

ISSN 1607-419X
ISSN 2411-8524 (Online)
УДК 616.61:616.12

Витамин D и фибропластические процессы в миокарде спонтанно гипертензивных крыс с начальными стадиями хронической дисфункции почек

Е. О. Богданова¹, О. Н. Береснева¹, О. В. Галкина¹,
М. М. Парастаева¹, И. М. Зубина¹, Г. Т. Иванова²,
И. Г. Каюков¹, А. Г. Кучер¹, А. В. Смирнов¹

¹ Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И. П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Санкт-Петербург, Россия

² Институт физиологии имени И. П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Россия

Контактная информация:

Богданова Евдокия Олеговна,
ФГБОУ ВО ПСПбГМУ
им. И. П. Павлова Минздрава России,
ул. Льва Толстого, д. 6/8, Санкт-Петербург, Россия, 197022.
E-mail: biochemlab.spbgmu@gmail.com

Статья поступила в редакцию
18.07.19 и принята к печати 17.02.20.

Резюме

Актуальность. Доказано, что даже незначительное снижение скорости клубочковой фильтрации приводит к увеличению риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) — основной причины гибели пациентов с хронической болезнью почек (ХБП). Важной патофизиологической основой ССЗ при дисфункции почек (ДП) является гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ). Распространенность ГЛЖ у пациентов с ХБП С2–4 по разным данным составляет 50–70 % и достигает 95 % к началу диализа, что значительно превышает число случаев в общей популяции (15–21 %). Известные гемодинамические факторы, ассоциированные с хроническим повреждением почек, — артериальная гипертензия (АГ), активность ренин-ангиотензиновой системы, анемия, задержка жидкости, натрия и прочие — во многом объясняют высокую распространенность ГЛЖ в популяции пациентов с ХБП. Тем не менее, учитывая многочисленные системные метаболические и эндокринные изменения, развивающиеся по мере прогрессирования ХБП, очевидно существование дополнительных негемодинамических механизмов ремоделирования миокарда (РМ). Выполненное исследование посвящено анализу взаимосвязей между физиологическими/гистологическими характеристиками РМ и лабораторными показателями кальций-фосфатного обмена на начальных стадиях экспериментальной ДП. **Материалы и методы.** Исследованы четыре группы крыс линии SHR (спонтанно гипертензивные крысы) ($n = 35$): крысы с нефрэктомией (НЭ) 3/4 и сроком наблюдения 1 месяц (НЭ(1), $n = 9$), НЭ 5/6 и сроком наблюдения 2 месяца (НЭ(2), $n = 8$), ложнооперированные (ЛО) животные со сроками наблюдения 1 (ЛО(1), $n = 9$) и 2 (ЛО(2), $n = 9$) месяца. У всех экспериментальных животных рассчитывали индекс массы миокарда (ИММ), измеряли систолическое артериальное давление (АД), протеинурию, концентрации креатинина (Cr), общего кальция (Ca) и неорганического фосфата (Pi), 25-гидроксивитамина D (25OHD) и паратиреоидного гормона (ПТГ) в сыворотке крови, выполняли светооптическое исследование миокарда. **Результаты.** Модели соответствовали начальным стадиям ХБП. Концентрации общего Ca, Pi и ПТГ в сыворотке крови значительно не изменялись ($p = 0,066$, $p = 0,051$, $p = 0,15$ соответственно), концентрация 25OHD была ниже в группе НЭ(2) по сравнению с контролем ($p = 0,015$). У животных с НЭ наблюдали более высокие значения ИММ ($p = 0,008$). Увеличение толщины кардиомиоцитов (КМЦ) происходило у животных с НЭ при сроках наблюдения

1 ($p = 0,010$) и 2 месяца ($p = 0,002$), интерстициальный (ИФ) и периваскулярный (ПФ) фиброз были более выражены у животных с НЭ и сроком наблюдения 2 месяца ($p = 0,017$, $p = 0,004$ соответственно). Толщина КМЦ, выраженность ИФ и ПФ миокарда увеличивались по мере роста АД ($r = 0,39$, $p = 0,038$; $r = 0,47$, $p = 0,026$; $r = 0,49$, $p = 0,031$), концентрации Сг в сыворотке ($r = 0,68$, $p = 0,001$; $r = 0,61$, $p = 0,003$; $r = 0,69$, $p = 0,001$) и снижения концентрации 25ОНД в сыворотке крови ($r = -0,45$, $p = 0,047$; $r = -0,50$, $p = 0,020$; $r = -0,52$, $p = 0,012$). При множественном линейном регрессионном анализе было показано, что уровень 25ОНД является независимым предиктором фиброза миокарда (ИФ: $\beta = -0,38 \pm 0,18$, $p = 0,047$, ПФ: $\beta = -0,34 \pm 0,15$, $p = 0,032$). **Заключение.** В условиях АГ начальные стадии хронической ДП ассоциированы со снижением 25-гидроксивитамина D, гипертрофией КМЦ и фиброзом миокарда. При этом рост клеточного компонента является более ранним событием по отношению к интерстициальному. Полученные данные косвенно свидетельствуют о связи дефицита витамина D с развитием фибропластического РМ.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, ремоделирование миокарда, артериальная гипертензия, обмен кальция, кальцидиол, паратиреоидный гормон

Для цитирования: Богданова Е. О., Береснева О. Н., Галкина О. В., Парастаева М. М., Зубина И. М., Иванова Г. Т., Каюков И. Г., Кучер А. Г., Смирнов А. В. Витамин D и фибропластические процессы в миокарде спонтанно гипертензивных крыс с начальными стадиями хронической дисфункции почек. Артериальная гипертензия. 2020;26(1):107–118. doi:10.18705/1607-419X-2020-26-1-107-118

Vitamin D and fibroplastic processes in myocardium in spontaneously hypertensive rats with initial kidney dysfunction

E. O. Bogdanova¹, O. N. Beresneva¹, O. V. Galkina¹,
M. M. Parastayeva¹, I. M. Zubina¹, G. T. Ivanova²,
I. G. Kayukov¹, A. G. Kucher¹, A. V. Smirnov¹

¹ Pavlov University, St Petersburg, Russia

² Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St Petersburg, Russia

Corresponding author:

Evdokia O. Bogdanova,
Pavlov University,
6–8 L'va Tolstogo street,
St Petersburg, 197022 Russia.
E-mail: biochemlab.spbgmu@gmail.com

Received 18 July 2019;
accepted 17 February 2020.

Abstract

Background. Even a moderate decrease in glomerular filtration rate leads to an increased risk of cardiovascular diseases (CVD), which is the leading cause of mortality in patients with chronic kidney disease (CKD). Left ventricular hypertrophy (LVH) underlies CVD development in renal dysfunction. The prevalence of LVH in patients with CKD stages 2–4 is 50–70% and reaches 95% at the beginning of dialysis, which significantly exceeds the number of cases in general population (15–21%). Common hemodynamic factors associated with chronic kidney damage —hypertension (HTN), activation of the renin-angiotensin system, anemia, fluid and sodium retention, and others largely explain the high prevalence of LVH among patients with CKD. Nevertheless, the existence of additional non-hemodynamic mechanisms of myocardial remodeling (MR) is evident. **Objective.** To investigate the associations between the MR physiological/histological characteristics and laboratory parameters of calcium-phosphate metabolism in the initial stages of experimental CKD. **Design and methods.** Four groups of spontaneously hypertensive rats (SHR) were studied ($n = 35$): 3/4 nephrectomized rats (Nx) one month exposed after surgery (Nx(1), $n = 9$), 5/6 Nx two months after surgery (Nx(2), $n = 8$), sham operated rats one month after surgery (SO(1), $n = 9$) and two months after surgery (SO(2), $n = 9$). Myocardial mass index (MMI), systolic

blood pressure (BP), proteinuria, creatinine (Cr) concentration, total calcium (Ca) and inorganic phosphate (Pi), 25-OH vitamin D (25OHD) and parathyroid hormone (PTH) in serum, myocardial morphology were studied in all experimental animals. **Results.** The models corresponded to the 1–3 stages CKD. There were no significant changes in serum total Ca ($p = 0,066$), Pi ($p = 0,051$) and PTH ($p = 0,015$) concentrations, the level of 25OHD was significantly lower in Nx(2) rats vs control ($p = 0,015$). MMI increased in all nephrectomized rats ($p = 0,008$). The cardiomyocytes (CM) thickness increased in Nx(1) and Nx(2) animals compared to the corresponding controls ($p = 0,010$, $p = 0,002$). A significant increase in interstitial (IF) and perivascular (PF) fibrosis occurred in Nx(2) rats with more damaging influence ($p = 0,017$, $p = 0,004$). CM thickness, IF and PF increased with the elevation of BP ($r = 0,39$, $p = 0,038$, $r = 0,47$, $p = 0,026$, $r = 0,49$, $p = 0,031$) and serum Cr ($r = 0,68$, $p = 0,001$, $r = 0,61$, $p = 0,003$, $r = 0,69$, $p = 0,001$), and the decrease in serum 25OHD concentration ($r = -0,045$, $p = 0,047$, $r = -0,50$, $p = 0,020$, $r = -0,52$, $p = 0,012$). Multiple linear regression analysis showed, that 25OHD is an independent predictor of myocardial fibrosis (IF: $\beta = -0,38 \pm 0,18$, $p = 0,047$, PF: $\beta = -0,34 \pm 0,15$, $p = 0,032$). **Conclusions.** The initial stages of CKD accompanied with HTN are associated with serum 25OHD concentration decrease CM hypertrophy and myocardial fibrosis. The CM growth is an earlier event in relation to the interstitial fibrosis. The obtained data suggest a possible role of vitamin D deficiency in the development of myocardial fibrotic lesions.

Key words: chronic kidney disease, myocardial remodeling, hypertension, calcium metabolism, calcidiol, parathyroid hormone

For citation: Bogdanova EO, Beresneva ON, Galkina OV, Parastaeva MM, Zubina IM, Ivanova GT, Kayukov IG, Kucher AG, Smirnov AV. Vitamin D and fibroplastic processes in myocardium in spontaneously hypertensive rats with initial kidney dysfunction. Arterial'naya Gipertenziya = Arterial Hypertension. 2020;26(1):107–118. doi:10.18705/1607-419X-2020-26-1-107-118

Введение

Дефицит витамина D, сопутствующий прогрессирующей почечной патологии, традиционно рассматривается как фактор, усугубляющий риск сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [1–3]. Экспериментальные и эпидемиологические исследования свидетельствуют о наличии взаимосвязи между низким уровнем витамина D в сыворотке крови и артериальной гипертензией (АГ), гипертрофией левого желудочка (ГЛЖ), повышенной ригидностью артерий, эндотелиальной дисфункцией и частотой инфаркта миокарда [4–10]. Снижение 25-гидроксивитамина D (25OHD) и $1\alpha,25$ -дигидроксивитамина D ($1,25(\text{OH})_2\text{D}$) при дисфункции почек (ДП) связывают со снижением биосинтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ и повышением активности катаболизма $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ и 25OHD [11].

Эффекты кальцитриола *in vivo* многочисленны и разнообразны по своей физиологической направленности, поскольку рецептор витамина D (VDR, vitamin D receptor) присутствует в клетках различных тканей и органов [11]. Кардиомиоциты (КМиЦ), клетки эндотелия и сосудов в значительной степени экспрессируют VDR [6]. Защитное действие витамина D/VDR на миокард и сосуды в первую очередь связывают с угнетением ренин-ангиотензиновой системы (РАС) [5, 13]. Кроме того, в первичной культуре миоцитов желудочков сердца крысы показано, что кальцитриол участвует в регуляции пролиферации и клеточного роста [14]. При экспериментальном моделировании хронической болезни почек (ХБП) обнаружена связь между витамином D

и развитием фиброза сердца [15]. Снижение кальцитриола и нокаут гена *VDR* у мышей приводят к росту концентрации матриксных металлопротеиназ (MMPs, matrix metalloproteases) и предсердного натрийуретического пептида (ANP, atrial natriuretic peptide) [16]. Кальцитриол способен опосредованно влиять на сердечно-сосудистую систему (ССС) через механизмы регуляции прогипертрофических факторов: его дефицит при ХБП сопровождается гиперпродукцией паратиреоидного гормона (ПТГ) и фактора роста фибробластов 23 (FGF23, fibroblast growth factor 23) [17, 18]. Накопленные за последние годы данные свидетельствуют о влиянии кальцитриола на биосинтез и активность ряда почечных и остеогенных факторов, потенциально способных влиять на клетки и внеклеточный матрикс (ВКМ) миокарда и сосудов. К таким факторам относятся белок Klotho, канонический внутриклеточный сигнальный путь Wnt (canonical wntless/Wg integrated/int-1) и его антагонисты — склеростин и Dickkopf-1, белки костного матрикса остеопротегерин, остеокальцин и другие [19]. Несмотря на то, что взаимосвязь между дефицитом витамина D и неблагоприятным прогнозом ХБП является общепризнанной, из-за плейотропного действия его эффекты *in vivo* не всегда предсказуемы. Кроме того, практически не изучена этапность развития повреждений ССС в зависимости от выраженности почечной дисфункции и ассоциация между уровнем 25-гидроксивитамина D и патологией ССС на ранних стадиях хронического повреждения почек.

Таблица 1

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ГРУППЫ

Модель	Срок эксперимента	
	1 месяц (n)	2 месяца (n)
SHR, ЛО	9	9
SHR, 3/4 НЭ	9	0
SHR, 5/6 НЭ	0	8

Примечание: ЛО — ложная операция; 3/4 НЭ — нефрэктомия 3/4 объема органа; 5/6 НЭ — нефрэктомия 5/6 объема органа.

Целью исследования являлся анализ взаимосвязи между изменением уровня 25ОНD в сыворотке крови и физиологическими/морфологическими проявлениями патологического ремоделирования миокарда (PM) на начальных стадиях экспериментальной ХБП у спонтанно гипертензивных крыс SHR.

Материалы и методы

Исследование выполнено на взрослых самцах крыс линии SHR массой 190–230 г (питомник «Колтуши»). Животных содержали в стандартных условиях вивария Института физиологии имени И. П. Павлова РАН в клетках площадью 0,2 м² по 5 крыс в каждой со свободным доступом к воде. Световой режим контролировался автоматически: 12 ч свет/12 ч темнота; температура в помещении составляла 20–22 °С. Животные ежедневно получали стандартный сбалансированный лабораторный корм фирмы «Информ-корм» (Россия) с содержанием 20,16 % полноценного белка, 1,18 % жиров, 85,3 % углеводов, 1,03 % кальция, 0,8 % фосфата, 0,34 % хлорида натрия по 28–30 г корма на крысу. Суточное потребление белка одним животным в среднем составляло 6 г, жиров — 0,35 г, углеводов — 25,6 г. В работе применены две хирургические модели [20] — нефрэктомия 3/4 (3/4 НЭ) или нефрэктомия 5/6 (5/6 НЭ) объема органа. Контролем служили ложнооперированные (ЛО) животные. Сроки наблюдения животных составили 1 или 2 месяца после операции (табл. 1). Измерение систолического артериального давления (АД) выполняли перед операцией и за сутки до выведения из эксперимента у бодрствующих крыс манжеточным методом на хвосте, используя электроманометр фирмы ELEMA (Швеция). Электрограмму и кривую давления регистрировали на самописце Н-338–2П (Россия) при скорости протяжки бумажной ленты 10 мм/с. По электрограмме определяли частоту сердечных сокращений (ЧСС) за 1 минуту регистрации. Для каждой крысы выполняли 4–5 замеров АД и рассчитывали среднее значение трех последних измерений. Индекс массы миокарда (ИММ) рассчитывали как отношение массы миокарда (мг) к массе крысы (г).

Биохимические исследования

За сутки до выведения из эксперимента крыс помещали в индивидуальные метаболические камеры и фиксировали для сбора мочи на 24 часа в условиях водной депривации. Взятие образцов крови происходило при выведении животных из эксперимента. Кровь центрифугировали при 1000 g в течение 30 минут. Аликвоты сыворотки и мочи хранили при температуре –80 °С до момента проведения исследований (не более 6 месяцев). Концентрацию общего Са, креатинина (Cr), мочевины (Ur) и общего белка определяли при помощи реагентов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе СА-90 (Furuno, Япония). Для измерения концентрации интактного ПТГ в сыворотке крови использовали тест-системы для иммуноферментного анализа Rat Intact PTH ELISA Kit (Immutopics, Inc., США). Концентрацию 25ОНD измеряли с использованием тест-системы «25ОН витамин D» (Abbott Laboratories, США) для количественного определения 25(ОН)D₂ и 25(ОН)D₃ в сыворотке крови на анализаторе ARCHITECT i2000SR (Abbott Laboratories, США).

Гистологические исследования

Фрагменты миокарда каждого животного (поперечный срез толщиной 2 мм) фиксировали в 5-процентном нейтральном формалине (рН 7,4) в течение 24 часов при комнатной температуре (22 °С). После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезживание и пропитка) из парафиновых блоков были приготовлены серийные срезы толщиной 1,5–2 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и анилиновым синим по Массону. Выраженность патоморфологических изменений оценивали с помощью количественной морфометрии в программе «Видео Тест-Морфология 5.2» (ООО «Видеотест», Россия). В каждом препарате анализировали 10 полей зрения. Толщину КМЦ измеряли в мкм при окуляре 10× и объективе 40× на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, выполняли не менее 20 измерений в каждом поле зрения (всего выполнено 10 500 измерений). Площадь фиброза миокарда измеряли при окуляре 10× и объективе 20× на срезах, окрашенных по Массону, и рассчитывали как отношение площади коллагенового фиброза к площади поля зрения в процентах. Площадь интерстициального фиброза миокарда измеряли на участках без сосудов, перивазальный фиброз оценивали отдельно (700 полей зрения).

Статистический анализ выполняли с помощью лицензированного программного обеспечения SAS.

Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Me , $Q1-Q3$) или медиана и 95-процентный доверительный интервал (Me , 95 % ДИ). Для сравнения двух выборок использовали критерий Манна–Уитни, при сравнении большего числа выборок — критерий Краскела–Уоллиса. Для оценки связей между переменными применяли непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена и множественный линейный регрессионный анализ. Межгрупповые различия и регрессионные коэффициенты считали статистически значимыми при величине $p < 0,05$.

Эксперимент проводили в соответствии с Руководством по использованию лабораторных животных для научных и учебных целей после одобрения локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России.

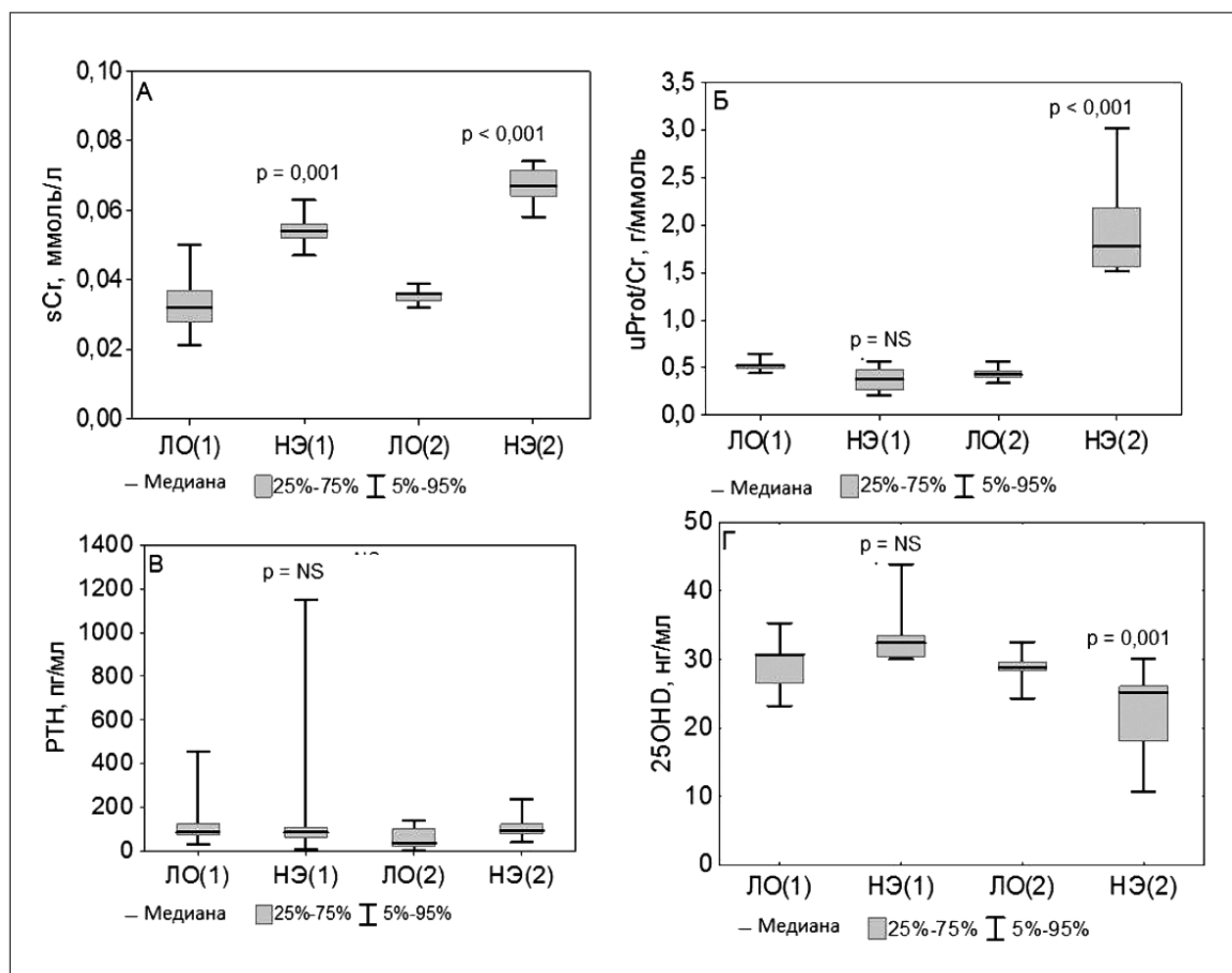
Результаты

Характеристика полученных моделей

Концентрации креатинина в сыворотке крови свидетельствовали о формировании начальных стадий ХБП в исследуемых моделях (рис. 1А). Модель НЭ(1) была сопоставима с ХБП С2, поскольку концентрация креатинина в сыворотке крови увеличивалась в полтора раза по сравнению с контролем (рис. 1А), протеинурия значительно не различалась (рис. 1Б). Модель НЭ(2) была сопоставима с ХБП С3, поскольку в данной группе экспериментальных животных концентрация креатинина сыворотки увеличивалась в два раза, происходил статистически значимый рост протеинурии (рис. 1Б).

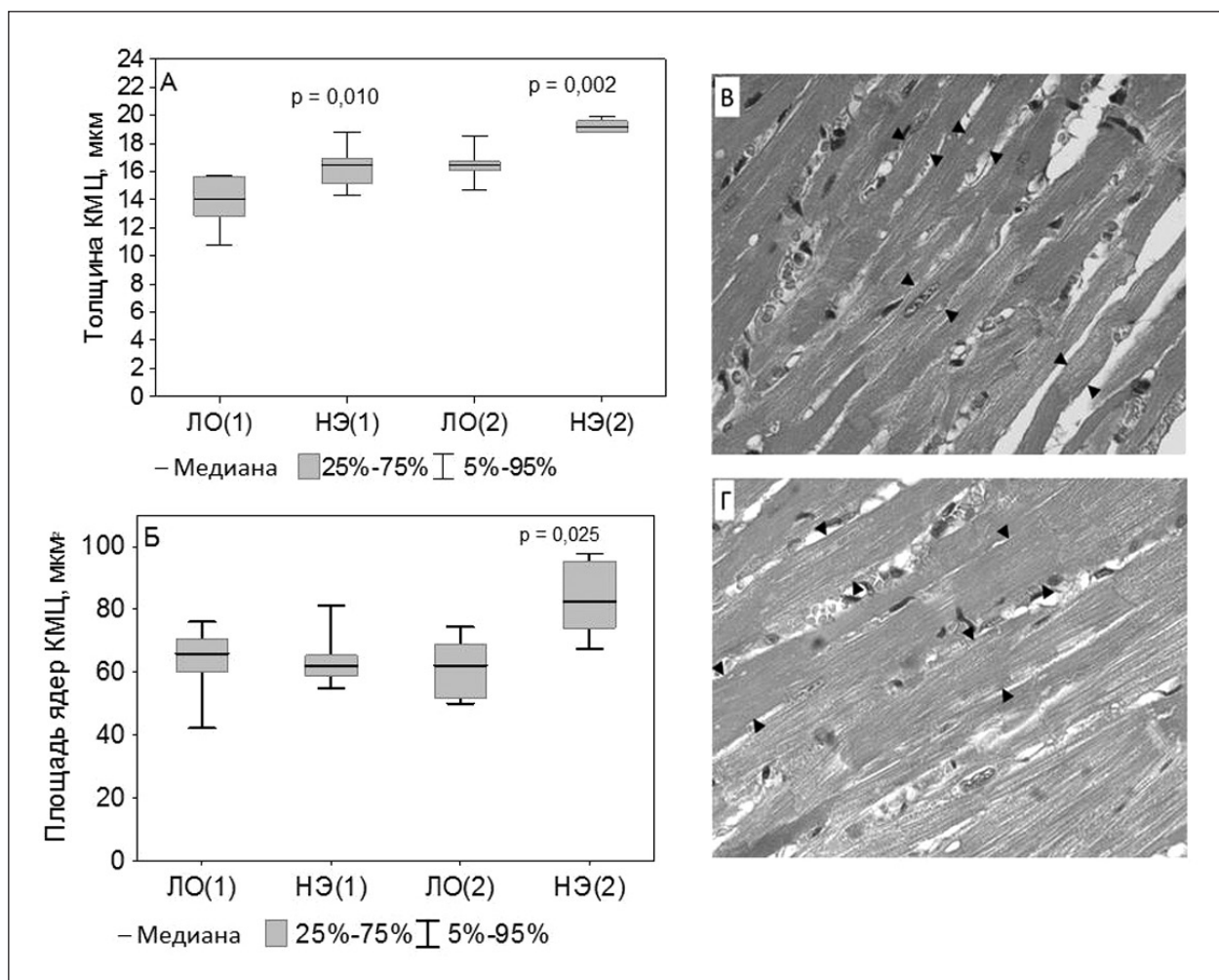
Было установлено, что на исследуемых сроках после НЭ концентрации общего Са, неорганического фосфата и ПТГ (рис. 1В) в сыворотке крови

Рисунок 1. Концентрация креатинина (sCr) в сыворотке крови (А), отношение белок/креатинин (uProt/Cr) в моче (Б), концентрация паратиреоидного гормона в сыворотке (В), концентрация кальцидиола (25OHD) в сыворотке (Г)



Примечание: ЛО(1) — ложная операция, продолжительность наблюдения 1 месяц [контроль для группы НЭ(1)]; НЭ(1) — нефрэктомия 3/4 объема органа, продолжительность наблюдения 1 месяц; ЛО(2) — ложная операция, продолжительность наблюдения 2 месяца [контроль для группы НЭ(2)]; НЭ(2) — нефрэктомия 5/6 объема органа, продолжительность наблюдения 2 месяца, p (U-test, U-критерий Манна–Уитни), NS (not significant) — различия незначимы, $p \geq 0,05$.

Рисунок 2. Количественная морфометрия толщины кардиомиоцитов (А) и площади ядер кардиомиоцитов (Б); микрофотографии миокарда ложнооперированного животного (В) и животного с нефрэктомией 5/6 (Г) (гематоксилин-эозин, × 400)



Примечание: ЛО(1) — ложная операция, продолжительность наблюдения 1 месяц [контроль для группы НЭ(1)]; НЭ(1) — нефрэктомия 3/4 объема органа, продолжительность наблюдения 1 месяц; ЛО(2) — ложная операция, продолжительность наблюдения 2 месяца [контроль для группы НЭ(2)]; НЭ(2) — нефрэктомия 5/6 объема органа, продолжительность наблюдения 2 месяца.

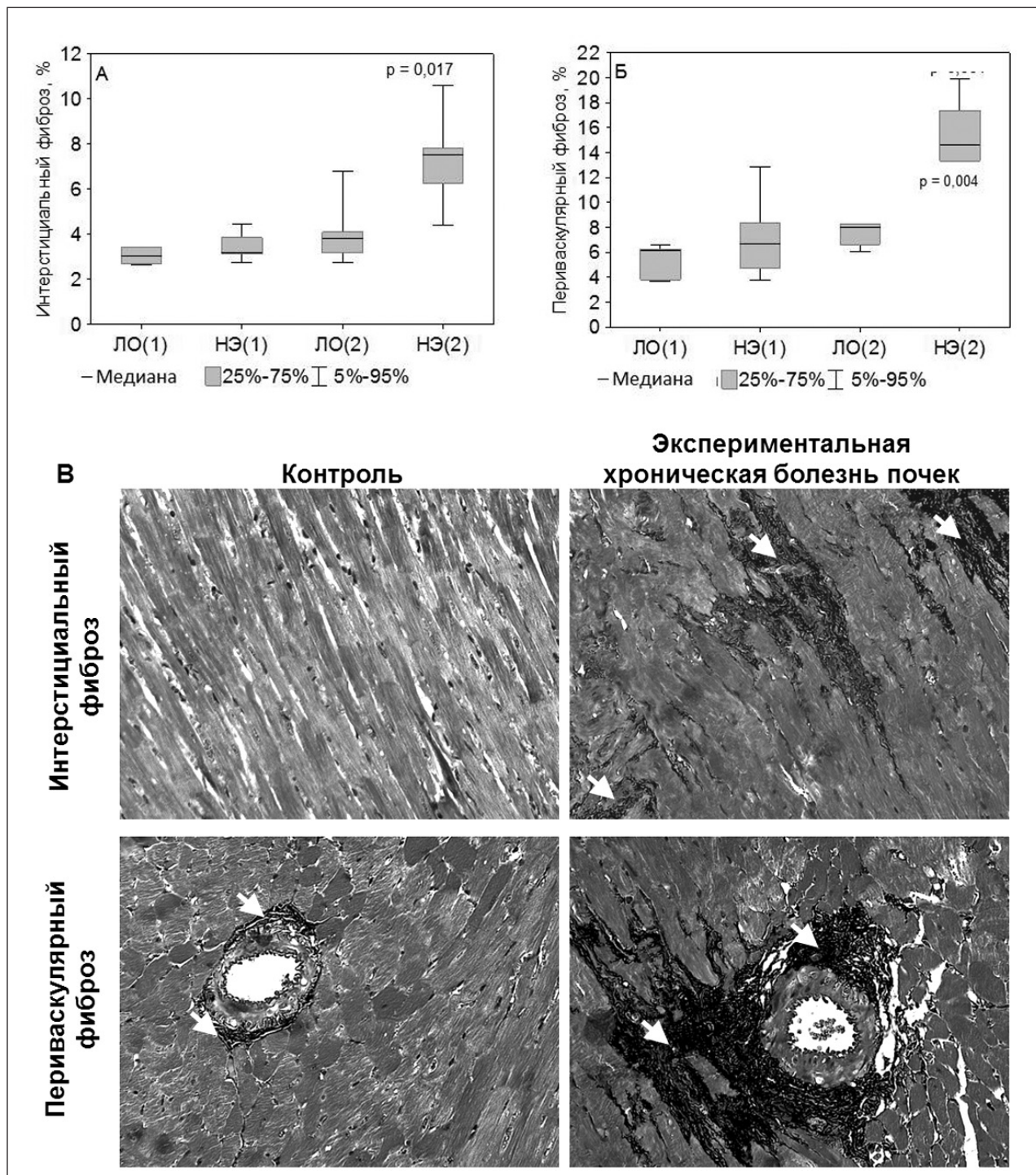
Таблица 2

**БАЗОВЫЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
СОСТОЯНИЯ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ (МЕ, 95 % ДИ)**

Модель	ЛО(1)	НЭ(1)	ЛО(2)	НЭ(2)
п	9	9	9	8
ИММ, мг/г	2,99 (2,81–3,17)	3,13 (3,02–3,24) ¹	3,03 (2,89–3,17)	3,31 (3,11–3,51) ²
АД, мм рт. ст.	200,0 (192,7–207,2)	195,0 (187,3–202,6)	190,0 (181,8–198,2)	212,5 (203,5–221,5) ³
ЧСС уд./мин.	435,0 (414,8–455,2)	430,0 (364,4–495,6)	400,0 (371,4–428,7)	412,0 (380,7–443,3)

Примечание: ЛО(1) — ложная операция со сроком наблюдения 1 месяц [контроль для группы НЭ(1)]; НЭ(1) — нефрэктомия 3/4 объема органа, продолжительность наблюдения 1 месяц; ЛО(2) — ложная операция, продолжительность наблюдения 2 месяца [контроль для группы НЭ(2)]; НЭ(2) — нефрэктомия 5/6 объема органа, продолжительность наблюдения 2 месяца; ИММ — индекс массы миокарда; АД — артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; ¹ — $p = 0,008$; ² — $p = 0,005$; ³ — $p = 0,002$ при сравнении с контролем соответствующего срока наблюдения.

Рисунок 3. Количественная морфометрия доли площади интерстициального фиброза (А) и периваскулярного фиброза (Б) от площади поля зрения; микрофотографии миокарда (В) ложнооперированного животного и животного с нефрэктомией (трихром по Массону, $\times 200$), участки фиброза отмечены стрелками



Примечание: ЛО(1) — ложная операция, продолжительность наблюдения 1 месяц [контроль для группы НЭ(1)]; НЭ(1) — нефрэктомия 3/4 объема органа, продолжительность наблюдения 1 месяц; ЛО(2) — ложная операция, продолжительность наблюдения 2 месяца [контроль для группы НЭ(2)]; НЭ(2) — нефрэктомия 5/6 объема органа, продолжительность наблюдения 2 месяца.

значительно не различаются ($p = 0,066$, $p = 0,051$, $p = 0,15$ соответственно). В группе с более продолжительным сроком наблюдения и выраженным повреждением НЭ(2) происходит значимое снижение концентрации 25ОНД (рис. 2Б).

Исследование патологического ремоделирования миокарда

Прогрессирующий рост АД характерен для крыс линии SHR и в нашем эксперименте он отмечался у всех экспериментальных животных (табл. 2) при

КОРРЕЛЯЦИЯ МЕЖДУ ХАРАКТЕРИСТИКАМИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА И ИССЛЕДУЕМЫМИ ПОКАЗАТЕЛЯМИ [R (95 % ДИ), p]

Показатель, единицы измерения	ИММ, мг/г	Толщина КМЦ, мкм	S ² ядер КМЦ, мкм ²	ИФ, %	ПФ, %
АД, мм рт. ст.	0,38 (0,05–0,65) p = 0,033	0,39 (0,13–0,69) p = 0,038	0,39 (–0,07–0,66) p = 0,07	0,47 (0,05–0,78) p = 0,026	0,49 (0,07–0,75) p = 0,031
ЧСС, уд/мин	–0,09 (–0,42–0,29) p = 0,62	–0,22 (–0,56–0,19) p = 0,34	0,13 (–0,37–0,56) p = 0,55	–0,11 (–0,48–0,29) p = 0,63	0,03 (–0,38–0,34) p = 0,88
sCr, ммоль/л	0,60 (0,31–0,81) p < 0,001	0,68 (0,30–0,88) p = 0,001	0,62 (0,20–0,87) p = 0,002	0,61 (0,15–0,84) p = 0,003	0,69 (0,28–0,91) p = 0,001
sCa, ммоль/л	0,05 (–0,31–0,43) p = 0,78	–0,07 (–0,52–0,39) p = 0,76	–0,04 (–0,47–0,38) p = 0,86	0,13 (–0,34–0,56) p = 0,57	0,02 (–0,46–0,49) p = 0,94
sPi, ммоль/л	0,07 (–0,27–0,38) p = 0,67	0,02 (–0,43–0,46) p = 0,92	0,18 (–0,30–0,58) p = 0,42	0,13 (–0,27–0,52) p = 0,56	0,13 (–0,27–0,52) p = 0,57
25ОНD, нг/мл	–0,12 (–0,45–0,15) p = 0,19	–0,45 (–0,75–0,13) p = 0,047	–0,51 (–0,81–0,14) p = 0,015	–0,50 (–0,77–0,16) p = 0,020	–0,52 (–0,81–0,16) p = 0,012
ПТГ, пг/мл	0,06 (–0,24–0,39) p = 0,71	0,12 (–0,33–0,51) p = 0,59	0,17 (–0,29–0,57) p = 0,46	–0,10 (–0,46–0,30) p = 0,64	–0,10 (–0,53–0,38) p = 0,67

Примечание: ИММ — индекс массы миокарда; КМЦ — кардиомиоциты; ИФ — интерстициальный фиброз; ПФ — периваскулярный фиброз; АД — артериальное давление; ЧСС — частота сердечных сокращений; sCr — креатинин; Уг — мочевины; sCa — общий кальций; sPi — неорганический фосфат; 25ОНD — кальцитриол; ПТГ — паратиреоидный гормон в сыворотке крови; r — непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена.

сроках наблюдения 1 и 2 месяца по сравнению с исходными значениями, которые до операции составляли 178,3 (170,5–179,5) мм рт. ст. НЭ усугубляла развитие гипертрофии миокарда (ГМ) — значительный рост ИММ происходил при сроке эксперимента 1 и 2 месяца по сравнению с соответствующим контролем (табл. 2).

У крыс с НЭ были выявлены волнообразная деформация мышечных волокон миокарда и неспецифические контрактурные изменения в цитоплазме миоцитов. Рост толщины КМЦ наблюдали на ранней стадии моделируемой патологии в группе НЭ(1) (рис. 2А), на несколько более поздней стадии экспериментальной ДП у крыс НЭ(2) эти изменения сопровождались увеличением площади ядер КМЦ (рис. 2Б–Г). Площадь, занятая соединительной тканью (коллагеном), была значительно выше у крыс НЭ(2) по сравнению с контрольной группой ЛО(2) (рис. 3). Накопление соединительной ткани наблюдали в интерстиции миокарда и вокруг сосудов (рис. 3В). При этом периваскулярный фиброз был более выражен и сопровождался гипертрофией гладких миоцитов стенок сосудов (рис. 3В).

При множественном линейном регрессионном анализе с пошаговым включением в модели исследуемых морфологических параметров обнаружена связь ИММ с толщиной КМЦ ($\beta = 0,46 \pm 0,18$, $p = 0,019$) и периваскулярным фиброзом ($\beta = 0,51 \pm 0,22$, $p = 0,024$). Гипертрофия КМЦ и фиброз миокарда увеличивались по мере роста АД, снижения функции почек и снижения концентрации 25ОНD в сыворотке (табл. 3), при этом уровень 25ОНD был независимо ассоциирован с интерстициальным фиброзом миокарда (табл. 4).

Обсуждение

У пациентов с ХБП значительно преобладают традиционные факторы риска РМ — возраст, сахарный диабет, АГ, повышение липопротеинов низкой плотности, холестерина, триглицеридов [22], но, кроме того, существуют и дополнительные факторы риска ССЗ, связанные с ДП [11]. В представленной работе мы анализировали ассоциацию между ранними изменениями кальций-фосфатного обмена и, в частности, снижением 25-гидроксивитамина D, предшественника D-гормона, и морфологиче-

скими проявлениями начальных стадий патологического РМ.

Мы доказали, что снижение 25-гидроксивитамина D происходит на ранних стадиях экспериментальной ДП. Данное наблюдение может объясняться повышением активности катаболического фермента CYP24 при ХБП, который участвует в деградации 25ОНD [11]. Нокаут гена CYP24 значительно увеличивает период стабильности 25ОНD, подтверждая тем самым значимость данного цитохрома в гомеостазе витамина D [11].

Полученные данные показали, что при экспериментальной ХБП и системной АГ рост ИММ ассоциирован не только с клеточной гипертрофией, но и накоплением ВКМ в периваскулярной области и интерстиции. Гипертрофия КМЦ является более ранним событием по отношению к росту площади ВКМ и впервые происходит в группах с менее выраженным экспериментальным повреждением почек. Нарастание фиброза сосудов и интерстиция характерно для более существенного и продолжительного повреждающего воздействия. На начальных стадиях экспериментальной ДП с сопутствующей АГ структурная и функциональная перестройка клеточного и интерстициального компонентов миокарда связана со снижением функции почек, ростом АД и снижением концентрации 25ОНD в сыворотке крови. Снижение функции почек и АГ является независимым фактором риска РМ [23]. При построении регрессионных моделей мы обнаружили, что взаимосвязь между уровнем 25ОНD и интерстициальным фиброзом не зависит от классических факторов развития ГМ — АД и концентрации S_{Cr} в сыворотке (интегрального показателя функции почек). Не ставя под сомнение роль последних, мы выдвинули предположение, что снижение 25ОНD в результате хронического повреждения почек может являться одной из причин прогрессирования интерстициального и периваскулярного фиброза на фоне АГ у крыс SHR.

Выявленная нами ассоциация между уровнем 25ОНD и фиброзом миокарда может быть обусловлена дефицитом активной формы витамина D и отсутствием кардиопротективного действия кальцитриола из-за дефицита его предшественника. Данные о прямых эффектах кальцитриола на сердечную мышцу ограничены небольшим числом работ [12, 15]. Наличие взаимосвязи между кальцитриолом и фиброзом миокарда обнаружено в интервенционном исследовании на нефрэктомизированных крысах линии Sprague–Dawley [15]. Как известно, основным цитокином, играющим роль в развитии фиброза, является трансформирующий ростовой фактор β (TGF- β). TGF- β регулирует экспрессию генов, участвующих в клеточной трансдифференцировке, баланс матричных металлопротеиназ и их ингибиторов, и его активность связана с продукцией, аккумуляцией и снижением деградации ВКМ [12]. Связывание TGF- β с рецепторами 1-го и 2-го типа приводит к фосфорилированию SMAD2, экспрессии транскрипционного фактора Snail-1, коллагенов 1-го и 3-го типов, фактора роста соединительной ткани (CTGF) и прочему. A. Meredith и соавторы (2015) в опытах *in vitro* показали, что добавление в среду кальцитриола ингибирует активирующее фосфорилирование SMAD2, что выражается в снижении сократительной способности коллагеновых фибрилл (модель коллагенового геля), уровня экспрессии α SMA и количества стресс-фибрилл цитоскелета фибробластов сердца (клеточная культура HCF-av — adult ventricular human cardiac fibroblasts) [12]. В исследовании на крысах Wistar с 7/8 НЭ показано, что фармакологические аналоги кальцитриола (активаторы рецептора VDR — VDRA) способны снижать уровень профибротических факторов — коллагенов, TGF- β , матричной металлопротеиназы 1 (MMP1) [24]. Несколько позже та же группа исследователей показала, что аналоги кальцитриола влияют на экспрессию белков коллагена 1-го типа (COL1A1), MMP2, CTGF, отчасти через регуляцию микроРНК miR-29b и miR-30c [25].

Таблица 4

МНОЖЕСТВЕННЫЙ ЛИНЕЙНЫЙ РЕГРЕССИОННЫЙ АНАЛИЗ СВЯЗЕЙ МЕЖДУ ИССЛЕДУЕМЫМИ ПЕРЕМЕННЫМИ И ХАРАКТЕРИСТИКАМИ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА*

Показатель	ИФ, %		ПФ, %	
	$R^2 = 0,50, p = 0,005$		$R^2 = 0,66, p < 0,001$	
	$\beta \pm SE$	p	$\beta \pm SE$	p
25ОНD, нг/мл	$-0,38 \pm 0,18$	0,047	$-0,34 \pm 0,15$	0,032
АД, мм рт. ст.	$0,18 \pm 0,19$	0,35	$0,35 \pm 0,16$	0,042
sCr , ммоль/л	$0,37 \pm 0,21$	0,09	$0,39 \pm 0,17$	0,031

Примечание: ИФ — интерстициальный фиброз; ПФ — периваскулярный фиброз; 25ОНD — кальцитриол; АД — артериальное давление; sCr — креатинин в сыворотке крови; * — индекс массы миокарда, толщина кардиомиоцитов, площадь ядер кардиомиоцитов, интерстициальный и периваскулярный фиброз миокарда.

В работе, процитированной выше, авторы также приводят данные о способности VDRA препятствовать гипертрофии КМЦ, увеличению толщины стенки левого желудочка, величины ИММ по сравнению с контролем (Wistar с 7/8 НЭ без лечения). На молекулярном уровне действие VDRA было связано со снижением продукции прогипертрофических факторов ANP, BNP и активности сигнального пути MAPK/ERK по сравнению с контролем [24]. Мы обнаружили негативную корреляцию между уровнем 25ОНД и толщиной КМЦ, однако при множественном регрессионном анализе эта связь не была статистически значимой. Вероятно, в условиях АГ и ХБП большой вклад в развитие ГМ вносят рост АД, прогрессирующее снижение количества нефронов, снижение уровня белка Klotho и накопление уремических токсинов.

Нарушение минерального обмена, гиперпаратиреоз и гиперфосфатемия являются независимыми факторами риска ССЗ и смерти, как в общей популяции, так и в популяции пациентов с ХБП [26]. На нашем материале не удалось подтвердить связь между развитием патологического РМ и изменениями концентрации неорганического фосфата, общего Са и ПТГ в сыворотке крови. Вероятно, на ранних стадиях экспериментальной ХБП данные факторы не оказывают существенного влияния на миокард.

Заключение

Начальные стадии экспериментальной ХБП и системной АГ ассоциированы со снижением 25-гидроксивитамина D, развитием гипертрофии КМЦ, ремоделированием стенки сосудов (гипертрофия гладкомышечных клеток, периваскулярный фиброз) и интерстициальным фиброзом миокарда. Увеличение толщины миоцитов сердца является более ранним событием по отношению к развитию фибропластических процессов в стенке сосудов и интерстиции миокарда. Выявлена отчетливая взаимосвязь между снижением 25-гидроксивитамина D и развитием фибропластического РМ на начальных стадиях ХБП.

Финансирование / Financial support

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований (№ 18–315–00342). / The study was supported by the Russian Foundation for Fundamental Investigations (RFFI) (№ 18–315–00342).

Конфликт интересов / Conflict of interest

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

Список литературы / References

1. Achinger SG, Ayus JC. The role of vitamin D in left ventricular hypertrophy and cardiac function. *Kidney Int Suppl.* 2005;95:37–42. doi:10.1111/j.1523-1755.2005.09506
2. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Molitch M, Smulders M, Tian J et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int.* 2007;71:31–38. doi:10.1038/sj.ki.5002009
3. Sarafidis PA, Li S, Chen Sch, Collins AJ, Brown WW, Klag MJ et al. Hypertension awareness, treatment, and control in chronic kidney disease. *Am J Med.* 2008;121(4):332–340. doi:10.1016/j.amjmed.2007.11.025
4. Weishaar RE, Kim SN, Saunders DE, Simpson RU. Involvement of vitamin D3 with cardiovascular function. III. Effects on physical and morphological properties. *Am J Physiol.* 1990;258(1Pt1):134–142. doi:10.1152/ajpendo.1990.258.1.E134
5. Xiang W, Kong J, Chen S, Cao LP, Qiao G, Zheng W et al. Cardiac hypertrophy in vitamin D receptor knockout mice: role of the systemic and cardiac renin-angiotensin systems. *Am J Physiol Endocrinol Metab.* 2005;288(1):125–132. doi:10.1152/ajpendo.00224.2004
6. Chen S, Sun Y, Agrawal D K. Vitamin D deficiency and essential hypertension. *J Am Soc Hypertens.* 2015;9(11):885–901. doi:10.1016/j.jash.2015.08.009
7. Dobnig H, Pilz S, Scharnagl H, Renner W, Seelhorst U, Wellnitz B et al. Independent association of low serum 25-hydroxyvitamin D and 1,25-dihydroxyvitamin D levels with all-cause and cardiovascular mortality. *Arch Intern Med.* 2008;168(12):1340–1349. doi:10.1001/archinte.168.12.1340
8. Lavie CJ, Lee JH, Milani RV. Vitamin D and cardiovascular disease will it live up to its hype? *J Am Coll Cardiol.* 2011;58(15):1547–1556. doi:10.1016/j.jacc.2011.07.008
9. Khalili H, Talasaz AH, Salariar M. Serum vitamin D concentration status and its correlation with early biomarkers of remodeling following acute myocardial infarction. *Clin Res Cardiol.* 2012;101(5):321–327. doi:10.1007/s00392-011-0394-0
10. Gunta SS, Thadhani RI, Mak RH. The effect of vitamin D status on risk factors for cardiovascular disease. *Nat Rev Nephrol.* 2013;9(6):337–347. doi:10.1038/nrneph.2013.74
11. Helvig CF, Cuerrier D, Hosfield CM, Ireland B, Kharebov AZ. Dysregulation of renal vitamin D metabolism in the uremic rat. *Kidney Int.* 2010;78(5):463–472. doi:10.1038/ki.2010.168
12. Meredith A, Boroomand S, Carthy J, Luo Zh, McManus B. 1,25 Dihydroxyvitamin D3 inhibits TGFβ1-Mediated primary human cardiac myofibroblast activation. *PLoS One.* 2015;10(6):e0128655. doi:10.1371/journal.pone.0128655
13. Yuan W, Pan W, Kong J, Zheng W, Szeto FL, Wong KE et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses renin gene transcription by blocking the activity of the cyclic AMP response element in the renin gene promoter. *J Biol Chem.* 2007;282(41):29821–29830. doi:10.1074/jbc.M705495200
14. O'Connell TD, Berry JE, Jarvis AK, Somerman MJ, Simpson RU. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 regulation of cardiac myocyte proliferation and hypertrophy. *Am J Physiol.* 1997;272(4Pt2):H1751–H1758. doi:10.1152/ajpheart.1997.272.4.H1751
15. Koleganova N, Piecha G, Ritz E, Gross ML. Calcitriol ameliorates capillary deficit and fibrosis of the heart in subtotal nephrectomized rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(3):778–787. doi:10.1093/ndt/gfn549
16. Simpson RU. Selective knockout of the vitamin D receptor in heart results in cardiac hypertrophy: is the heart a druggable target for vitamin D receptor agonists? *Circulation.* 2012;124(17):1808–1810. doi:10.1161/circulationaha.111.061234
17. Добронравов В. А., Богданова Е. О., Семенова Н. Ю., Береснева О. Н., Парастаева М. М., Галкина О. В. и др. Почеч-

ная экспрессия белка α Klotho, фактор роста фибробластов 23 и паратиреоидный гормон при экспериментальном моделировании ранних стадий хронического повреждения почек. *Нефрология*. 2014;18(2):72–78. [Dobronravov VA, Bogdanova EO, Semenova NYu, Beresneva OV, Parastaeva MM, Galkina OV et al. Renal expression of α Klotho protein, fibroblast growth factor 23 and parathyroid hormone in experimental modeling of early stages of chronic kidney damage. *Nefrologiya = Nephrology*. 2014;18(2):72–78. In Russian].

18. Береснева О. Н., Парастаева М. М., Швед Н. В., Иванова Г. Т., Кучер А. Г., Каюков И. Г. и др. Комбинированное влияние возраста и сокращения массы действующих нефронов на ремоделирование миокарда у крыс. *Нефрология*. 2015;19(4):100–107. [Beresneva ON, Parastaeva MM, Shved NV, Ivanova GT, Kucher AG, Kayukov IG et al. Combined effect of age and reduction in the mass of active nephrons on myocardial remodeling in rats. *Nefrologiya = Nephrology*. 2015;19(4):100–107. In Russian].

19. Pietrzyk B, Smertka M, Chudek J. Sclerostin: Intracellular mechanisms of action and its role in the pathogenesis of skeletal and vascular disorders. *Adv Clin Exp Med*. 2017;26(8):1283–1291. doi:10.17219/acem/68739

20. Береснева О. Н., Парастаева М. М., Иванова Г. Т., Зубина И. М., Кучер А. Г., Каюков И. Г. Оценка кардиопротективного действия малобелковой соевой диеты и уровень неорганических анионов сыворотки крови у спонтанно-гипертензивных крыс с нефрэктомией. *Нефрология*. 2007;11(3):70–76. [Beresneva ON, Parastaeva MM, Ivanova GT, Zubina IM, Kucher AG, Kayukov IG. Assessment of cardioprotective action low protein a soybean diet and level of inorganic anions of blood serum at spontaneous-hypertensive rats with a nephrectomy. *Nefrologiya = Nephrology*. 2007;11(3):70–76. In Russian].

21. Ormrod D, Miller T. Experimental uremia. Description of a model producing varying degrees of stable uremia. *Nephron*. 1980;26(5):249–254.

22. Камышников Л. А., Ефремова О. А., Пивовар Р. С. Особенности кардиоренальных взаимоотношений у больных с хронической болезнью почек. Современное состояние проблемы. *Научные ведомости Белгородского государственного университета. Серия Медицина Фармация*. 2017;5(254):13–21. [Kamishnikova LA, Efremova OA, Pivovarov RS. The features of cardio renal interaction in patients with chronic kidney disease. Current state of the problem. *Nauchnie Vedomosti Belgorodskogo Gosudarstvennogo Universiteta. Seriya Meditsina Farmacia*. 2017;5(254):13–21. In Russian].

23. Разин В. А., Гимаев Р. Х. Миокардиальный фиброз в артериальной гипертензии. *Ульяновский медикобиологический журнал*. 2013;3:7–14. [Rasin VA, Gimaev RH. Miocardial fibrosis in arterial hypertension. *Ul'yanovskiy Medicobiologicheskii Jurnal*. 2013;3:7–14. In Russian].

24. Barrio-Vázquez S, Naves-Díaz M, Carrillo-López N, Rodríguez I, Fernández-Vázquez A, Valdivielso JM et al. Vitamin D receptor activation, left ventricular hypertrophy and myocardial fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(11):2735–2744. doi:10.1093/ndt/gft268

25. Panizo S, Carrillo-López N, Naves-Díaz M, Solache-Berrolcal G, Martínez-Arias L, Rodríguez-Díez RR et al. Regulation of miR-29b and miR-30c by vitamin D receptor activators contributes to attenuate uraemia-induced cardiac fibrosis. *Nephrol Dial Transplant*. 2017;32(11):1831–1840. doi:10.1093/ndt/gfx060

26. Li JW, Xu C, Fan Y, Wang Y, Xiao YB. Can serum levels of alkaline phosphatase and phosphate predict cardiovascular diseases and total mortality in individuals with preserved renal function? A systemic review and meta-analysis. *PLoS One*. 2014;9(7):e102276. doi:10.1371/journal.pone.0102276

Информация об авторах

Богданова Евдокия Олеговна — кандидат биологических наук, научный сотрудник лаборатории биохимического гомеостаза Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: biochemlab.spbgmu@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1969-1959;

Береснева Ольга Николаевна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической физиологии почек Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: beresnevaolga@list.ru, ORCID: 0000-0002-7532-2405;

Галкина Ольга Владимировна — кандидат биологических наук, заведующая лабораторией биохимического гомеостаза Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: ovgalkina@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7265-7392;

Парастаева Марина Маргрезовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории клинической физиологии почек Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: beresnevaolga@list.ru, ORCID: 0000-0002-4526-8671;

Зубина Ирина Михайловна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории биохимического гомеостаза Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: zubina@list.ru, ORCID: 0000-0001-8491-7016;

Иванова Галина Тажимовна — кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической системы Института физиологии имени И. П. Павлова РАН, e-mail: tazhim@list.ru, ORCID: 0000-0003-0188-5173.

Каюков Иван Глебович — доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории клинической физиологии почек Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: kvaka55@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0793-5629;

Кучер Анатолий Григорьевич — доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Научно-исследовательского института нефрологии Научно-клинического исследовательского центра ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: prof.kucher@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-5616-3488;

Смирнов Алексей Владимирович — доктор медицинских наук, профессор, директор Научно-исследовательского института нефрологии, Научно-клинического исследовательского центра, заведующий кафедрой пропедевтики внутренних болезней с клиникой ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова Минздрава России, e-mail: smirnov@nephrolog.ru, ORCID: 0000-0001-7863-9080.

Author information

Evdokia O. Bogdanova, PhD, Researcher, Laboratory of Biochemical Homeostasis, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: biochemlab.spbgmu@gmail.com, ORCID: 0000-0003-1969-1959;

Olga N. Beresneva, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Kidney Clinical Physiology, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: beresnevaolga@list.ru, ORCID: 0000-0002-7532-2405;

Olga V. Galkina, PhD, Head, Laboratory of Biochemical Homeostasis, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: ovgalkina@mail.ru, ORCID: 0000-0001-7265-7392;

Marina M. Parastaeva, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Kidney Clinical Physiology, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: beresnevaolga@list.ru, ORCID: 0000-0002-4526-8671;

Irina M. Zubina, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Biochemical Homeostasis, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: zubina@list.ru, ORCID: 0000-0001-8491-7016;

Galina T. Ivanova, PhD, Senior Researcher, Laboratory of Cardiovascular and Lymphatic Systems Physiology, Pavlov Institute of Physiology RAS, e-mail: tazhim@list.ru, ORCID: 0000-0003-0188-5173;

Ivan G. Kayukov, MD, PhD, Professor, DSc, Head, Laboratory of Kidney Clinical Physiology, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: kvaka55@mail.ru, ORCID: 0000-0003-0793-5629;

Anatoly G. Kucher, MD, PhD, Professor, DSc, Vice-director, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Pavlov University, e-mail: prof.kucher@yandex.ru, ORCID: 0000-0002-5616-3488;

Alexey V. Smirnov, MD, PhD, Professor, DSc, Director, Research Institute of Nephrology, Scientific and Clinical Research Center, Head, Department of Propaedeutics of Internal Diseases, Pavlov University, e-mail: smirnov@nephrolog.ru, ORCID: 0000-0001-7863-9080.