

Почечная экспрессия белка α Klotho ассоциирована с гипертрофией миокарда (экспериментальное исследование)

Е. О. Богданова¹, О. Н. Береснева¹, Н. Ю. Семенова³,
М. М. Парастаева¹, Г. Т. Иванова⁴, О. В. Галкина¹,
И. М. Зубина¹, И. Г. Каюков¹, Т. Л. Коваленко²,
Л. В. Котенко², В. А. Добронравов¹

¹ Научно-исследовательский институт нефрологии Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Центр лабораторной диагностики Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

³ Лаборатория по изучению лейкозов Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии, Санкт-Петербург, Россия

⁴ Институт физиологии имени И. П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Богданова Евдокия Олеговна,
НИИ нефрологии, ГБОУ ВПО СПбГМУ
им. И. П. Павлова Минздрава России,
ул. Л. Толстого, д. 17, Санкт-Петербург,
Россия, 197101.
Тел.: +7(812)234-66-56.
Факс: +7(812)234-95-63.
E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com

Статья поступила в редакцию 16.10.14
и принята к печати 30.10.14.

Резюме

Цель исследования. Целью выполненного исследования была экспериментальная проверка гипотезы о наличии возможной связи между изменениями в системе фактор роста фибробластов 23 (FGF23)/ α Klotho и прогрессированием гипертрофии миокарда на ранних стадиях формирования дисфункции почек (ДП). **Материалы и методы.** Для моделирования ДП выполняли резекцию 3/4 и 5/6 почечной ткани у крыс линии SHR, сроки эксперимента — 1 и 2 месяца. В качестве контроля использовали ложнооперированных животных. Анализировали индекс массы миокарда (ИММ), содержание белка α Klotho в тубулярном эпителии (иммуногистохимическим методом), концентрации FGF23, интактного паратиреоидного гормона (iPTH) в сыворотке крови (иммуноферментный анализ), а также неорганического фосфата (Pi), натрия, креатинина в сыворотке крови и моче, концентрации белка в моче. **Результаты.** Реализованные модели соответствуют клиническим стадиям 1–3 хронической болезни почек. Почечная экскреция Pi увеличивается в группах животных, подвергнутых нефрэктомии. По мере нарастания степени повреждения почек и увеличения ИММ существенных изменений концентраций FGF23 и iPTH в сыворотке крови не выявлено, в то время как содержание белка α Klotho в почке значительно снижалось. При мультивариантном анализе показана значимая обратная связь между ИММ и содержанием α Klotho в почке, независимая от влияния других исследуемых факторов, включая уровень артериального давления и степень снижения функции почек. **Выводы.** Содержание белка α Klotho в тубулярном эпителии почки ассоциировано с ИММ, что

позволяет предположить участие α Klotho в механизмах ремоделирования миокарда в условиях персистенции артериальной гипертензии и ДП.

Ключевые слова: дисфункция почек, артериальная гипертензия, индекс массы миокарда, α Klotho, фактор роста фибробластов 23.

Для цитирования: Богданова Е.О., Семенова Н.Ю., Береснева О.Н. и др. Почечная экспрессия белка α Klotho ассоциирована с гипертрофией миокарда (экспериментальное исследование). Артериальная гипертензия. 2014;20(6): 522–530.

Renal α Klotho expression is associated with myocardial hypertrophy (experimental study)

E. O. Bogdanova¹, N.Yu. Semenova³, O. N. Beresneva¹,
M. M. Parastaeva¹, G. T. Ivanova⁴, O. V. Galkina¹,
I. M. Zubina¹, I. G. Kayukov¹, T. L. Kovalenko²,
L. V. Kotenko², V. A. Dobronravov¹

¹ Research Institute of Nephrology at First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St Petersburg, Russia

² Center of Laboratory Diagnostics of First Pavlov State Medical University of St. Petersburg, St Petersburg, Russia

³ Russian Research Institute of Hematology and Transfusiology, St Petersburg, Russia

⁴ Pavlov Institute of Physiology of Russian Academy of Sciences, St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Evdokiya O. Bogdanova,
Research Institute of Nephrology, First Pavlov
State Medical University of St. Petersburg,
17 L. Tolstoy street, St Petersburg, 197101
Russia
Phone: +7(812)234–66–56.
Fax: + 7(812)234–95–63.
E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com

Received 16 October 2014; accepted
30 October 2014.

Abstract

Objective. The study was aimed to test a hypothesis on possible connection between α Klotho and (or) fibroblast growth factor 23 (FGF23) and myocardial hypertrophy at early stages of the renal dysfunction (RD).

Design and methods. Experimental models of chronic kidney injury were 3/4 or 5/6 nephrectomy (NE) in SHR rats. Sham-operated SHR rats were used as control. The timing of experiments was one or two months to achieve an expected fall of glomerular filtration rate (GFR) corresponding to early stages of RD. α Klotho protein in tubular epithelium was detected by immunohistochemistry. Serum concentrations of FGF23 and intact parathyroid hormone (iPTH), serum and urine levels of inorganic phosphate (Pi), Na, creatinine and protein as well as myocardial mass index (MMI) were measured. **Results.** Implemented models of RD corresponded to 1C–3C stages of human chronic kidney disease. Renal excretion of Pi significantly increased in the groups of nephrectomized animals. No significant differences were observed in serum concentrations of FGF23 and iPTH whereas the renal α Klotho expression decreases along with an increasing degree of kidney injury and MMI. The significant negative association between MMI and the renal α Klotho expression was independent of other potential confounders as confirmed by a multivariate regression analysis. **Conclusions.** The obtained experimental data suggest that α Klotho can participate in mechanisms of myocardial remodeling in persistent hypertension and RD.

Key words: renal dysfunction, arterial hypertension, myocardial mass index, α Klotho, fibroblast growth factor 23.

For citation: Bogdanova EO, Semenova NYu, Beresneva ON et al. Renal α Klotho expression is associated with myocardial hypertrophy in spontaneously hypertensive rats (experimental study). Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2014;20(6):522–530.

Введение

Пациенты с хронической болезнью почек (ХБП) подвержены высокому риску развития сердечно-сосудистых заболеваний, являющихся преобладающей причиной смерти на терминальной стадии ХБП [1–4]. Формирование дисбаланса неорганического фосфата (Pi) является характерной чертой метаболических нарушений при прогрессировании дисфункции почек (ДП). В экспериментальных и клинических исследованиях последнего десятилетия описана связь комплекса факторов, отражающих нарушения метаболизма Pi, с сердечно-сосудистыми рисками: кальцификацией аорты, коронарных артерий и периферических сосудов, гипертрофией левого желудочка и смертностью у пациентов с ХБП [4–10]. В течение последней декады представления об эндокринной регуляции обмена Pi и ее нарушениях при ХБП существенно расширились, благодаря открытию фосфотонической системы, включающей фактор роста фибробластов 23 (FGF23) и его корецептор — белок α Klotho [11, 12]. Считается, что реакция системы FGF23/ α Klotho в ответ на ретенцию Pi при снижении клубочковой фильтрации предшествует изменениям «классических» фосфатрегулирующих факторов — кальцитриола и паратиреоидного гормона (PTH) [13, 14]. Ряд данных также свидетельствует о связи увеличения уровня FGF23 в плазме крови с сердечно-сосудистыми осложнениями у лиц с ХБП [15, 16] и в популяции [17, 18]. Вместе с тем α Klotho может обладать независимыми от FGF23 эффектами в отношении сердечно-сосудистой системы [7, 19–21]. В основном цитируемые исследования выполнены на экспериментальном и клиническом материале с выраженной ДП, в то время как почечные и системные изменения обмена Pi и его регуляции возникают уже на ранних стадиях хронического повреждения почек.

Целью выполненного исследования была экспериментальная проверка гипотезы о наличии возможной связи между изменениями в системе FGF23/ α Klotho и прогрессированием гипертрофии миокарда (ГМ) на ранних стадиях формирования ДП.

Материалы и методы

Экспериментальное моделирование

Исследование выполнено на взрослых самцах крыс линии SHR (питомник «Колтуши» РАН) массой тела 190–230 граммов. Животных содержали в стандартных условиях вивария Института физиологии имени И.П. Павлова Российской академии наук. Для создания экспериментальной ДП приме-

няли модели нефрэктомии (NE) 3/4 [22] или 5/6 [23, 24] от объема органа. Длительность эксперимента составляла 1 и 2 месяца (табл. 1).

Таблица 1

МОДЕЛИ ХРОНИЧЕСКОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК И СРОКИ ЭКСПЕРИМЕНТА

Показатель	Сроки эксперимента, условное обозначение группы, n	
	1 месяц	2 месяца
Описание модели	1 месяц	2 месяца
Контроль	К (1), 9	К (2), 9
Нефрэктомия 3/4	3/4NE (1), 9	3/4NE (2), 10
Нефрэктомия 5/6	5/6NE (1), 9	5/6NE (2), 8

В ходе эксперимента животных содержали на стандартном лабораторном пищевом рационе с содержанием фосфатов 0,8% и свободном доступе к воде. Перед завершением эксперимента животных помещали на 24 часа в метаболические камеры и собирали суточную мочу, а также измеряли артериальное давление (АД) с помощью описанной ранее методики [26]. В момент выведения животных из эксперимента определяли индекс массы миокарда (ИММ) как соотношение массы органа к массе животного (мг/г), забирали образцы почки и крови для последующего исследования [25]. Кровь центрифугировали при 1000 g в течение 30 минут, аликвоты сыворотки и мочи хранили при температуре -80°C до момента проведения исследования. Эксперименты проводили в соответствии с требованиями по работе с лабораторными животными, после одобрения Локальным Этическим комитетом учреждения.

Гистологические исследования

Для светоптической микроскопии паренхиму (1–2 мм) из срединной части левой почки фиксировали в 5-процентном формалине, приготовленном на PBS (pH 7,2), при комнатной температуре в течение 16 часов. Срезы толщиной не более 5 мкм помещали на стекло с полилизинным покрытием, депарафинировали, гидратировали и производили демаскировку антигена согласно стандартной методике. Эндогенную пероксидазную активность ликвидировали инкубацией в течение 6 минут в растворе, блокирующем пероксидазу (Spring Bioscience, США). Первичные поликлональные антитела кролика против белка α Klotho (Abcam, Великобритания) использовали для иммуногистохимической реакции в разведении 1: 250. Визуализацию результатов проводили при помощи системы «REVEAL-Biotin-Free Polyvalent DAB» (Spring Bioscience, США). Для проведения морфометрического анализа применяли программное обеспе-

чение «ВидеоТест-Морфология 5.2». Оценивали среднюю долю площади специфического продукта иммуногистохимической реакции от общей площади тубулоинтерстиция по 10 полям зрения.

Иммуноферментный анализ и биохимические исследования

Измерение концентрации FGF23 в сыворотке крови проводили при помощи тест-системы «FGF23 ELISA Kit» (Kainos Laboratories, Inc., Япония). Концентрацию интактного РТН (iPTH) в крови измеряли при помощи тест-системы «Rat Intact PTH ELISA Kit» (Immutopics, Inc., США). Измерение оптической плотности проводили на полуавтоматическом микропланшетном анализаторе «ImmunoChem 2100» (High Technology, США). Концентрации P_i , натрия (Na), креатинина в сыворотке крови и моче, концентрацию белка в моче определяли с помощью стандартных методик на автоматическом анализаторе «SYNCHRON CX DELTA» (Beckman-Coulter, США). Фракционную экскрецию P_i (FEPi) и Na (FENa) рассчитывали по формуле: $FE (\%) = (U_x \times SCr) / (S_x \times UCr) \times 100$, где U_x — концентрация P_i /Na в моче, S_x — концентрация P_i /Na в сыворотке, UCr — концентрация креатинина в моче, SCr — концентрация креатинина в сыворотке. Также определяли 24-часовую экскрецию P_i с мочой (UPi_{24} (ммоль) = $UPi \times D$, где UPi — концентрация фосфора в моче, D — диурез за 24 часа). Суточную экскрецию белка с мочой оценивали по отношению белок мочи/креатинин мочи (PCR).

Статистический анализ

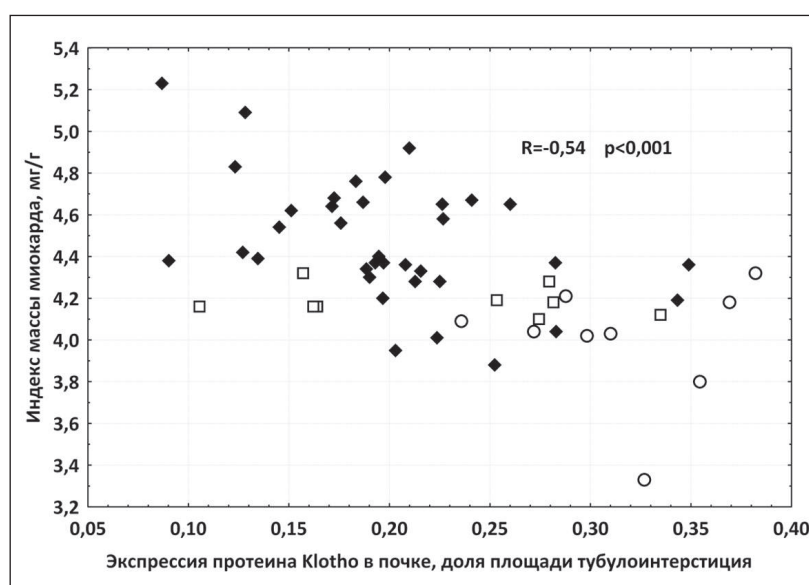
Данные представлены в виде среднего и стандартного отклонения ($\pm$ SD) или медианы и интерквартильного размаха. Сравнение средних значений в двух выборках при помощи двухстороннего t-критерия или критерия Манна-Уитни. Для исследования связей между α Klotho и ИММ применяли корреляционный анализ Спирмена и множественный линейный регрессионный анализ. В последнем в качестве зависимой переменной принимали показатель ИММ; содержание α Klotho в почке и другие ковариаты были включены в различные модели как независимые переменные. Критический уровень значимости для всех статистических тестов принимали равным 0,05.

Результаты

По мере увеличения тяжести хронического повреждения почек в экспериментальных условиях относительный прирост креатинина в опытных группах по сравнению с контрольными составлял от 30 до 60%. Таким образом, реализованные модели приблизительно соответствовали клиническим стадиям 1–3 ХБП [27].

Моделирование дисфункции почек привело к закономерным изменениям: увеличению экскреции белка с мочой и FENa. P_i сыворотки крови в экспериментальных группах животных, подвергнутых нефрэктомии по сравнению с контрольными группами при сроках эксперимента 1 и 2 месяца снижался вместе со значительным увеличением

Рисунок. Взаимосвязь между индексом массы миокарда и содержанием белка α Klotho в почке при прогрессировании хронической болезни почек у крыс SHR



Примечание: Указан коэффициент корреляции для объединенной группы экспериментальных животных ($n = 54$); белые круги — контрольная группа К (1); белые квадраты — контрольная группа К (2); черные ромбы — объединенная группа крыс, подвергнутых нефрэктомии (NE), 3/4NE (1) + 5/6NE (1) + 3/4NE (2) + 5/6NE (2).

FERi и UPi_{24} (табл. 2, 3). При разных сроках эксперимента отмечена закономерная тенденция к росту АД и существенное увеличение ИММ в группах нефрэктомизированных животных по сравнению с контрольными. При сравнении групп животных с одинаковыми сроками экспериментального воздействия концентрации исследуемых фосфотонических факторов (iPTH и FGF23) значимо не отличались. Вместе с тем содержание белка $\alpha Klotho$ в почке отчетливо снижалось по мере нарастания степени повреждения почек и увеличения ИММ (табл. 2, 3).

При анализе объединенной группы экспериментальных животных была выявлена значимая обратная корреляция между ИММ и содержанием $\alpha Klotho$ в тубулярном эпителии почки (рис.).

При множественном регрессионном моделировании содержание $\alpha Klotho$ в почке сохраняло значимую связь с ИММ, несмотря на включение в модели в качестве независимых переменных других факторов, потенциально способных влиять на развитие ГМ, включая уровень АД и SCr (табл. 4).

Обсуждение

В настоящем исследовании воздействие классического механизма развития ГМ — высоких зна-

чений АД у крыс линии SHR [28] было дополнено экспериментальным моделированием хронической ДП. Известно, что при ХБП распространенность гипертрофии левого желудочка (ГЛЖ) существенно возрастает по сравнению с таковой в общей популяции [15], в основном, вследствие гемодинамических факторов: артериальной гипертензии [29], анемии [30], задержки жидкости [31]. С учетом многочисленных системных метаболических и эндокринных изменений, развивающихся по мере прогрессирования ХБП, можно предполагать существование дополнительных механизмов, связанных с развитием ГМ. В частности, это касается системных нарушений фосфатного метаболизма в виде ретенции P_i за счет нарушения его выделения почками и фосфотонической дисрегуляции. Последняя проявляется повышением образования FGF23 и PTH, почечным и экстрапочечным дефицитом $\alpha Klotho$ [7, 10, 19, 32, 33].

В данном исследовании показано, что при моделировании ранних стадий хронического повреждения почек количество белка $\alpha Klotho$ почечного происхождения отчетливо связано с увеличением ИММ. Можно было бы предполагать, что связь ИММ и $\alpha Klotho$ отражает лишь коллинеарность признаков, поскольку оба показателя зависят от степени выраженности ДП. Однако при множествен-

Таблица 2

СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ ПРИ СРОКЕ ЭКСПЕРИМЕНТА ОДИН МЕСЯЦ

Измеряемый параметр, единицы	Контроль, К (1)	NE 3/4 (1)	NE 5/6 (1)	P_{1-2}	P_{2-3}	P_{1-3}
	1	2	3			
Масса тела, г	317 ± 24	285 ± 19	289 ± 8	0,007	0,56	0,005
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	196 ± 9	197 ± 9	205 ± 9	0,80	0,072	0,039
PCR, г/100 г массы тела	$0,165 \pm 0,019$	$0,134 \pm 0,048$	$0,243 \pm 0,055$	0,090	< 0,001	0,001
SCr, ммоль/100 г массы тела	$0,011 \pm 0,003$	$0,019 \pm 0,002$	$0,025 \pm 0,004$	< 0,001	< 0,001	< 0,001
ИММ, мг/г	$4,00 \pm 0,29$	$4,29 \pm 0,21$	$4,61 \pm 0,33$	0,028	0,028	0,001
Содержание $\alpha Klotho$ в почке, доля площади тубулоинтерстиция	$0,32 \pm 0,05$	$0,24 \pm 0,07$	$0,20 \pm 0,05$	0,018	0,129	< 0,001
FGF23, пг/мл	548 ± 241	650 ± 475	782 ± 299	0,58	0,49	0,087
iPTH, пг/мл	87 (74; 126)	87 (64; 109)	148 (136; 165)	0,79	0,11	0,094
FENa, %	$0,69 \pm 0,32$	$0,67 \pm 0,18$	$1,11 \pm 0,23$	0,85	< 0,001	0,006
SPi, ммоль/л	$2,54 \pm 0,13$	$2,43 \pm 0,15$	$2,27 \pm 0,13$	0,13	0,031	< 0,001
FERi, %	17 ± 8	23 ± 5	38 ± 8	0,080	< 0,001	< 0,001
UPi_{24} , ммоль	$0,61 \pm 0,25$	$0,89 \pm 0,16$	$0,94 \pm 0,19$	0,016	0,41	0,006

Примечание: PCR — суточная экскреция белка с мочой; SCr — креатинин сыворотки крови; ИММ — индекс массы миокарда; FGF23 — фактор роста фибробластов 23; iPTH — интактный паратиреоидный гормон; FENa — фракционная экскреция Na; SPi — неорганический фосфат сыворотки крови; FERi — фракционная экскреция неорганического фосфата; UPi_{24} — суточная экскреция неорганического фосфата с мочой.

Таблица 3

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ИССЛЕДУЕМЫХ ПОКАЗАТЕЛЕЙ В ГРУППАХ ЖИВОТНЫХ
ПРИ СРОКЕ ЭКСПЕРИМЕНТА ДВА МЕСЯЦА**

Показатели, единицы измерения	Контроль, К (2)	NE 3/4 (2)	NE 5/6 (2)	P ₁₋₂	P ₂₋₃	P ₁₋₃
	1	2	3			
Масса тела, г	320 ± 17	297 ± 21	328 ± 19	0,018	0,006	0,42
Систолическое артериальное давление, мм рт. ст.	190 ± 10	204 ± 17	210 ± 10	0,043	0,39	0,001
PCR, г/100 г массы тела	0,136 ± 0,028	0,461 ± 0,160	0,604 ± 0,199	< 0,001	0,11	< 0,001
SCr, ммоль/100 г массы тела	0,011 ± 0,001	0,020 ± 0,004	0,021 ± 0,002	< 0,001	0,86	< 0,001
ИММ, мг/г	4,19 ± 0,07	4,41 ± 0,29	4,61 ± 0,25	0,044	0,13	< 0,001
Содержание αKlotho в почке, доля площади тубулоинтерстиция	0,22 ± 0,08	0,21 ± 0,03	0,13 ± 0,02	0,71	< 0,001	0,007
FGF23, пг/мл	543 ± 170	723 ± 211	1013 ± 720	0,058	0,24	0,076
iPTH, пг/мл	37 (22; 105)	80 (13; 140)	95 (80; 123)	0,60	0,36	0,11
FENa, %	0,24 ± 0,07	0,57 ± 0,22	0,55 ± 0,10	< 0,001	0,83	< 0,001
SPi, ммоль/л	2,64 ± 0,36	2,24 ± 0,20	2,14 ± 0,23	0,011	0,07	< 0,001
FEPi, %	11 ± 2	27 ± 8	35 ± 5	< 0,001	0,017	< 0,001
UPi ₂₄ , ммоль	0,49 ± 0,20	0,98 ± 0,13	1,04 ± 0,11	< 0,001	0,32	< 0,001

Примечание: PCR — суточная экскреция белка с мочой; SCr — креатинин сыворотки крови; ИММ — индекс массы миокарда; FGF23 — фактор роста фибробластов 23; iPTH — интактный паратиреоидный гормон; FENa — фракционная экскреция Na; SPi — неорганический фосфат сыворотки крови; FEPi — фракционная экскреция неорганического фосфата; UPi₂₄ — суточная экскреция неорганического фосфата с мочой.

Таблица 4

**РЕЗУЛЬТАТЫ МУЛЬТИВАРИАНТНОГО РЕГРЕССИОННОГО АНАЛИЗА СВЯЗИ
СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА αKLOTHO В ПОЧКЕ И ИНДЕКСЕ МАССЫ ТЕЛА**

Ковариаты	модель 1 ^а	модель 2 ^б	модель 3 ^в	модель 4 ^г	модель 5 ^д	модель 6 ^е
Независимый член	4,50 ± 0,80 ($< 0,001$)	4,51 ± 0,75 ($< 0,001$)	4,55 ± 0,71 ($< 0,001$)	4,40 ± 0,70 ($< 0,001$)	4,34 ± 1,08 ($< 0,001$)	4,45 ± 0,84 ($< 0,001$)
Содержание αKlotho в почке	-1,97 ± 0,75 (0,012)	-1,54 ± 0,62 (0,018)	-2,43 ± 0,85 (0,012)	-1,52 ± 0,63 (0,019)	-1,99 ± 0,76 (0,013)	-1,94 ± 0,78 (0,017)

Примечание: Указаны регрессионные коэффициенты B ± SD, в скобках даны значения p для коэффициента; ^а — независимые переменные в модели 1: содержание αKlotho в почке, SCr, АД, PCR; ^б — независимые переменные в модели 1 + FEPi; ^в — независимые переменные в модели 1 + FENa; ^г — независимые переменные в модели 1 + UPi₂₄; ^д — независимые переменные в модели 1 + SPi; ^е — независимые переменные в модели 1 + FGF23 + iPTH; SCr — креатинин в сыворотке крови.

ном регрессионном моделировании эта ассоциация, оставаясь устойчивой, не зависела в том числе от классических факторов развития ГМ — АД и степени выраженности ДП. Не ставя под сомнение действие последних, мы предположили, что снижение образования αKlotho в результате ДП может быть отдельным механизмом, который приводит к дополнительной акселерации ГЛЖ, предсуществующей на фоне хронической артериальной гипертензии у крыс SHR.

Ряд экспериментальных и клинических данных указывает на связь между другими факторами, отражающими нарушения фосфатного обмена,

и ГЛЖ — гиперфосфатемией [34], PTH [34–36] и FGF23 [6, 10, 18, 37]. В то же время в данном исследовании направленность эксперимента на моделирование ранних стадий ДП позволила минимизировать потенциальные влияния этих факторов на миокард. Воздействие гиперфосфатемии было исключено, поскольку у экспериментальных животных с более высокими значениями ИММ концентрация Pi в сыворотке крови, напротив, значительно снижалась при прогрессировании ДП за счет увеличения абсолютной и относительной мочевого экскреции Pi. В группах, подвергнутых нефрэктомии, не было отмечено повышения кон-

центраций FGF23 и iPTH, свойственного развернутым стадиям ХБП, соответствующим скорости клубочковой фильтрации менее 40 мл/мин у людей. Еще одним существенным фактором в развитии дисбаланса P_i и сердечно-сосудистых изменений при ДП является кальцитриол [5, 38], отсутствие данных о циркулирующем уровне которого можно отнести к ограничениям данного исследования. Вместе с тем снижение образования активной формы D-гормона является одним из результатов регулирующего влияния FGF23 на почку [39]. Следовательно, возможные существенные последствия этого механизма обратной регуляции в отношении прогрессирования ГМ должны частично входить в спектр биологического действия FGF23.

Вероятные механизмы влияния α Klotho на миокард можно подразделить на опосредованные ремоделированием стенки артерий и прямые. Известно, что дефицит белка α Klotho связан с дисфункцией сосудов [40] и кальцификацией артериальной стенки [7, 34, 36]. В этом процессе α Klotho выполняет роль ингибитора кальцификации, как показано в экспериментах на нокаутных и трансгенных животных [19]. Кальцификация и увеличение ригидности артериальной стенки является известным фактором изменений пульсового АД и ГЛЖ [41]. Вместе с тем этот механизм развития ГЛЖ реализуется при длительном персистировании ДП (например, у больных на диализе), но является маловероятным в данных экспериментальных сериях с учетом коротких сроков экспозиции экспериментальной ДП.

К настоящему времени не представлено убедительных данных о синтезе α Klotho в кардиомиоцитах (КМЦ), поэтому открытым остается вопрос о том, каким образом эта молекула может действовать на миокард. Известно, что почка является основным источником циркулирующего α Klotho, который в результате «сбрасывания» с поверхности клетки или секреции может попадать в циркуляцию и оказывать самостоятельные эффекты в экстра-ренальных клеточных популяциях [42–44]. Выявленная связь между почечным α Klotho и ИММ косвенно свидетельствует в пользу существенного значения циркулирующей формы протеина, хотя теоретически нельзя исключить и возможность паракринных эффектов α Klotho, образующегося в гладкомышечных клетках стенки сосудов.

Данные о возможном прямом воздействии α Klotho на КМЦ и участии в процессах ремоделирования миокарда ограничены двумя публикациями [20, 21]. В одной высказано предположение, что действие α Klotho, приводящее к торможению ГЛЖ, реализуется через снижение количества потенциал-зависимых катионных каналов TRPC6 (transient

receptor potential channel 6) КМЦ. Внутриклеточный транспорт кальция, являющегося вторичным мессенджером в сигнальном пути кальциневрина, через ионные каналы TRPC6, по-видимому, играет существенную роль в развитии ГМ. Гиперэкспрессия гена *Trpc6* приводит к спонтанной ГМ у мышей, а гиперэкспрессия гена *KL* (кодирует α Klotho) блокирует этот эффект. В то же время делеция гена *Trpc6* предотвращает рост массы миокарда у мышей с дефицитом белка α Klotho. При этом глюкозидазная активность α Klotho, позволяющая модифицировать углеводный компонент ионных каналов, не задействована в регуляции TRPC6 [20], вероятным механизмом в данном случае является ингибирование IGF1 (Insulin-like growth factor I) и PI3K (Phosphatidylinositol-4,5-bisphosphate 3-kinase)-зависимого экзоцитоза TRPC6 в КМ [20], благодаря этому же механизму циркулирующий α Klotho способен независимо от FGF23 уменьшать последствия оксидативного стресса. Также α Klotho способен препятствовать апоптозу КМ, усиливая фосфорилирование проапоптотических факторов JNK (c-Jun NH2-terminal kinase), p38 [21].

Таким образом, в представленном экспериментальном исследовании между содержанием белка α Klotho в тубулярном эпителии почки и ИММ выявлена отчетливая ассоциация, что позволяет предполагать участие α Klotho в механизмах ремоделирования сердечной мышцы в условиях персистирования артериальной гипертензии и ДП.

Благодарности. Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (проект № 13–04–01886) и Государственного бюджетного образовательного учреждения высшего профессионального образования «Первый Санкт-Петербургский государственный университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации — грант для молодых ученых в области фундаментальных исследований.

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Foley RN, Parfrey PS, Samak MJ et al. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis.* 1998;32(5):112–9.
2. Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ et al. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med.* 1998;339(12):799–805.

3. Go AS, Chertow GM, Fan D et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351(13):1296–370.
4. London GM, Alain PG, Sylvain JM. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant*. 2003;18:1731–40.
5. Смирнов А.В., Волков М.М., Добронравов В.А., Рафрафи Х. Фосфорно-кальциевый обмен и состояние сердечно-сосудистой системы у пациентов с ранними стадиями хронической болезни почек. *Терапевт. арх.* 2010;82(6):25–8. [Smirnov AV, Volkov MM, Dobronravov VA, Rafrafi H. Phosphorus and calcium metabolism and the cardiovascular system status in patients with early-stage chronic renal disease. *Ter Arkh*. 2010;82(6):25–8. In Russian].
6. Isakova T, Xie H, Yang W et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *J Am Med Assoc*. 2011;305(23):2432–9.
7. Lim K, Lu TS, Molostvov G et al. Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation*. 2012;125(18):2243–55.
8. Fang Y, Ginsberg C, Sugatani T et al. Early chronic kidney disease-mineral bone disorder stimulates vascular calcification. *Kidney Int*. 2014;85(1):142–50.
9. Patange AR, Valentini RP, Gothe MP et al. Vitamin D deficiency is associated with increased left ventricular mass and diastolic dysfunction in children with chronic kidney disease. *Pediatr Cardiol*. 2013;34(3):536–42.
10. Rika J, Tatsuo S. Cardiovascular risk factors and chronic kidney disease-FGF23: a key molecule in the cardiovascular disease. *Int J Hypertens*. 2014;2014:381–2.
11. Добронравов В.А. Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho. *Нефрология*. 2011;15(4):11–20. [Dobronravov VA. Modern view on the pathophysiology of the secondary hyperparathyroidism: the role of the fibroblast growth factor and Klotho. *Nefrologiya*. 2011;15(4):11–20. In Russian].
12. Добронравов В.А., Богданова Е.О. Патогенез нарушений обмена фосфатов при хронической болезни почек: всё ли так ясно, как кажется? *Нефрология*. 2014;18(2):42–6. [Dobronravov VA, Bogdanova EO. Pathogenesis of the phosphorus metabolism disorders in chronic kidney disease: is it as clear as it seem to be? *Nefrologiya*. 2014;18(2):42–6. In Russian].
13. Moe SM, Chen NX, Seifert MF et al. A rat model of chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD) and the effect of dietary protein source. *Kidney Int*. 2009;75(2):176–84.
14. Isakova T, Wahl P, Vargas GS et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370–78.
15. Levin A, Singer J, Thompson CR, Ross H, Lewis M. Prevalent left ventricular hypertrophy in the predialysis population: identifying opportunities for intervention. *Am J Kidney Dis*. 1996;27(3):347–354.
16. Kirkpantur A, Balci M, Gurbuz OA et al. Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant*. 2011;26(4):1346–54.
17. Shibata K, Fujita S, Morita H et al. Association between circulating fibroblast growth factor 23, a-Klotho, and the left ventricular ejection fraction and left ventricular mass in cardiology inpatients. *PLoS ONE*. 2013;8(9): e73184.
18. Agarwal I, Ide N, Ix JH et al. Fibroblast growth factor-23 and cardiac structure and function. *J Am Heart Assoc*. 2014;3(1): e000584.
19. Hu MC, Shi M, Zhang J. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(1):124–36.
20. Xie J, Cha SK, An SW, Kuro-O M, Birnbaumer L, Huang CL. Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nat Commun*. 2012;3:1238–1240.
21. Song S, Gao P, Xiao H et al. Klotho suppresses cardiomyocyte apoptosis in mice with stress-induced cardiac injury via downregulation of endoplasmic reticulum stress. *PLoS One*. 2013;8(12): e82968.
22. Takahashi S, Okada K, Nagura Y et al. Three-quarters nephrectomy in rats as a model of early renal failure. *Jpn J Nephrol*. 1991;33(1):27–31.
23. Береснева О.Н., Парастаева М.М., Иванова Г.Т. и др. Оценка кардиопротективного действия малобелковой соевой диеты и уровень неорганических анионов сыворотки крови у спонтанно-гипертензивных крыс с нефрэктомией. *Нефрология*. 2007;11(3):70–6. [Beresneva ON, Parastaeva MM, Ivanova GT et al. The assessment of the cardioprotective effect of the low-protein diet and the level of non-organic serum anions in spontaneously hypertensive rats after nephrectomy. *Nefrologiya*. 2007;11(3):70–6. In Russian].
24. Ormrod D, Miller T. Experimental uremia. Description of a model producing varying degrees of stable uremia. *Nephrol*. 1980;26(5):249–254.
25. Okoshi K, Ribeiro HB, Okoshi MP et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy. *Jpn Heart J*. 2004;45(4):647–56.
26. Иванова Г.Т., Кучер А.Г., Береснева О.Н. и др. Оценка в эксперименте нефропротективного и кардиопротективного эффектов длительного применения малобелковой диеты, включающей кетостерил. *Нефрология*. 2011;15(4):45–50. [Ivanova GT, Kucher AG, Beresneva ON et al. The experimental assessment of the nephron- and cardioprotective effects of long-term low-protein diet including ketosteril. *Nefrologiya*. 2011;15(4):45–50. In Russian].
27. Смирнов А.В., Шилов Е.М., Добронравов В.А. и др. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы скрининга, диагностики, профилактики и подходы к лечению. *Нефрология*. 2012;16(1):89–115. [Smirnov AV, Shilov EM, Dobronravov VA et al. National guidelines. Chronic kidney disease: screening, diagnostics, prevention and treatment principles. *Nefrologiya*. 2012;16(1):89–115. In Russian].
28. Fukui T, Munemura C, Maeta S. The effects of Olmesartan and Alfacalcidol on renoprotection and klotho gene expression in 5/6 nephrectomized spontaneously hypertensive rats. *Yonago Acta Med*. 2011;54(3):49–58.
29. Buckalew VM, Berg RL, Wang SR et al. Prevalence of hypertension in 1,795 subjects with chronic renal disease: the modification of diet in renal disease study baseline cohort. Modification of diet in renal disease study group. *Am J Kidney Dis*. 1996;28(6):811–21.
30. Silberberg JS, Rahal DP, Patton DR, Sniderman AD. Role of anemia in the pathogenesis of left ventricular hypertrophy in end-stage renal disease. *Am J Cardiol*. 1989;64(3):222–4.
31. London GM, Fabiani F. Left ventricular dysfunction in end-stage renal disease: echocardiographic insights. In: *Cardiac dysfunction in chronic uremia*. Eds. P.S. Parfrey, J.D. Harnett. Basel: Kluwer Acad Publ; 1992. P. 117–37.
32. Hasegawa H, Nagano N, Urakawa I et al. Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2010;78(10):975–80.
33. Wolf M. Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2012;82(7):737–47.

34. Hruska K, Mathew S, Lund R, Fang Y, Sugatani T. Cardiovascular risk factors in chronic kidney disease: does phosphate qualify? *Kidney Int Suppl.* 2011;121:S9–13.

35. Horl WH, Riegel W. Cardiac depressant in renal disease. *Circulation.* 1993;87(5 Suppl):77–82.

36. London GM, Guérin AP, Marchais SJ et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant.* 2003;18(9):1731–40.

37. Itoh N, Ohta H. Pathophysiological roles of FGF signaling in the heart. *Front Physiol.* 2013;4:247–9.

38. Волков М. М., Каюков И. Г., Смирнов А. В. Фосфорно-кальциевый обмен и его регуляция. *Нефрология.* 2010;14(1):91–103. [Volkov MM, Kayukov IG, Smirnov AV. Phosphorus and calcium metabolism and its regulation. *Nefrologiya.* 2010;14(1):91–103. In Russian].

39. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;277(2):494–8.

40. Saito Y, Yamagishi T, Nakamura T et al. Klotho protein protects against endothelial dysfunction. *Biochem Biophys Res Commun.* 1998;248(2):324–9.

41. London G. Pathophysiology of cardiovascular damage in the early renal population. *Nephrol Dial Transplant.* 2001;16(2):3–6.

42. Huang CL. Regulation of ion channels by secreted Klotho: mechanisms and implications. *Kidney Int.* 2010;77(10):855–60.

43. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Secreted klotho and chronic kidney disease. *Adv Exp Med Bio.* 2012;728:126–57.

44. Hu MC, Shi M, Zhang J et al. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J.* 2010;24(9):3438–50.

Информация об авторах:

Богданова Евдокия Олеговна — младший научный сотрудник Научно-исследовательского института (НИИ) нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Береснева Ольга Николаевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической физиологии почек НИИ нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Семенова Наталья Юрьевна — младший научный сотрудник лаборатории по изучению лейкозов Российского научно-исследовательского института гематологии и трансфузиологии;

Парастаева Марина Магрезовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической физиологии почек НИИ нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Иванова Галина Тажимовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник Института физиологии имени И. П. Павлова Российской академии наук;

Галкина Ольга Владимировна — доцент, кандидат биологических наук, заведующая лабораторией биохимического гомеостаза организма НИИ нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Зубина Ирина Михайловна — доцент, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимического гомеостаза организма НИИ нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Каюков Иван Глебович — доктор медицинских наук, профессор, заведующий лабораторией клинической физиологии почек НИИ нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Коваленко Татьяна Леонидовна — центр лабораторной диагностики ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Котенко Лариса Васильевна — заведующая биохимической лабораторией отделения лабораторной диагностики ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России;

Добронравов Владимир Александрович — доктор медицинских наук, профессор кафедры пропедевтики внутренних болезней, заместитель по научной работе директора НИИ нефрологии ГБОУ ВПО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России.