

УДК 616.61-036.12

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar456495>

Научная статья



Сывороточный и фекальный зонулин как биомаркер повышенной эпителиальной проницаемости кишечника у больных с нарушением функции почек

М.О. Пятченков, Е.В. Щербаков, А.Е. Трандина, А.С. Бунтовская, Р.И. Глушаков

Военно-медицинская академия, Санкт-Петербург, Россия;

АННОТАЦИЯ

Актуальность. Определение в биологических средах уровня зонулина представляет собой один из широко используемых в клинической практике методов диагностики синдрома повышенной эпителиальной проницаемости кишечника. Между тем снижение скорости клубочковой фильтрации потенциально может влиять на содержание зонулина у больных с нарушением функции почек.

Цель исследования: изучить содержание сывороточного и фекального зонулина у больных на разных стадиях хронической болезни почек.

Материалы и методы. В исследование включено 3 группы пациентов: 1) 155 больных с терминальной стадией почечной недостаточности, получающих лечение гемодиализом; 2) 30 пациентов с хронической болезнью почек С3а-5 (скорость клубочковой фильтрации <60 мл/мин/1,73 м²); 3) 20 относительно здоровых лиц со скоростью клубочковой фильтрации >60 мл/мин/1,73 м². Группы были сопоставимы по полу, возрасту, индексу массы тела, статусу курения и этиологической структуре хронической болезни почек. Концентрацию зонулина в сыворотке крови и кале определяли методом иммуноферментного анализа с помощью коммерческого набора.

Результаты. Достоверных различий в содержании сывороточного зонулина между группами обнаружено не было. У пациентов на додиализных стадиях хронической болезни почек наблюдалась значимая прямая корреляция зонулина в крови с возрастом, креатинином, С-реактивным белком и обратная со скоростью клубочковой фильтрации. В то же время уровень сывороточного зонулина у гемодиализных больных не зависел ни от одного из исследованных клинико-демографических показателей. Также обнаружено, что концентрация фекального зонулина значимо повышалась параллельно с усилением тяжести почечной недостаточности и достигала максимальных значений у больных терминальной стадией почечной недостаточности. Между тем корреляционный анализ не выявил зависимости в содержании фекального зонулина у лиц с незначительно и умеренно выраженной хронической болезнью почек от показателей, характеризующих функцию почек. Только в группе гемодиализных больных фекальный зонулин достоверно коррелировал с уровнем С-реактивного белка.

Заключение. В качестве биомаркера повышенной эпителиальной проницаемости кишечника у больных с нарушением функции почек предпочтительно использовать определение уровня фекального, а не сывороточного зонулина, так как его концентрация в крови, вероятно, подвержена значимому влиянию сниженной скорости клубочковой фильтрации.

Ключевые слова: гемодиализ; зонулин; кишечная проницаемость; синдром повышенной эпителиальной проницаемости кишечника; скорость клубочковой фильтрации; хроническая болезнь почек.

Как цитировать:

Пятченков М.О., Щербаков Е.В., Трандина А.Е., Бунтовская А.С., Глушаков Р.И. Сывороточный и фекальный зонулин как биомаркер повышенной эпителиальной проницаемости кишечника у больных с нарушением функции почек // Известия Российской военно-медицинской академии. 2023. Т. 42. № 3. С. 237–246. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar456495>

DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar456495>

Research Article

Serum and fecal zonulin as a biomarker of increased intestinal epithelial permeability in patients with renal insufficiency

Mikhail O. Pyatchenkov, Evgeniy V. Shcherbakov, Aleksandra E. Trandina,
Aleksandra S. Buntovskaia, Ruslan I. Glushakov

Military Medical Academy, Saint Petersburg, Russia;

ABSTRACT

BACKGROUND: Determination of zonulin level in body fluids is one of the widely used clinical methods for diagnosing the leaky gut syndrome. Meanwhile, a decrease in the glomerular filtration rate can potentially affect the content of zonulin in patients with impaired renal function.

AIM: to evaluate the content of serum and fecal zonulin in subjects at different stages of chronic kidney disease.

MATERIALS AND METHODS: The cross-sectional study included 3 groups of patients: 1) 155 patients with end-stage renal disease receiving hemodialysis treatment; 2) 30 patients with chronic kidney disease C3a-5 (glomerular filtration rate <60 ml/min/1.73 m²); 3) 20 relatively healthy individuals with glomerular filtration rate >60 ml/min/1.73 m². The groups were comparable in gender, age, body mass index, smoking status and etiological structure of chronic kidney disease. The concentration of zonulin in blood serum and feces was assessed by using commercially available ELISA kit.

RESULTS: There were no significant differences in serum zonulin between groups. There was a significant direct correlation of serum zonulin with age, creatinine, C-reactive protein and inverse with glomerular filtration rate in patients at predialysis stages of chronic kidney disease. At the same time, in hemodialysis patients serum zonulin did not depend on any of the defined clinical and demographic indicators. It was also found that the concentration of fecal zonulin significantly increased concurrently with an advance of renal insufficiency and reached maximum values in patients with end-stage renal disease. Meanwhile, the correlation analysis did not reveal association between fecal zonulin and kidney function parameters in individuals with mild and moderate chronic kidney disease. Only the hemodialysis group observed a significant direct correlation of fecal zonulin with C-reactive protein.

CONCLUSION: Evaluation of fecal, but not serum zonulin level is preferable to use as a biomarker of increased intestinal epithelial permeability in patients with impaired renal function, since its concentration in the blood is likely to be significantly affected by reduced glomerular filtration rate.

Keywords: chronic kidney disease; glomerular filtration rate; hemodialysis; intestinal permeability; leaky gut syndrome; zonulin.

To cite this article:

Pyatchenkov MO, Shcherbakov EV, Trandina AE, Buntovskaia AS, Glushakov RI. Serum and fecal zonulin as a biomarker of increased intestinal epithelial permeability in patients with renal insufficiency. *Russian Military Medical Academy Reports*. 2023;42(3):237–246. DOI: <https://doi.org/10.17816/rmmar456495>

Received: 25.05.2023

Accepted: 10.06.2023

Published: 29.09.2023

АКТУАЛЬНОСТЬ

Синдром повышенной эпителиальной проницаемости кишечника, или синдром «дырявой кишки», в настоящее время рассматривается в качестве важного механизма патогенеза многих заболеваний, включая хроническую болезнь почек (ХБП) [1–3]. Обнаружение в биологических средах (кровь, моча, кал) повышенного уровня белков, являющихся компонентами кишечного барьера, представляет собой доступный в повседневной клинической практике метод диагностики данного синдрома. Одним из таких биомаркеров является зонулин — специализированный внутриклеточный адаптерный пептид, который увеличивает проницаемость эпителиального слоя тонкой кишки за счет обратимой модуляции межклеточных плотных контактов, правильное функционирование которых имеет решающее значение для поддержания парацеллюлярного транспорта [4]. Между тем необходимо учитывать, что снижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) потенциально может влиять на содержание зонулина у больных с нарушением функции почек [5]. Исходя из этого *целью* настоящего исследования было изучение

содержания сывороточного и фекального зонулина у больных на разных стадиях ХБП.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 155 больных в возрасте от 18 до 80 лет с терминальной стадией почечной недостаточности (ТПН), получающих лечение гемодиализом не менее 6 мес (Группа 1). В группу сравнения вошли 30 пациентов с ХБП С3а–5 (СКФ <60 мл/мин/1,73 м²) со схожей этиологической структурой патологии почек (Группа 2). Группа контроля была представлена 20 относительно здоровыми лицами со стабильной соматической патологией и СКФ >60 мл/мин/1,73 м² (Группа 3). Все участники исследования проходили обследование и лечение в период с 2019 по 2022 год. Основные клинично-демографические характеристики участников исследования представлены в табл. 1. Группы были сопоставимы по полу, возрасту, индексу массы тела (ИМТ) и статусу курения.

Критерии исключения: острые воспалительные и некомпенсированные хронические заболевания; энтеропатии (болезнь Крона, неспецифический язвенный колит,

Таблица 1. Основные клинично-демографические характеристики участников исследования

Показатель	Группа 1 ТПН (гемодиализ), n = 155	Группа 2 СКФ <60 мл/мин/1,73 м ² , n = 30	Группа 3 СКФ >60 мл/мин/1,73 м ² , n = 20	p
Возраст, лет	61 (48–68)	55,5 (44–66)	55 (49,3–66,8)	p = 0,424*
Пол (мужчины, %)	89 (57,4)	17 (56,7)	10 (50)	p = 0,835 [§]
ИМТ, кг/м ²	26,5 (23,7–30,7)	26,8 (23,9–29,4)	26,9 (23,8–29,9)	p = 0,836*
Злоупотребление курением, n (%)	28 (18,1)	6 (20)	5 (25)	p = 0,79 [§]
Этиологическая причина ХБП, n (%)				
• гломерулонефрит	50 (32,3)	10 (33,3)	–	p _{1–2} = 1,0 ^μ
• сахарный диабет 2-го типа	47 (30,3)	7 (23,3)	5 (25)	p = 0,726 [§]
• сахарный диабет 1-го типа	11 (7,1)	1 (3,3)	–	p _{1–2} = 0,694 ^μ
• поликистозная болезнь почек	15 (9,7)	2 (6,7)	2 (10)	p = 1,0 ^μ
• тубулоинтерстициальный нефрит	11 (7,1)	2 (6,7)	3 (15)	p = 0,397 ^μ
• другие причины	21 (13,5)	8 (26,7)	10 (50)	p < 0,001 [§]
Длительность диализной терапии, мес	40 (19–97)	–	–	–
Метод заместительной почечной терапии				
• гемодиализ, n (%)	87 (56,1)	–	–	–
• гемодиальфильтрация, n (%)	68 (43,9)	–	–	–
Сосудистый доступ для диализа				
• артериовенозная фистула	125 (80,7)	–	–	–
• центральный венозный катетер	23 (14,8)	–	–	–
• сосудистый протез	7 (4,5)	–	–	–
Kt/V	1,44 (1,36–1,52)	–	–	–

Примечание. * — критерий Краскела–Уоллиса; [§] — Хи-квадрат Пирсона; ^μ — точный критерий Фишера; Kt/V — расчетный показатель эффективности гемодиализа.

целиакия и др.); прием пре- и пробиотиков, антибактериальных, нестероидных противовоспалительных, слабительных средств; операции на органах желудочно-кишечного тракта в предшествующие исследованию 12 мес.

У всех участников исследования утром натощак до приема лекарственных препаратов отбирались образцы венозной крови для последующего лабораторного анализа в сертифицированной лаборатории. Расчет СКФ проводили по формуле СКД-ЕРІ на основе сывороточного креатинина. Для оценки уровня сывороточного зонулина образцы цельной крови собирали в пробирки с активатором коагуляции, оставляли на 2 ч при комнатной температуре, а затем центрифугировали при 3000 об./мин в течение 15 мин. Полученную сыворотку хранили при -70°C .

Уровень фекального зонулина был определен у 94 гемодиализных больных и всех пациентов групп сравнения и контроля. Клинические образцы (кал) замораживались и хранились при -70°C . Перед лабораторным исследованием пробы размораживали и проводили этап подготовки. К клиническому материалу добавляли 5 мл буфера, тщательно суспендировали и центрифугировали 5 мин/2000 г. Образовавшийся супернатант проб фекалий использовали для последующего анализа сразу после его приготовления. Концентрацию зонулина в сыворотке крови и кале определяли методом иммуноферментного анализа по инструкции коммерческого набора (BlueGene Biotech, Shanghai, Китай) на планшетном анализаторе Victor X5 (PerkinElmer, Inc., США).

Статистическая обработка данных проводилась с помощью программы SPSS Statistics 26. Рисунки выполнены в программе GraphPad Prism 8.0. Для оценки характера распределения в совокупности по выборочным данным использовали тесты Колмогорова–Смирнова и Шапиро–Уилка. При описании количественных признаков с нормальным распределением использовали среднее значение со стандартным отклонением ($M \pm SD$), для переменных с распределением, отличающимся от

нормального, — медиану с межквартильным размахом ($Me(Q25-Q75)$). Качественные признаки представлены как абсолютное количество и процент от общего числа.

Сравнение групп по количественным показателям выполнялось с помощью однофакторного дисперсионного анализа (при нормальном распределении данных) и критериям Манна–Уитни и Краскела–Уоллиса (при распределении, отличном от нормального). Для сравнения качественных переменных использовали критерий хи-квадрат Пирсона и точный критерий Фишера. Направление и сила связи между двумя количественными показателями оценивались с помощью коэффициента ранговой корреляции Спирмена. Значение $p < 0,05$ считалось статистически значимым во всех тестах.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Лабораторные параметры обследованных больных характеризовались типичным для прогрессирования ХБП снижением СКФ, уровня гемоглобина, альбумина, бикарбоната, а также повышением мочевой кислоты и воспалительных биомаркеров (СО₂, СРБ, фибриногена). Концентрация сывороточного зонулина у лиц со СКФ >60 мл/мин/1,73 м² была ниже, чем у гемодиализных больных, но выше, чем у пациентов со СКФ <60 мл/мин/1,73 м² (табл. 2). Между тем выявленные различия в содержании зонулина в крови между группами оказались статистически незначимы (рис. 1). Уровень сывороточного зонулина у гемодиализных больных не зависел от пола, возраста, ИМТ, статуса курения, этиологической причины ХБП, длительности терапии диализом, варианта процедуры диализа и типа сосудистого доступа, показателя эффективности диализа Kt/V, а также не был достоверно связан ни с одним из определенных лабораторных показателей. В то же время в группе пациентов со СКФ <60 мл/мин/1,73 м² сывороточный зонулин демонстрировал значимую прямую корреляцию с возрастом ($r = 0,51$; $p = 0,004$), креатинином ($r = 0,808$; $p < 0,001$), мочевой кислотой ($r = 0,593$; $p = 0,002$), СРБ ($r = 0,791$; $p < 0,001$), фибриногеном ($r = 0,377$; $p = 0,04$) и обратную со СКФ ($r = -0,983$; $p < 0,001$) и гемоглобином ($r = -0,617$; $p < 0,001$). Среди лиц со СКФ >60 мл/мин/1,73 м² также наблюдалась убедительная ассоциация зонулина крови с возрастом ($r = 0,645$; $p = 0,002$), СРБ ($r = 0,609$; $p = 0,004$) и СКФ ($r = -0,949$; $p < 0,001$).

Также было обнаружено, что концентрация фекального зонулина значимо повышалась параллельно с усилением тяжести почечной недостаточности ($p < 0,001$). Уровень зонулина в кале как у гемодиализных больных ($197,7 \pm 59,7$ нг/мл), так и у лиц с умеренно выраженной ХБП ($159,1 \pm 49,7$ нг/мл) был значительно выше по сравнению с контрольной группой ($114,2 \pm 28,1$ нг/мл), $p < 0,001$ (табл. 3). У больных ТПН содержание фекального зонулина было достоверно выше, чем у пациентов со

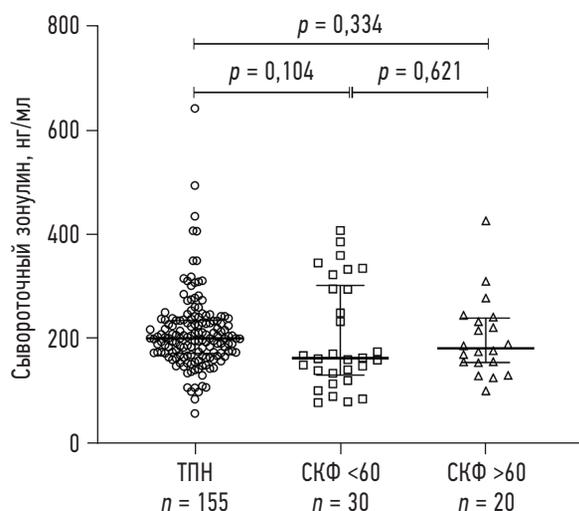


Рис. 1. Сравнение концентрации сывороточного зонулина (межгрупповое сравнение по критерию Манна–Уитни)

Таблица 2. Основные лабораторные показатели участников исследования

Показатель	Группа 1 ТПН (гемодиализ), n = 155	Группа 2 СКФ <60 мл/мин/1,73 м ² , n = 30	Группа 3 СКФ >60 мл/мин/1,73 м ² , n = 20	p
Гемоглобин, г/л	112 (100–123)	128,5 (119,5–138)	144 (138–152,8)	$p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,026^\dagger$
СО ₂ , мм/ч	27 (16–42)	14,5 (10–25,8)	9 (5–15,3)	$p_{1-2} = 0,002$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,126^\dagger$
Альбумин, г/л	36,8 (34,7–40,1)	38,7 (36,3–42,9)	42,7 (39,9–45,6)	$p_{1-2} = 0,021$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,04^\dagger$
Глюкоза, ммоль/л	5,1 (4,5–6,2)	5,5 (4,8–6,2)	5,6 (4,9–6,2)	$p = 0,37^*$
Креатинин, мкмоль/л	649,6 (522–828,1)	181 (143,8–215,8)	77,5 (73,3–80,8)	$p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,382^\dagger$
СКФ, мл/мин/1,73 м ²	–	33,5 (26,5–45)	78 (74,3–96,8)	$p_{2-3} < 0,001^\vee$
Общий билирубин, мкмоль/л	10,5 (8,3–12,5)	12,3 (9,1–14,8)	11,4 (9,2–20)	$p_{1-2} = 0,073$, $p_{1-3} = 0,082$, $p_{2-3} = 1,0^\dagger$
АСТ, Ед/л	14,5 (11,4–18,6)	20,1 (16–25,5)	22,5 (19,6–22,8)	$p_{1-2} < 0,001$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,97^\dagger$
АЛТ, Ед/л	12,3 (8,8–21,2)	18,5 (14,8–26,1)	22,5 (16,3–28)	$p_{1-2} = 0,003$, $p_{1-3} = 0,002$, $p_{2-3} = 1,0^\dagger$
Мочевая кислота, мкмоль/л	406,1 (347–467)	365,7 (308,5–453,7)	273,4 (259,4–314,2)	$p_{1-2} = 0,239$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} < 0,001^\dagger$
Общий холестерин, ммоль/л	4,2 (3,5–5,3)	4,9 (3,8–5,3)	5,4 (4,9–6,4)	$p_{1-2} = 1,0$, $p_{1-3} = 0,001$, $p_{2-3} = 0,062^\dagger$
Триглицериды, ммоль/л	1,4 (1,1–1,9)	1,4 (1,0–1,9)	1,8 (1,2–2,3)	$p = 0,361^*$
СРБ, мг/л	6,7 (3,2–11,7)	4,0 (2,5–6,4)	1,2 (0,3–2,2)	$p_{1-2} = 0,036$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,007^\dagger$
Сывороточное железо, мкмоль/л	11,4 (7,8–14,3)	12,1 (9,8–15,4)	–	$p_{1-2} = 0,383^\vee$
Фибриноген, г/л	5,1 (4,4–5,8)	4,4 (3,8–5,2)	3,6 (3,3–4,3)	$p_{1-2} = 0,028$, $p_{1-3} < 0,001$, $p_{2-3} = 0,026^\dagger$
Бикарбонат сыворотки, ммоль/л	23,6 (21,6–25,3)	26,2 (25,6–26,3)	–	$p_{1-2} < 0,001^\vee$
Сывороточный зонулин, нг/мл	200,7 (171–235)	162,5 (130,1–301,9)	181,6 (154,2–239,3)	$p = 0,198^*$

Примечание. * — критерий Краскела–Уоллиса; † — парные сравнения с поправкой Бонферрони; † — критерий Манна–Уитни.

Таблица 3. Уровень фекального зонулина в исследуемых группах

Показатель	Группа 1 ТПН (гемодиализ), n = 94	Группа 2 СКФ <60 мл/мин/1,73 м ² , n = 30	Группа 3 СКФ >60 мл/мин/1,73 м ² , n = 20	p
Фекальный зонулин, нг/мл	197,7 ± 59,7	159,1 ± 49,7	114,2 ± 28,1	$p < 0,001^\wedge$

Примечание. ^ — однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA).

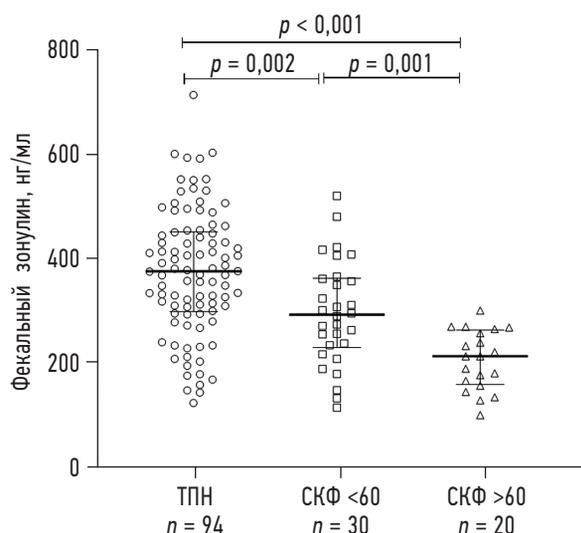


Рис. 2. Сравнение концентрации фекального зонулина (межгрупповое сравнение с помощью апостериорного критерия Геймса–Хауэлла)

СКФ <60 мл/мин/1,73 м², $p = 0,002$ (рис. 2). У пациентов на додиализных стадиях ХБП значимых ассоциаций фекального зонулина с другими исследованными параметрами, включая показатели, характеризующие функцию почек, обнаружено не было. Между тем в группе гемодиализных больных фекальный зонулин достоверно коррелировал с уровнем СРБ ($r = 0,849$; $p < 0,001$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Зонулин впервые идентифицирован в 2000 г. A. Fasano et al., которые предположили наличие в кишечном эпителии эндогенного модулятора трансэпителиальной проницаемости, функционально подобного энтеротоксину холерного вибриона *zonula occludens (Zot)* [6]. Зонулин представляет собой прегаптоглобин (пре-HP-2) с молекулярной массой 50 кДа. Белки семейства зонулина (ZO-1, ZO-2 и ZO-3) являются многодоменными адаптерными протеинами, связывающими молекулярные компоненты плотных контактов (окклюдины и клаудины) с актиновым цитоскелетом и некоторыми другими цитоплазматическими протеинами энтероцитов. Подобная ассоциация обеспечивает механическое соединение клеток эпителия, его функциональную поляризацию, а также имеет решающее значение в регуляции межклеточного транспорта [7]. Зонулин стимулирует активируемые протеазой рецепторы (PAR) и рецепторы эпидермального фактора роста (EGFR), которые, в свою очередь, запускают сложный процесс открытия плотных контактов, что приводит к повышению проницаемости стенки кишечника [8]. Предполагается, что зонулин также участвует в регуляции плотных контактов в эпителии трахеобронхиального дерева, почечных канальцев и эндотелия сосудов, включая гематоэнцефалический барьер [9].

В настоящее время считается, что кишечная микрофлора и глютен являются двумя основными триггерами секреции зонулина [8]. El Asmar R. et al. показали, что стенка тонкого кишечника, подвергаясь воздействию бактерий, выделяет зонулин. Эта секреция сопровождалась снижением трансэпителиального электрического сопротивления, что указывало на повышение его проницаемости, и не зависела ни от отдела тонкой кишки, ни от степени патогенности микроорганизмов. При использовании ингибитора рецептора зонулина вышеуказанные изменения исчезали. Таким образом, вызванное зонулином открытие парацеллюлярного пути трансэпителиального транспорта может представлять собой защитный механизм, который «вымывает» микроорганизмы и предотвращает бактериальную колонизацию [10]. Эти результаты согласуются с растущими доказательствами роли изменений в составе и функциях кишечного микробиома в возникновении функциональных изменений проницаемости кишечника с нарушением механизмов иммунной толерантности и последующей системной транслокацией антигенов, приводящих к хроническому воспалению у генетически восприимчивых индивидуумов [4].

В последнее время зонулин стал широко используемым биомаркером повышенной кишечной проницаемости. В большинстве клинических исследований зонулин определяют в крови и кале. Увеличение уровня сывороточного и фекального зонулина выявлено при широком круге патологий, причем не только у лиц с воспалительными и функциональными заболеваниями кишечника, но и у больных с депрессией, аллергиями, ожирением, сахарным диабетом, инфекциями и опухолями [3]. Не исключением стали и заболевания почек. Хорошо известно, что для ХБП характерны дисбактериоз, различные структурно-функциональные нарушения кишечного барьера и хроническое субклиническое воспаление [11, 12]. Именно увеличение проницаемости кишечника, регулируемое плотными контактами, рассматривается многими исследователями как связующее звено патогенеза в оси кишечник–почки. Между тем результаты исследований, в которых изучалось содержание зонулина у больных нефропатиями, имеют весьма противоречивый характер. Так, Ficek J. et al. показали, что концентрации в крови зонулина, фактора некроза опухоли- α , интерлейкина-6 и высокочувствительного СРБ были достоверно выше у пациентов на гемодиализе, в то время как уровни бактериального липополисахарида (ЛПС), D-лактата и гаптоглобина 2 не отличались от здоровой контрольной группы [13]. В то же время у больных с диабетической нефропатией было обнаружено более низкое содержание сывороточного зонулина по сравнению со здоровыми лицами и пациентами с сахарным диабетом 2-го типа без патологии почек [14–16]. Кроме того, положительная корреляция между концентрацией зонулина и СКФ наблюдалась у пациентов с ранними стадиями ХБП [17], сердечной недостаточностью [18] и реципиентов почечного трансплантата [19].

Al-Obaide M. et al. установили, что у больных сахарным диабетом 2-го типа и ХБП сывороточный уровень микробного метаболита триметиламин-N-оксида позитивно связан с зонулином, ЛПС, биомаркерами воспаления и эндотелиальной дисфункцией [20]. Вместе с тем в работе Pereira N. et al. было показано, что замедленное время опорожнения кишечника у пациентов, находящихся на перитонеальном диализе, ассоциируется с увеличением концентрации в крови уремических токсинов кишечного происхождения p-крезил сульфата и индол-3-уксусной кислоты, но при этом не влияет на содержание ЛПС и зонулина [21].

Недавно Li Q. et al. обнаружили, что у больных с IgA-нефропатией и IgA-васкулитом с нефритом наряду с повышенным уровнем IgA1 с дефицитом галактозы наблюдается увеличение концентрации зонулина в крови по сравнению со здоровым контролем, что, вероятно, указывает на его роль в дисфункции кишечного барьера. Авторы предположили, что повышенный уровень зонулина при этих состояниях может вызывать воспаление и нарушение проницаемости стенки кишечника, приводя к нарушению иммунной регуляции с «утечкой» аномального IgA и отложению его в почках и сосудах [22]. Подтверждением этой теории могут служить результаты экспериментальной работы Zhou N. et al., в которой у крыс с IgA-нефропатией было выявлено повреждение структур и снижение экспрессии белков (ZO-1, окклюдин, муцин-2) плотных контактов. Относительная численность бактерий *Ruminococcus2* и уровни биомаркеров повышенной кишечной проницаемости диаминооксидазы сыворотки и D-молочной кислоты, напротив, были увеличены в модельной группе животных [23].

Содержание зонулина также повышено в плазме крови детей с нефротическим синдромом [24]. Считается, что зонулин, связываясь с PAR2 рецепторами, может нарушать цитопротективные эффекты активированного протеина С (аРС) в подоцитах человека [25]. Следовательно, зонулин, по-видимому, вовлечен в патогенез и прогрессирование протеинурии. Однако точная патофизиологическая причина этого явления (изменение в механизмах регуляции, синтеза или внепочечного клиренса) требует дальнейшего изучения.

Нельзя не отметить существующие методологические трудности при определении зонулина в биологических средах. Scheffler L. et al. ранее было показано, что доступные в настоящее время коммерческие наборы для иммуноферментного анализа распознают не прегаптоглобин 2, а структурные (и, возможно, функциональные) аналоговые протеины, принадлежащие к семейству манноза-ассоциированных сериновых протеаз, причем пропердин является наиболее вероятным кандидатом [26]. Кроме того, нередко отмечается значительный разброс выявляемых концентраций зонулина, что может быть связано с широким периодом его полураспада в крови, колеблющимся от 4 мин до 4 ч. В связи с этим некоторые авторы предлагают определять титр IgG и IgA к зонулину [27].

В настоящей работе достоверных различий в содержании сывороточного зонулина между исследуемыми

группами обнаружено не было. Это открытие отличалось от ожидаемого, а полученный результат следует интерпретировать с осторожностью. С одной стороны, наличие обратной взаимосвязи между уровнем зонулина в любой из биологических сред и СКФ может свидетельствовать об усиливающемся повреждении кишечного барьера по мере нарастания тяжести ХБП, что ранее неоднократно было доказано в экспериментальных и клинических исследованиях [11, 12]. С другой стороны, подобная ассоциация может быть следствием сниженного клиренса зонулина поврежденными почками. В данном случае зонулин стоит рассматривать как предиктор прогрессирования ХБП, а не маркер повышенной проницаемости кишечника. Некоторые авторы предполагают, что низкая концентрация зонулина у лиц с нарушением функции почек является следствием его усиленного выведения с мочой [16, 18]. В этой связи представляются актуальными дальнейшие исследования, направленные на оценку почечной экскреции зонулина, а также влияние процедуры диализа на его содержание в крови у больных с ХБП.

Мы также обнаружили, что концентрация фекального зонулина достоверно повышалась параллельно с прогрессированием почечной недостаточности и достигала максимальных значений у больных на диализе. Принимая во внимание результаты других аналогичных исследований, можно предположить, что сниженная СКФ, как и факторы, непосредственно связанные с процедурой гемодиализа, в значительно меньшей степени оказывает влияние на содержание зонулина в кале у лиц с нарушением функции почек. Наряду с этим наличие тесной корреляции между уровнями фекального зонулина и СРБ отчасти подтверждает гипотезу о том, что повышенная проницаемость кишечника с транслокацией бактерий и продуктов аномального микробного метаболизма в системный кровоток является одной из ведущих причин системного субклинического воспаления у больных с ХБП.

Ограничениями настоящей работы являются относительно небольшое число включенных пациентов, а также отсутствие данных о составе кишечной микробиоты и пищевом рационе больных, в частности в отношении потребления глютенсодержащих продуктов. Кроме того, дизайн кросс-секционного исследования исключает возможность анализа причинно-следственных взаимосвязей.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ И ВЫВОДЫ

Результаты проведенного нами исследования показывают, что в качестве биомаркера повышенной эпителиальной проницаемости кишечника у лиц с нарушением функции почек предпочтительно использовать определение уровня фекального, а не сывороточного зонулина, так как его концентрация в крови, вероятно, подвержена значимому влиянию сниженной СКФ. Также необходимы дальнейшие проспективные исследования в крупных популяциях для выяснения патогенетической роли зонулина

у больных ХБП. С этой точки зрения ожидается, что блокирование опосредованного зонулином парацеллюлярного пути трансэпителиального транспорта и снижение проницаемости кишечника станут новым направлением в лечении заболеваний почек.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Финансирование данной работы не проводилось.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Camilleri M. Leaky gut: mechanisms, measurement and clinical implications in humans // *Gut*. 2019. Vol. 68, No. 8. P. 1516–1526. DOI: 10.1136/gutjnl-2019-318427
2. Пятченков М.О., Саликова С.П., Щербakov Е.В., Власов А.А. Состояние микробно-тканевого комплекса кишечника у больных хронической болезнью почек // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2023. Т. 25, № 1. С. 155–164. DOI: 10.17816/brmma124822
3. Ткаченко Е.И., Гриневич В.Б., Губонина И.В., и др. Болезни как следствие нарушений симбиотических взаимоотношений организма хозяина с микробиотой и патогенами // *Вестник Российской военно-медицинской академии*. 2021. Т. 23, № 2. С. 243–252. DOI: 10.17816/brmma58117
4. Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases // *F1000Res*. 2020. Vol. 9. F1000 Faculty Rev-69. DOI: 10.12688/f1000research.20510.1
5. Пятченков М.О., Власов А.А., Щербakov Е.В., и др. Особенности оценки проницаемости кишечного барьера при хронической болезни почек // *Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология*. 2022. № 11. С. 46–59. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-46-59
6. Fasano A. Regulation of intercellular tight junctions by zonula occludens toxin and its eukaryotic analogue zonulin // *Ann. NY Acad. Sci.* 2000. Vol. 915. P. 214–222. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05244.x
7. Markov A., Aschenbach J., Amasheh S. The epithelial barrier and beyond: claudins as amplifiers of physiological organ functions // *IUBMB Life*. 2017. Vol. 69, No. 5. P. 290–296. DOI: 10.1002/iub.1622
8. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer // *Physiol. Rev.* 2011. Vol. 91, No. 1. P. 151–175. DOI: 10.1152/physrev.00003.2008
9. Yu J., Shen Y., Zhou N. Advances in the role and mechanism of zonulin pathway in kidney diseases // *Int. Urol. Nephrol.* 2021. Vol. 53, No. 10. P. 2081–2088. DOI: 10.1007/s11255-020-02756-9
10. El Asmar R., Panigrahi P., Bamford P., et al. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure // *Gastroenterology*. 2002. Vol. 123, No. 5. P. 1607–1615. DOI: 10.1053/gast.2002.36578
11. Пятченков М.О., Марков А.Г., Румянцев А.Ш. Структурно-функциональные нарушения кишечного барьера и хроническая болезнь почек. Обзор литературы. Ч. I // *Нефрология*. 2022. Т. 26, № 1. С. 10–26. DOI: 10.36485/1561-6274-2022-26-1-10-26
12. Пятченков М.О., Румянцев А.Ш., Щербakov Е.В., Марков А.Г. Структурно-функциональные нарушения кишечного барьера и хроническая болезнь почек. Обзор литературы. Ч. II // *Нефрология*. 2022. Т. 26, № 2. С. 46–64. DOI: 10.36485/1561-6274-2022-26-2-46-64
13. 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. Vol. 49, No. 4. P. 717–725. DOI: 10.1007/s11255-016-1495-5
14. Carpes L., Nicoletto B., Canani L., et al. Could serum zonulin be an intestinal permeability marker in diabetes kidney disease? // *PLoS One*. 2021. Vol. 16, No. 6. P. e0253501. DOI: 10.1371/journal.pone.0253501
15. Sirin F., Korkmaz H., Eroglu I., et al. Serum zonulin levels in type 2 diabetes patients with diabetic kidney disease // *Endokrynol. Pol.* 2021. Vol. 72, No. 5. P. 545–549. DOI: 10.5603/EP.a2021.0056
16. 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. Vol. 5, No. 2. P. 58–62. DOI: 10.15406/jdmdc.2018.05.00138
17. 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. Vol. 50, No. 1. P. 121–125. DOI: 10.1007/s11255-017-1741-5
18. 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. Vol. 62, No. 12. P. 2443–2447. DOI: 10.7754/Clin.Lab.2016.160512
19. 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. Vol. 46, No. 8. P. 2644–2646. DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.09.018
20. Al-Obaide M.A.I., 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. Vol. 6, No. 9. P. 86. DOI: 10.3390/jcm6090086
21. Pereira N.B.F., Ramos C.I., de Andrade L.S., et al. Influence of bowel habits on gut-derived toxins in peritoneal dialysis patients // *J. Nephrol.* 2020. Vol. 33, No. 5. P. 1049–1057. DOI: 10.1007/s40620-020-00819-9
22. Li Q., Yuan X., Shi S., et al. Zonulin, as a marker of intestinal permeability, is elevated in IgA nephropathy and IgA vasculitis with nephritis // *Clin. Kidney J.* 2022. Vol. 16, No. 1. P. 184–191. DOI: 10.1093/ckj/sfac214
23. Zhou N., Shen Y., Fan L., et al. The Characteristics of Intestinal-Barrier Damage in Rats With IgA Nephropathy // *Am. J. Med. Sci.* 2020. Vol. 359, No. 3. P. 168–176. DOI: 10.1016/j.amjms.2019.11.011

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

25. Madhusudhan T., Wang H., Straub B.K., et al. Cytoprotective signaling by activated protein C requires protease-activated receptor-3 in podocytes // *Blood.* 2012. Vol. 119, No. 3. P. 874–883. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365973

REFERENCES

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

2. Pyatchenkov MO, Salikova SP, Shcherbakov EV, Vlasov AA. The state of the microbial-tissue complex of the intestine in patients with chronic kidney disease. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2023;25(1):155–164. DOI: 10.17816/brmma124822

3. Tkachenko EI, Grinevich VB, Gubonina IV, et al. Diseases as a result of violations of the symbiotic relationship of the host organism with the microbiota and pathogens. *Bulletin of the Russian Military Medical Academy.* 2021;23(2):243–252. DOI: 10.17816/brmma58117.1

4. Fasano A. All disease begins in the (leaky) gut: role of zonulin-mediated gut permeability in the pathogenesis of some chronic inflammatory diseases. *F1000Res.* 2020;9: F1000 Faculty Rev-69. DOI: 10.12688/f1000research.20510.1

5. Pyatchenkov MO, Vlasov AA, Shcherbakov EV, et al. Features of assessing the permeability of the intestinal barrier in chronic kidney disease. *Experimental and Clinical Gastroenterology.* 2022;(11):46–59. DOI: 10.31146/1682-8658-ecg-207-11-46-59

6. Fasano A. Regulation of intercellular tight junctions by zonula occludens toxin and its eukaryotic analogue zonulin. *Ann NY Acad Sci.* 2000;915:214–222. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2000.tb05244.x

7. Markov A, Aschenbach J, Amasheh S. The epithelial barrier and beyond: claudins as amplifiers of physiological organ functions. *IUBMB Life.* 2017;69(5):290–296. DOI: 10.1002/iub.1622

8. Fasano A. Zonulin and its regulation of intestinal barrier function: the biological door to inflammation, autoimmunity, and cancer. *Physiol Rev.* 2011;91(1):151–175. DOI: 10.1152/physrev.00003.2008

9. Yu J, Shen Y, Zhou N. Advances in the role and mechanism of zonulin pathway in kidney diseases. *Int Urol Nephrol.* 2021;53(10):2081–2088. DOI: 10.1007/s11255-020-02756-9

10. El Asmar R, Panigrahi P, Bamford P, et al. Host-dependent zonulin secretion causes the impairment of the small intestine barrier function after bacterial exposure. *Gastroenterology.* 2002;123(5):1607–1615. DOI: 10.1053/gast.2002.36578

11. Pyatchenkov MO, Markov AG, Romyantsev AS. Structural and functional disorders of the intestinal barrier and chronic kidney disease. Literature review. Part I. *Nephrology.* 2022;26(1):10–26. DOI: 10.36485/1561-6274-2022-26-1-10-26

12. Pyatchenkov MO, Romyantsev AS, Shcherbakov EV, Markov AG. Structural and functional disorders of the intestinal barrier and chronic kidney disease. Literature review. Part II. *Nephrology.* 2022;26(2):46–64. DOI: 10.36485/1561-6274-2022-26-2-46-64

13. 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

26. Scheffler L, Crane A, Heyne H, et al. Widely Used Commercial ELISA Does Not Detect Precursor of Haptoglobin2, but Recognizes Properdin as a Potential Second Member of the Zonulin Family // *Front. Endocrinol (Lausanne).* 2018. Vol. 9. P. 22. DOI: 10.3389/fendo.2018.00022

27. Vojdani A., Vojdani E., Kharrazian D. Fluctuation of zonulin levels in blood vs stability of antibodies // *World J. Gastroenterol.* 2017. Vol. 23, No. 31. P. 5669–5679. DOI: 10.3748/wjg.v23.i31.5669

14. 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

15. 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

16. 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

17. 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

18. 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

19. 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;46(8):2644–2646. DOI: 10.1016/j.transproceed.2014.09.018

20. Al-Obaide MAI, 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

21. Pereira NBF, Ramos CI, de Andrade LS, et al. Influence of bowel habits on gut-derived toxins in peritoneal dialysis patients. *J Nephrol.* 2020;33(5):1049–1057. DOI: 10.1007/s40620-020-00819-9

22. Li Q, Yuan X, Shi S, et al. Zonulin, as a marker of intestinal permeability, is elevated in IgA nephropathy and IgA vasculitis with nephritis. *Clin Kidney J.* 2022;16(1):184–191. DOI: 10.1093/ckj/sfac214

23. 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

24. 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

25. Madhusudhan T, Wang H, Straub BK, et al. Cytoprotective signaling by activated protein C requires protease-activated receptor-3 in podocytes. *Blood.* 2012;119(3):874–883. DOI: 10.1182/blood-2011-07-365973

26. Scheffler L, Crane A, Heyne H, et al. Widely Used Commercial ELISA Does Not Detect Precursor of Haptoglobin2, but Recognizes Properdin as a Potential Second Member of the Zonulin Family. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018;9:22. DOI: 10.3389/fendo.2018.00022

27. Vojdani A, Vojdani E, Kharrazian D. Fluctuation of zonulin levels in blood vs stability of antibodies. *World J Gastroenterol.* 2017;23(31):5669–5679. DOI: 10.3748/wjg.v23.i31.5669

ОБ АВТОРАХ

Михаил Олегович Пятченков, канд. мед. наук;
ORCID: 0000-0002-5893-3191; eLibrary SPIN: 5572-8891;
e-mail: pyatchenkovMD@yandex.ru

Евгений Вячеславович Щербakov, нефролог клиники
нефрологии и эфферентной терапии;
ORCID: 0000-0002-3045-1721; eLibrary SPIN: 6337-6039;
e-mail: evgenvmeda@mail.ru

Александра Евгеньевна Трандина, врач клинической ла-
бораторной диагностики научно-исследовательского центра;
eLibrary SPIN: 6089-3495; Author ID: 1089010;
e-mail: sasha-trandina@rambler.ru

Александра Сергеевна Бунтовская, врач клинической
лабораторной диагностики научно-исследовательского центра;
eLibrary SPIN: 5092-1833; Author ID: 887917;
e-mail: buntovskayaa@mail.ru

***Руслан Иванович Глушаков**, докт. мед. наук;
адрес: Россия, 194044, г. Санкт-Петербург,
ул. Академика Лебедева, д. 6
ORCID: 0000-0002-0161-5977; eLibrary SPIN: 6860-8990;
Author ID: 621995; e-mail: glushakoffruslan@yandex.ru

* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author

AUTHORS' INFO

Mikhail O. Pyatchenkov, M. D., Ph. D. (Medicine);
ORCID: 0000-0002-5893-3191; eLibrary SPIN: 5572-8891;
e-mail: pyatchenkovMD@yandex.ru

Evgeniy V. Shcherbakov, nephrologist at the Clinic
of Nephrology and Efferent Therapy;
ORCID: 0000-0002-3045-1721; eLibrary SPIN: 6337-6039;
e-mail: evgenvmeda@mail.ru

Aleksandra E. Trandina, M.D., doctor of clinical
laboratory diagnostics of Research Center;
eLibrary SPIN: 6089-3495; Author ID: 1089010;
e-mail: sasha-trandina@rambler.ru

Aleksandra S. Buntovskaia, M.D., doctor of clinical
laboratory diagnostics of Research Center;
eLibrary SPIN: 5092-1833; Author ID: 887917;
e-mail: buntovskayaa@mail.ru

***Ruslan I. Glushakov**, M.D., D.Sc. (Medicine);
address: 6, Akademika Lebedeva str.,
Saint Petersburg, 194044, Russia;
ORCID: 0000-0002-0161-5977; eLibrary SPIN: 6860-8990;
Author ID: 621995; e-mail: glushakoffruslan@yandex.ru