M, Tamura Y, Kumagai T et al. Uric acid metabolism of kidney and intestine in a rat model of chronic kidney disease. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids* 2016;35(10-12):550–558. doi: 10.1080/15257770.2016.1163379

76. Shinozaki Y, Furuichi K, Toyama T et al. Impairment of the carnitine/organic cation transporter 1-ergothioneine axis is mediated by intestinal transporter dysfunction in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2017;92(6):1356–1369. doi: 10.1016/j.kint.2017.04.032

77. Masereeuw R, Mutsaers H, Toyohara T et al. The kidney and uremic toxin removal: glomerulus or tubule? *Semin Nephrol* 2014;34(2):191–208. doi: 10.1016/j.semnephrol.2014.02.010

78. Liu B, Luo F, Luo X et al. Metabolic Enzyme System and Transport Pathways in Chronic Kidney Diseases. *Curr Drug Metab* 2018;19(7):568–576. doi: 10.2174/1389200219666180103143448

79. Смирнов АВ, Румянцев АШ. Острое повреждение почек. Часть I. *Нефрология* 2020;24(1):67–95. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-1-67-95

Smirnov AV, Rumyantsev AS. Acute kidney disease. Part I. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2020;24(1):67–95 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-1-67-95

80. Смирнов АВ, Румянцев АШ. Острое повреждение почек. Часть II. *Нефрология* 2020;24(2):96–128. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-2-96-128

Smirnov AV, Rumyantsev AS. Acute kidney disease. Part II. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2020;24(2):96–128 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-2-96-128

81. Kobayashi T, Iwata Y, Nakade Y, Wada T. Significance of the Gut Microbiota in Acute Kidney Injury. *Toxins* 2021;13(6):369. doi: 10.3390/toxins13060369

82. Rydzewska-Rosołowska A, Sroka N, Kakareko K et al. The Links between Microbiome and Uremic Toxins in Acute Kidney Injury: Beyond Gut Feeling-A Systematic Review. *Toxins* 2020;12(12):788. doi: 10.3390/toxins12120788

83. Park S, Chen S, Kim M et al. Cytokines induce small intestine and liver injury after renal ischemia or nephrectomy. *Lab Invest* 2011;91:63–84. doi: 10.1038/labinvest.2010.151

84. Yang J, Kim C, Go Y et al. Intestinal microbiota control acute kidney injury severity by immune modulation. *Kidney Int* 2020;98(4):932–946. doi: 10.1016/j.kint.2020.04.048

85. Vaziri N, Liu S, Lau W et al. High amylose resistant starch diet ameliorates oxidative stress, inflammation, and progression of chronic kidney disease. *PloS one* 2014;9(12):e114881. doi: 10.1371/journal.pone.0114881

86. Sirich T, Plummer N, Gardner C et al. Effect of increasing dietary fiber on plasma levels of colon-derived solutes in hemodialysis patients. *CJASN* 2014;9(9):1603–1610. doi: 10.2215/CJN.00490114

87. Krishnamurthy V, Wei G, Baird B et al. High dietary fiber intake is associated with decreased inflammation and all-cause mortality in patients with chronic kidney disease. *Kidney international* 2012;81(3):300–306. doi: 10.1038/ki.2011.355

88. Evenepoel P, Bammens B, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Acarbose treatment lowers generation and serum concentrations of the protein-bound solute p-cresol: a pilot study. *Kidney international* 2006;70(1):192–198. doi: 10.1038/sj.ki.5001523

89. Лукичев БГ, Румянцев АШ, Панина ИЮ, Акименко В. Микробиота кишечника и хроническая болезнь почек. Сообщение второе. *Нефрология* 2019;23(1):18–31. doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-1-18-31

Lukichev BG, Rumyantsev AS, Panina IYu, Akimenko V. Colonic microbiota and chronic kidney disease. Part II. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019;23(1):18–31 (In Russ.). doi: 10.24884/1561-6274-2018-23-1-18-31

90. Meijers B, De Preter V, Verbeke K et al. p-Cresyl sulfate serum concentrations in haemodialysis patients are reduced by the prebiotic oligofructose-enriched inulin. *Nephrology, dialysis, transplantation* 2010;25(1):219–224. doi: 10.1093/ndt/gfp414

91. Sueyoshi M, Fukunaga M, Mei M et al. Effects of lactulose on renal function and gut microbiota in adenine-induced chronic kidney disease rats. *Clinical and experimental nephrology* 2019;23(7):908–919. doi: 10.1007/s10157-019-01727-4

92. Miyoshi M, Shiroto A, Kadoguchi H et al. Prebiotics Improved the Defecation Status via Changes in the Microbiota and Short-chain Fatty Acids in Hemodialysis Patients. *Kobe J Med Sci* 2020;66(1):E12–E21. PMID: 32814753

93. Ramos C, Armani R, Canziani M et al. Effect of prebiotic (fructooligosaccharide) on uremic toxins of chronic kidney disease patients: a randomized controlled trial. *Nephrol Dial Transplant* 2019;34(11):1876–1884. doi: 10.1093/ndt/gfy171

94. Ranganathan N, Ranganathan P, Friedman E et al. Pilot study of probiotic dietary supplementation for promoting healthy kidney function in patients with chronic kidney disease. *Advances in therapy* 2010;27(9):634–647. doi: 10.1007/s12325-010-0059-9

95. Natarajan R, Pechenyak B, Vyas U et al. Randomized controlled trial of strain-specific probiotic formulation (Renadyl) in dialysis patients. *Biomed Res Int* 2014;2014:568571. doi: 10.1155/2014/568571

96. Taki K, Takayama F, Niwa T. Beneficial effects of Bifidobacteria in a gastroresistant seamless capsule on hyperhomocysteinemia in hemodialysis patients. *Journal of renal nutrition* 2005;15(1):77–80. doi: 10.1053/j.jrn.2004.09.028

97. Guida B, Germanò R, Trio R et al. Effect of short-term synbiotic treatment on plasma p-cresol levels in patients with chronic renal failure: a randomized clinical trial. *NMCD* 2014;24(9):1043–1049. doi: 10.1016/j.numecd.2014.04.007

98. Rossi M, Johnson D, Morrison M et al. Synbiotics Easing Renal Failure by Improving Gut Microbiology (SYNERGY): A Randomized Trial. *CJASN* 2016;11(2):223–231. doi: 10.2215/CJN.05240515

99. Cosola C, Rocchetti M, di Bari I et al. An Innovative Synbiotic Formulation Decreases Free Serum Indoxyl Sulfate, Small Intestine Permeability and Ameliorates Gastrointestinal Symptoms in a Randomized Pilot Trial in Stage IIIb-IV CKD Patients. *Toxins (Basel)* 2021;13(5):334. doi: 10.3390/toxins13050334

100. Marzocco S, Fazeli G, Di Micco L et al. Supplementation of Short-Chain Fatty Acid, Sodium Propionate, in Patients on Maintenance Hemodialysis: Beneficial Effects on Inflammatory Parameters and Gut-Derived Uremic Toxins, A Pilot Study (PLAN Study). *J Clin Med* 2018;7(10):315. doi: 10.3390/jcm7100315

101. Miao W, Wu X, Wang K et al. Sodium Butyrate Promotes Reassembly of Tight Junctions in Caco-2 Monolayers Involving Inhibition of MLCK/MLC2 Pathway and Phosphorylation of PKCβ2. *Int J Mol Sci* 2016;17(10):1696. doi: 10.3390/ijms17101696

102. Andrade-Oliveira V, Amano M, Correa-Costa M et al. Bacteria Products Prevent AKI Induced by Ischemia-Reperfusion. *J Am Soc Nephrol* 2015;26(8):1877–1888. doi: 10.1681/ASN.2014030288

103. Ji C, Deng Y, Yang A et al. Improved Colon Mucosal Barrier Injury in 5/6 Nephrectomy Rats May Associate With Gut Microbiota Modification. *Front Pharmacol* 2020;11:1092. doi: 10.3389/fphar.2020.01092

104. Zeng Y, Dai Z, Lu F et al. Emodin via colonic irrigation modulates gut microbiota and reduces uremic toxins in rats with chronic kidney disease. *Oncotarget* 2016;7(14):17468–17478. doi: 10.18632/oncotarget.8160

105. Mishima E, Fukuda S, Shima H et al. Alteration of the Intestinal Environment by Lubiprostone Is Associated with Amelioration of Adenine-Induced CKD. *J Am Soc Nephrol* 2015;26(8):1787–1794. doi: 10.1681/ASN.2014060530

106. Schulman G, Agarwal R, Acharya M et al. A multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study of AST-120 (Kremezin) in patients with moderate to severe CKD. *Am J Kidney Dis* 2006;47(4):565–577. doi: 10.1053/j.ajkd.2005.12.036

107. Niwa T, Ise M, Miyazaki T, Meada K. Suppressive effect of an oral sorbent on the accumulation of p-cresol in the serum of experimental uremic rats. *Nephron* 1993;65(1):82–87. doi: 10.1159/000187446

108. Yamagishi S, Nakamura K, Matsui T et al. Oral administration of AST-120 (Kremezin) is a promising therapeutic strategy for advanced glycation end product (AGE)-related disorders. *Med Hypotheses* 2007;69(3):666–668. doi: 10.1016/j.mehy.2006.12.045

109. Vaziri N, Yuan J, Khazaeli M et al. Oral activated charcoal adsorbent (AST-120) ameliorates chronic kidney disease-induced intestinal epithelial barrier disruption. *Am J Nephrol* 2013;37(6):518–525. doi: 10.1159/000351171

110. Chen Y, Wu M, Hu P et al. Effects and Safety of an Oral Adsorbent on Chronic Kidney Disease Progression: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Journal of clinical medicine* 2019;8(10):1718. doi: 10.3390/jcm8101718

111. Perianayagam M, Jaber B. Endotoxin-binding affinity of sevelamer hydrochloride. *Am J Nephrol* 2008;28(5):802–807. doi: 10.1159/000135691

112. Navarro-González J, Mora-Fernández C, Muros de Fuentes M et al. Effect of phosphate binders on serum inflammatory profile, soluble CD14, and endotoxin levels in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6(9):2272–2279. doi: 10.2215/CJN.01650211

113. Luo F, Patel K, Marquez I et al. Effect of increasing dialyzer mass transfer area coefficient and dialysate flow on clearance of protein-bound solutes: a pilot crossover trial. *American journal of kidney diseases* 2009;53(6):1042–1049. doi: 10.1053/j.ajkd.2009.01.265

114. Meyer T, Peattie J, Miller J et al. Increasing the clearance of protein-bound solutes by addition of a sorbent to the dialysate. *JASN* 2007;18(3):868–874. doi: 10.1681/ASN.2006080863

115. Vanholder R, Meert N, Van Biesen W et al. Why do patients on peritoneal dialysis have low blood levels of protein-bound solutes?. *Nature clinical practice. Nephrology* 2009;5(3):130–131. doi: 10.1038/ncpneph1023

Сведения об авторах:

Пятченков Михаил Олегович, канд. мед. наук
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6. Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ. Тел.: +7 (812) 5424314. E-mail: pyatchenkovMD@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5893-3191

Проф. Румянцев Александр Шаликович, д-р. мед. наук
199106, Санкт-Петербург, 21-я линия В.О., д. 8а. Санкт-Петербургский государственный университет, кафедра факультетской терапии. 197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого, д. 6–8. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, кафедра пропедевтики внутренних болезней. Тел.: +7(812)326-03-26 Тел.: +7(812)234-01-65. E-mail: rash.56@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9455-1043

Щербаков Евгений Вячеславович
194044, Россия, Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6. Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова МО РФ. Тел.: +7 (812) 5424314; E-mail: evgenvmeda@mail.ru. ORCID:0000-0002-3045-1721

Проф. Марков Александр Георгиевич, д-р. биол. наук
199034, Санкт-Петербург, Университетская наб., д. 7–9, Санкт-Петербургский государственный университет, каф. общей физиологии. Тел.: +7(812) 3289589, E-mail:a.markov@spbu.ru. ORCID: 0000-0002-2867-044X

About the authors:

Mikhail O. Pyatchenkov, PhD
Affiliations: 194044, Russia, St. Petersburg, Military Medical Academy, Department of nephrology and blood purification. Phone: +7 (812) 5424314; E-mail: pyatchenkovMD@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5893-3191

Alexandr Sh.Rumyantsev, MD, PhD, DMedSci
Affiliations: 199106, Russia, St. Petersburg, Department of Faculty therapy St. Petersburg University. Phone: +7 (812) 3260326; E-mail: rash.56@mail.ru. ORCID: 0000-0002-9455-1043

Evgeniy V.Scherbakov
Affiliations: 194044, Russia, St. Petersburg, Military Medical Academy, Department of nephrology and blood purification. Phone: +7 (812) 5424314; E-mail: evgenvmeda@mail.ru. ORCID:0000-0002-3045-1721

Alexander G. Markov, D.Sc., professor
Affiliations: 199034, Russia, St. Petersburg, Universitetskaj nab. 7-9, St. Petersburg, State University, Department of General Physiology. Phone: +7 (812) 3289589; E-mail: a.markov@spbu.ru ORCID: 0000-0002-2867-044X

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Authors contribution: All authors made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 27.12.2021;
одобрена после рецензирования 04.02.2022;
принята к публикации 28.04.2022
The article was submitted 27.12.2021;
approved after reviewing 04.02.2022;
accepted for publication 28.04.2022