

© Е.О. Богданова, Г.Т. Иванова, О.В. Галкина, И.М. Зубина, О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, И.Г. Каюков, В.А. Добронравов, 2019
УДК 616.61-002.7 : 577.161.2

doi: 10.36485/1561-6274-2019-23-6-100-107

*Е.О. Богданова¹, Г.Т. Иванова², О.В. Галкина¹, И.М. Зубина¹,
О.Н. Береснева¹, М.М. Парастаева¹, И.Г. Каюков¹, В.А. Добронравов¹*

УРОВЕНЬ 25-ГИДРОКСИВИТАМИНА D В ЦИРКУЛЯЦИИ АССОЦИИРОВАН С ВЫРАЖЕННОСТЬЮ ФИБРОЗА ПОЧКИ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

¹Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ²лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической системы Института физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Дефицит витамина D (син.: кальцитриол, D-гормон) широко распространен среди пациентов с хронической болезнью почек (ХБП), что обусловлено не только снижением биосинтеза $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ в поврежденных канальцах нефрона, но и усилением катаболизма $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ и 25OHD_3 . Уровни витамина D в сыворотке крови имеют обратную корреляцию с расчётной скоростью клубочковой фильтрации. В интервенционных исследованиях показано, что витамин D и его аналоги препятствуют прогрессированию ренального фиброза у экспериментальных животных, а также уменьшают протеинурию у пациентов с ХБП. Ренопротективные эффекты витамина D выходят далеко за рамки его классической роли в поддержании костного и минерального обмена, что является отражением его плеiotропного действия. **ЦЕЛЬ:** исследование ассоциации между уровнем 25ОН-гидроксивитамина D (25OHD) и ренальным фиброзом у спонтанно гипертензивных крыс (SHR) с начальными стадиями экспериментальной ХБП. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** У нефрэктомизированных (NE) и ложнооперированных (SO) крыс линии SHR (сроки наблюдения 2, 4 и 6 месяцев) и SO крыс Wistar Kyoto (срок наблюдения 2 месяца) измеряли систолическое артериальное давление (АД), протеинурию, альбуминурию, концентрацию креатинина (Cr), мочевины (Ur), неорганического фосфата (Pi), 25OHD в сыворотке крови, выполняли морфологическое светооптическое исследование почки. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Экспериментальная модель соответствовала начальным стадиям ХБП (Ur: 6,64 – 13,36 ммоль/л). Значительное увеличение площади ренального фиброза у животных с NE прямо коррелировало с уровнем АД ($r = 0,51$, $p < 0,001$), сывороточного Cr ($r = 0,76$, $p < 0,001$), альбуминурии ($r = 0,64$, $p < 0,001$) и протеинурии ($r = 0,78$, $p < 0,001$) и негативно – с концентрацией 25OHD в сыворотке ($r = -0,67$, $p < 0,001$), при множественном регрессионном анализе достоверная корреляция между площадью фиброза и уровнем 25OHD сохранялась ($\beta = -0,28$, $p = 0,012$). Кроме того, для 25OHD были получены наиболее высокие значения площади под кривой (AUC = 0,95) при выявлении интерстициального фиброза более 10 %. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Снижение концентрации 25OHD в сыворотке крови на начальных стадиях экспериментальной ХБП и артериальной гипертензии независимо ассоциировано с развитием почечного фиброза.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, интерстициальный фиброз, 25OHD -гидроксивитамина D

*Е.О. Bogdanova¹, G.T. Ivanova², O.V. Galkina¹, I.M. Zubina¹, O.N. Beresneva¹,
M.M. Parastaeva¹, I.G. Kayukov¹, V.A. Dobronravov¹*

SERUM 25-HYDROXYVITAMIN D IS ASSOCIATED WITH RENAL FIBROSIS (EXPERIMENTAL STUDY)

¹Research Institute of Nephrology, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia; ²Laboratory of cardiovascular and lymphatic systems, I.P. Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Science, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

INTRODUCTION. Vitamin D deficiency is commonly observed in patients with chronic kidney disease (CKD) due to decreased biosynthesis of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ in damaged renal tubules and increased catabolism of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ and 25OHD_3 . There is a growing evidence that vitamin D deficiency may contribute to impaired kidney function. Interventional studies have shown that vitamin D and its analogs attenuate the progression of renal fibrosis in experiment, and reduce proteinuria in patients with CKD. The renoprotective effects of vitamin D go far beyond its classical role in maintaining bone and mineral metabolism, which is a result of its pleiotropic action. **THE AIM:** to investigate the association between 25OHD -hydroxyvitamin D (25OHD) level and renal fibrosis in spontaneously hypertensive rats (SHR) with early stages of experimental CKD. **MATERIAL AND METHODS.**

*Богданова Е.О. 197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корпус 54. Научно-исследовательский институт нефрологии Первого Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова. Тел.: +7(812)338-69-31; E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

*E.O. Bogdanova. 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Research Institute of Nephrology, Pavlov First Saint-Petersburg State Medical University. Phone: +7(812)338-69-31; E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Systolic blood pressure (BP), proteinuria, albuminuria, creatinine (Cr), urea (Ur), inorganic phosphate (Pi), 25OHD in serum were measured in nephrectomized (NE) and sham operated (SO) spontaneously hypertensive rats SHR (follow-up period 2, 4 and 6 months) and SO Wistar Kyoto rats (follow-up period 2 months), morphological light-optical study of kidney tissue was performed. **RESULTS.** The experimental model corresponded to the initial stages of CKD (Ur: 6.64 – 13.36 mmol/L). A significant increase in the area of renal fibrosis in animals with NE correlated with an increase in blood pressure ($r = 0.51$, $p < 0.001$), serum Cr ($r = 0.76$, $p < 0.001$), and albuminuria ($r = 0.64$, $p < 0.001$) and proteinuria ($r = 0.78$, $p < 0.001$) and a decrease in the concentration of 25OHD in serum ($r = -0.67$, $p < 0.001$). In multiple regression analyzes, a reliable association of fibrosis with 25OHD was maintained ($\beta = -0.28$, $p = 0.012$). In addition, in ROC-analysis the largest value of the area under the curve was obtained for 25OHD (AUC = 0.95) to detect interstitial fibrosis more than 10 %. **CONCLUSION.** 25OHD depression at the initial stages of experimental CKD and hypertension is independently associated with the development of renal fibrosis.

Keywords: chronic kidney disease, interstitial fibrosis, 25OH-hydroxyvitamin D

Для цитирования: Богданова Е.О., Иванова Г.Т., Галкина О.В., Зубина И.М., Береснева О.Н., Парастаева М.М., Каюков И.Г., Добронравов В.А. Уровень 25-гидроксивитамина D в циркуляции ассоциирован с выраженностью фиброза почки (экспериментальное исследование). *Нефрология* 2019;23(6):100-107. doi: 10.36485/1561-6274-2019-23-6-100-107

For citation: Bogdanova E.O., Ivanova G.T., Galkina O.V., Zubina I.M., Beresneva O.N., Parastaeva M.M., Kayukov I.G., Dobronravov V.A. Serum 25-hydroxyvitamin D is associated with renal fibrosis (experimental study). *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019;23(6):100-107. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2019-23-6-100-107

ВВЕДЕНИЕ

Почечный фиброз – основополагающий патофизиологический процесс при ХБП, приводящий к прогрессирующему снижению функции почек и терминальной недостаточности органа [1]. Важнейшими механизмами почечного фиброза являются активация фибробластов и эпителиально-мезенхимальная трансформация (ЭМТ) клеток канальцев. Известно о взаимосвязях между витамином D и интерстициальным фиброзом органов [2–4]. Действие активной формы витамина D [син.: $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, кальцитриол, D-гормон] выходит далеко за рамки регуляции кальций-фосфатного гомеостаза и также связано с клеточной пролиферацией и дифференцировкой, воспалением и иммунитетом [5, 6]. Результаты экспериментальных исследований подтверждают потенциальное нефропротективное действие витамина D и его аналогов [7–20]. Защитное действие витамина D связано с модуляцией многочисленных сигнальных путей, в том числе ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) [21], ядерного фактора- κB (NF- κB) [22], трансформирующего фактора роста- β (TGF- β)/Smad [23] и сигнального пути Wnt/ β -катенин [22], приводит к подавлению накопления внеклеточного матрикса, воспаления и клеточной гибели.

Предшественник витамина D – 25OHD является субстратом для превращения в биологически активную форму, и его дефицит является объективной причиной снижения $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Считалось, что уровень 25OHD не изменяется вплоть до поздних стадий ХБП, однако, получены экспериментальные данные о снижении уровня $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, в том числе из-за деградации 25OHD под действием катаболического фермента CYP24, активность которого существенно

возрастает при дисфункции почек [24]. В контексте новых данных исследование ассоциации между уровнем 25OHD и фибропластическими процессами в почках представляет существенный интерес, поскольку измерение 25OHD является несложным и доступным лабораторным тестом, а восполнение дефицита – относительно простой клинической задачей. Целью исследования являлся анализ взаимосвязей между уровнем 25OHD и ренальным фиброзом в экспериментальной модели дисфункции на фоне артериальной гипертензии.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Экспериментальная модель ХБП

Исследование выполнено на взрослых самцах крыс линии SHR массой 190–230 г и Wistar Kyoto (питомник «Колтуши»). Животных (N=60) содержали в стандартных условиях вивария Института физиологии им. 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 лабораторный корм фирмы «Информ-корм» (Россия) 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 применена хирургическая модель ХБП – нефрэктомия (NE) 3/4 [25]. Контролем хирургических моделей служили ложнопериовариованные (SO) крысы с соответствующими сроками наблюдения, нормотензивные SO крысы Wistar Kyoto служили контролем эксперимента (табл. 1). Всем животным выполняли измерение систолического артериального давления (АД) манжеточным методом [26].

Таблица 1 / Table 1

Экспериментальные группы**Experimental groups**

Модель	Продолжительность наблюдения, мес		
	2	4	6
SO WKY, n	WKY, 8	–	–
SO SHR, n	SO2, 8	SO4, 9	SO6, 8
NE SHR, n	NE2, 9	NE4, 10	NE6, 8

Примечание. WKY – крысы Wistar Kyoto; SHR – спонтанно гипертензивные крысы; SO – ложнопериоперированные; NE – нефрэктомия.

WKY – Wistar Kyoto rats; SHR – spontaneously hypertensive rats; SO – sham operated; NE – nephrectomy.

Биохимические исследования

За сутки до выведения из эксперимента крыс помещали в индивидуальные метаболические камеры и фиксировали для сбора мочи на 24 ч в условиях водной депривации. Взятие образцов крови осуществляли при выведении животных из эксперимента. Кровь и мочу центрифугировали при 1000 g в течение 30 мин. Аликвоты хранили при температуре -80°C до момента проведения исследований (не более 6 мес). Концентрацию неорганического фосфата (Pi), креатинина (Cr), мочевины (Ur), альбумина и общего белка определяли при помощи реагентов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе «СА-90» («Furuno», Япония). Концентрацию 25ОНD измеряли с использованием тест-системы «25ОН витамин D» («Abbott Laboratories», США) для количественного определения 25(ОН)D₂ и 25(ОН)D₃ [27] на анализаторе «ARCHITECT i2000SR» («Abbott Laboratories», США).

Гистологическое исследование

Фрагменты почки каждого животного (поперечный срез, 2 мм) фиксировали в 5% нейтральном формалине (pH 7,4) в течение 24 ч при комнатной температуре (22 °C). После стандартной обработки (обезживление и пропитка) из парафиновых блоков изготавливали серийные срезы толщиной 2 мкм. Препараты окрашивали анилиновым синим по Массону. Площадь интерстициального фиброза измеряли в 10 полях зрения для каждого гистологического микропрепарата при об. 20, ок. 10 с использованием АПК «Видео Тест-Морфология 5.2» (ООО «Видеотест», Россия) и выражали в % относительно площади поля зрения.

Статистический анализ

Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Me, 25%–75%). Для сравнения двух выборок использовали критерий Манна–Уитни, при сравнении большего числа вы-

борок – критерий Краскела–Уоллиса. Для оценки связей между переменными использовали непараметрический ранговый коэффициент корреляции Спирмена и множественный линейный регрессионный анализ. До включения в анализ некоторые переменные со смещенным распределением могли быть подвергнуты логарифмической трансформации. Для оценки прогностической значимости показателей использовали анализ ROC-кривых. Межгрупповые различия и регрессионные коэффициенты считали статистически значимыми при значении $p < 0,05$.

Исследования проведены в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации, ГОСТ 3-53434-2009 «Принципы надлежащей лабораторной практики», приказом Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики» при одобрении локальным этическим комитетом ПСПБГМУ им. И.П. Павлова.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Выполненная модель соответствовала начальным стадиям ХБП, поскольку уровень мочевины у животных на всех сроках после NE не превышал 13,4 ммоль/л (рис. 1, А), что, согласно классификации D. Ormrod и T. Miller, соответствует умеренной уремии [21]. Уровень мочевины SO SHR не отличался от SO Wistar Kyoto (см. рис. 1, А). Суммарный фиброз почки был значительно выше у крыс с NE при сравнении с SO животными (см. рис. 1, Б–Е) и увеличивался у животных с большей продолжительностью наблюдения, но не превышал 25% от площади ткани, что также свидетельствует о начальных стадиях хронической дисфункции почек. Концентрация 25ОНD в сыворотке крови была снижена в группах с NE и сроками наблюдения 4 и 6 мес при сравнении с соответствующим контролем (см. рис. 1, В). В общей выборке животных уровень 25ОНD негативно коррелировал с площадью суммарного фиброза почек (см. рис. 1, Г). Кроме того, площадь реального фиброза коррелировала с показателями функции почек – креатинином ($r = 0,76$, $p < 0,001$) и мочевиной сыворотки ($r = 0,68$, $p < 0,001$), альбуминурией ($r = 0,64$, $p < 0,001$) и протеинурией ($r = 0,78$, $p < 0,001$), а также уровнем сывороточного неорганического фосфата ($r = 0,59$, $p < 0,001$), систолическим артериальным давлением ($r = 0,51$, $p < 0,001$) и диурезом ($r = 0,68$, $p < 0,001$). У крыс SHR исходные значения АД до операции составили $178,3 \pm 12,3$ мм рт. ст. и были значительно

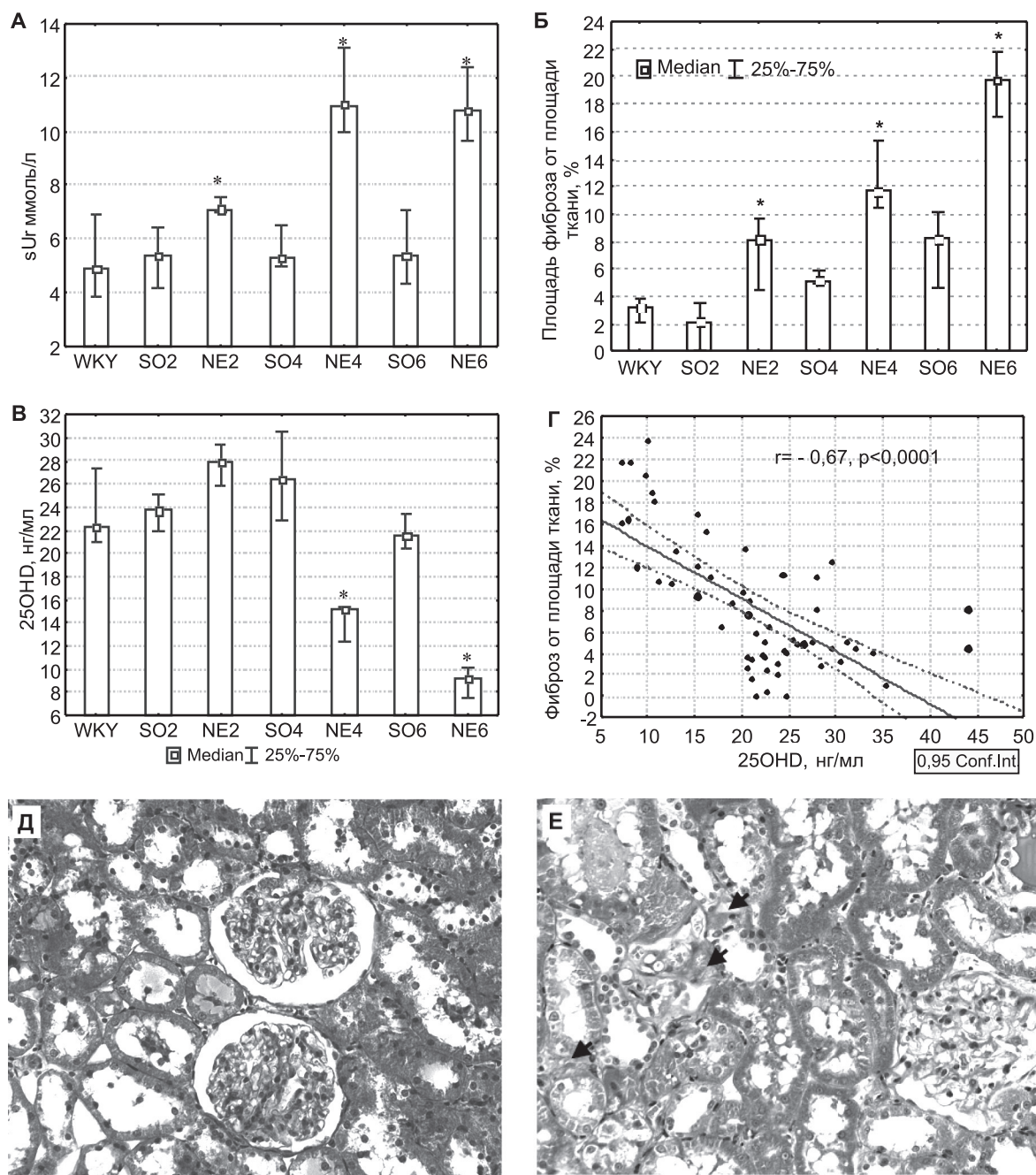


Рисунок 1. Функция почек и уровень 25OHD в моделях ХБП: А – концентрация мочевины в сыворотке крови (Ur); Б – площадь фиброза почки; В – концентрация 25OHD в сыворотке; Г – корреляция между уровнем 25OHD и ренальным фиброзом; Д – репрезентативные микрофотографии интерстициального фиброза (стрелки) почки ложнооперированного животного SO2 и Е – животного с нефрэктомией NE2 (трихромная окраска по Массону); * $p < 0,05$.

Figure 1. The kidney function and 25OHD in experimental CKD: А – serum urea (Ur), В – total renal fibrosis, С – serum 25OHD concentration, D – the correlation between 25OHD and renal fibrosis, E – representative micrographs of kidney interstitial fibrosis (arrows) in sham operated rat SO2 and F – nephrectomized rat NE2 (Masson's trichrome); * $p < 0,05$.

выше, чем у WKY – $131,8 \pm 12,1$ мм рт. ст. При сроке наблюдения 2 мес и NE происходил рост АД по сравнению с контролем ($p = 0,020$), при сроках 4 и 6 мес АД было повышено во всех группах по сравнению с SO2 ($p < 0,034$).

При множественном линейном регрессионном анализе с включением в модели лабораторных тестов, ассоциированных с фиброзом при корреля-

ционном анализе, обнаружена связь с уровнями 25OHD, креатинина сыворотки и систолическим артериальным давлением (табл. 2). Анализ ROC-кривых показал, что при выявлении почечного фиброза (более 10% от площади ткани почки) концентрация 25OHD в сыворотке крови является отличным классификатором, имеет большее значение AUC (площадь под кривой) (рис. 2, А)

Таблица 2 / Table 2

Множественный линейный регрессионный анализ связей между интерстициальным фиброзом почки и лабораторными показателями

Multiple linear regression analysis of associations between renal interstitial fibrosis and laboratory tests

Показатель, единицы измерения	β	SE(β)	p
25OHD, нг/мл	-0,37	0,09	<0,001
sCr, мкмоль/л	0,35	0,10	<0,001
sPi, ммоль/л	0,04	0,09	0,50
АД, мм рт. ст.	0,24	0,08	0,004
uAlb, мг/л	-0,05	0,10	0,62

Примечание. 25OHD – 25ОН-гидроксивитамин D; sCr – креатинин в сыворотке крови; Ur – мочевины; sPi – неорганический фосфат в сыворотке крови; BP – систолическое артериальное давление; D – диурез; uAlb – альбумин в моче; uTP – протеинурия. Скорректированный R^2 общей модели = 0,78 ($p < 0,001$). 25OHD – 25OH-hydroxyvitamin D, sCr – serum creatinine, Ur – urea, sPi – serum inorganic phosphate, BP – blood pressure, D – diuresis, uAlb – urine albumin, uTP – proteinuria. Adjusted $R^2 = 0,78$ ($p < 0,001$)

по сравнению с сывороточным креатинином (см. рис. 2, Б) и АД ($AUC = 0,73$).

ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время имеются опубликованные данные о взаимосвязи между активной формой витамина D и интерстициальным фиброзом [28–33]. Важнейшими механизмами ренального фиброза являются активация фибробластов и ЭМТ – процесс, при котором клетки почечных канальцев теряют свой эпителиальный фенотип и приобретают признаки мезенхимы [28]. Активация и пролиферация фибробластов запускаются локально секретируемыми фиброгенными цитокинами, такими как трансформирующий ростовой фактор- $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), фактор роста соединительной ткани

и хемотаксический белок-1 моноцитов [29, 30]. Среди этих фиброгенных цитокинов передача сигналов TGF- β инициирует проапоптотические эффекты и ЭМТ. Исследование на модели ренального фиброза показало, что активатор рецептора кальцитриола (VDR) парикальцитол эффективно предотвращает TGF- $\beta 1$ -индуцированное ЭМТ и накопление внеклеточного матрикса [31]. Согласно данным Yujing Sun и соавт., повышенный уровень витамина D, но не Pi или FGF23, может быть причиной значительно менее выраженного ренального фиброза у мышей с нокаутом гена *Klotho* (*kl/kl*) по сравнению с гетерозиготами *Kl/kl* при односторонней перевязке мочеточника [32]. Данные авторов указывали на то, что повышенный уровень витамина D у мышей *kl/kl* подавляет передачу сигналов TGF- β / Smad3, и это действие носит дозозависимый характер. Синтетический аналог витамина D, как сообщается X. Тап и соавт., ослабляет почечный интерстициальный фиброз при обструктивной нефропатии у мышей линии CD-1 посредством подавления экспрессии TGF- $\beta 1$ и его рецептора 1 типа [33]. Кроме того, фармакологические VDR-активаторы способствуют снижению протеинурии и фиброза почек, блокируя передачу сигналов Wnt / β -catenin при адриамицин-индуцированном повреждении подоцитов и протеинурии у мышей BALB/c [24]. Кальцитриол препятствует формированию миофибробластов и снижает экспрессию коллагена 1 типа за счет усиления экспрессии эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS), что было показано на модели фиброза почек у мышей Swiss Webster [33]. У мышей с нокаутом гена *VDR* развивается более серьезное повреждение почек с выраженной канальцевой атрофией и интерстициальным фиброзом при односторонней перевязке мочеточ-

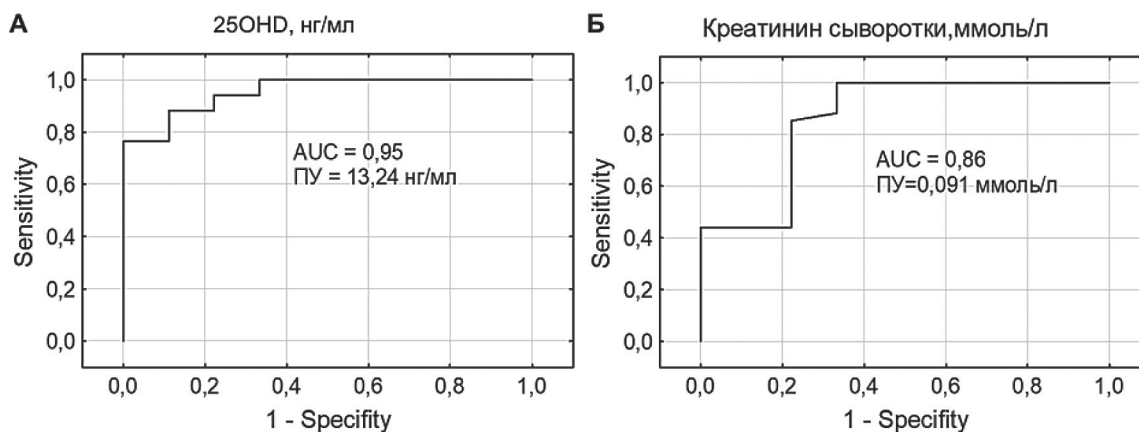


Рисунок 2. Анализ ROC-кривых для 25OHD (А), креатинина в сыворотке (Б) как показателей почечного фиброза (более 10 %). Figure 2. Receiver Operating Characteristic (ROC) curves for 25OHD (A) and serum creatinine (B) as variables of renal fibrosis (more than 10 %).

ника [24]. Таким образом, выявленная нами ассоциация между уровнем 25ОНD и фиброзом почки, с одной стороны, может быть обусловлена дефицитом субстрата (25ОНD) для синтеза D-гормона и снижением нефропротективного действия кальцитриола на начальных стадиях ХБП.

Принято считать, что снижение уровня циркулирующего 1,25(ОН)₂D₃ при ХБП связано с потерей 1α-гидроксилазы почек (CYP27B1) в результате повреждения канальцев нефронов [35, 36]. Однако низкий уровень 1,25(ОН)₂D₃ в сыворотке не во всех случаях ассоциирован с уменьшением экспрессии CYP27B1 [37]. Помимо нарушений синтеза 1,25(ОН)₂D₃, ускоренный катаболизм 1,25(ОН)₂D₃ и 25ОНD₃ также участвует в формировании дефицита кальцитриола при ХБП [24]. Предполагают, что митохондриальный цитохром CYP24 играет уникальную роль в катаболизме как 1,25(ОН)₂D₃, так и 25ОНD₃ при ХБП [38, 39]. Нокаут гена CYP24 значительно увеличивает период стабильности 1,25(ОН)₂D₃ и 25ОНD₃, подтверждая, тем самым, значимость данного цитохрома в гомеостазе витамина D [40, 41]. В уремической почке повышенный уровень экспрессии CYP24 сочетается с низким уровнем витамина D [24]. При экспериментальном моделировании хронического повреждения почек и у пациентов с ХБП наблюдается активация экспрессии мРНК и белка CYP24 [24]. Эти результаты показывают, что наблюдаемое нами снижение 25ОНD может объясняться катаболической активностью фермента CYP24. В данном случае связь с фиброзом является причиной дефицита предшественника D-гормона в условиях прогрессирования ХБП и роста активности CYP24. В то же время, наши данные полностью не исключают прямых эффектов 25ОНD в отношении почек, хотя возможные механизмы его действия требуют дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В экспериментальной модели начальных стадий хронической болезни почек и системной артериальной гипертензии выявлена отчетливая связь между снижением концентрации 25ОНD в сыворотке крови и выраженностью ренального фиброза. Молекулярные механизмы, которые могут лежать в основе этой ассоциации, требуют отдельного изучения.

Работа выполнена при поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (№18-315-00342, №18-015-00425).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК REFERENCES

- Okada H, Kalluri R. Cellular and molecular pathways that lead to progression and regression of renal fibro-genesis. *Curr Mol Med* 2005;5:467–474
- Tzilas V, Bouros E, Barbayanni I et al. Vitamin D prevents experimental lung fibrosis and predicts survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther* 2019;55:17–24. doi: 10.1016/j.pupt.2019.01.003
- Keane JT, Elangovan H, Stokes RA, Gunton JE. Vitamin D and the Liver—Correlation or Cause? *Nutrients* 2018;10(4):496. doi: 10.3390/nu10040496
- Rai V, Agrawal DK. Role of Vitamin D in Cardiovascular Diseases. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2017;46(4):1039–1059. doi: 10.1016/j.ecl.2017.07.009
- Makibayashi K, Tatematsu M, Hirata M et al. A vitamin D analog ameliorates glomerular injury on rat glomerulonephritis. *Am J Pathol* 2001;158:1733–1741.47. doi: 10.1016/S0002-9440(10)64129-6
- Kuhlmann A, Haas CS, Gross ML et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 decreases podocyte loss and podocyte hypertrophy in the subtotaly nephrectomized rat. *Am J Physiol Renal Physiol* 2004;286:F526–F533. doi: 10.1152/ajprenal.00316.2003
- Tan X, Li Y, Liu Y. Therapeutic role and potential mechanisms of active vitamin D in renal interstitial fibrosis. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007;103:491–496.34. doi: 10.1016/j.jsbmb.2006.11.011
- Deb DK, Sun T, Wong KE et al. Combined vitamin D analog and AT1 receptor antagonist synergistically block the development of kidney disease in a model of type 2 diabetes. *Kidney Int* 2010;77:1000–1009.35. doi: 10.1038/ki.2010.22
- Sanchez-Nino MD, Bozic M, Cordoba-Lanus E et al. Beyond proteinuria: VDR activation reduces renal inflammation in experimental diabetic nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;302:F647–F657. doi: 10.1152/ajprenal.00090.2011
- Tan X, Wen X, Liu Y et al. Paricalcitol inhibits renal inflammation by promoting vitamin D receptor-mediated sequestration of NF-kappa B signaling. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1741–1752. doi: 10.1681/ASN.2007060666
- Park JW, Bae EH, Kim IJ et al. Renoprotective effects of paricalcitol on gentamicin-induced kidney injury in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010;298:F301–F313. doi: 10.1152/ajprenal.00471.2009
- Park JW, Bae EH, Kim IJ et al. Paricalcitol attenuates cyclosporine-induced kidney injury in rats. *Kidney Int* 2010;77:1076–1085. doi: 10.1038/ki.2010.69
- Schwarz U, Amann K, Orth SR et al. Effect of 1,25 (OH)₂ vitamin D3 on glomerulosclerosis in subtotaly nephrectomized rats. *Kidney Int* 1998;53:1696–1705. doi: 10.1046/j.1523-1755.1998.00951.x
- He W, Kang YS, Dai C, Liu Y. Blockade of Wnt/beta-catenin signaling by paricalcitol ameliorates proteinuria and kidney injury. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:90–103. doi: 10.1681/ASN.2009121236
- Garcia IM, Altamirano L, Mazzei L et al. Role of mitochondria in paricalcitol-mediated cytoprotection during obstructive nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;302:F1595–F1605. doi: 10.1152/ajprenal.00617.2011
- Panichi V, Migliori M, Taccola D et al. Effects of 1,25(OH)₂D3 in experimental mesangial proliferative nephritis in rats. *Kidney Int* 2001;60:87–95. doi: 10.1046/j.1523-1755.2001.00775.x
- Park JW, Cho JW, Joo SY et al. Paricalcitol prevents cisplatin-induced renal injury by suppressing apoptosis and proliferation. *Eur J Pharmacol* 2012;683:301–309. doi: 10.1016/j.ejphar.2012.03.019
- Suh SH, Lee KE, Park JW et al. Antiapoptotic effect of paricalcitol in gentamicin-induced kidney injury. *Korean J Physiol Pharmacol* 2013;17:435–440. doi: 10.4196/kjpp.2013.17.5.435
- Kim CS, Joo SY, Lee KE et al. Paricalcitol attenuates 4-hydroxy-2-hexenal-induced inflammation and epithelial-mesenchymal transition in human renal proximal tubular epithelial cells. *PLoS One* 2013;8:e63186. doi: 10.1371/journal.pone.0063186

20. Tan X, Li Y, Liu Y. Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:3382–3393. doi: 10.1681/ASN.2006050520
21. Freundlich M, Quiroz Y, Zhang Z et al. Suppression of renin-angiotensin gene expression in the kidney by paricalcitol. *Kidney Int* 2008;74:1394–1402. doi: 10.1038/ki.2008.408
22. Zhang Y, Deb DK, Kong J et al. Long-term therapeutic effect of vitamin D analog doxercalciferol on diabetic nephropathy: strong synergism with AT1 receptor antagonist. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;297:F791–F801. doi: 10.1152/ajprenal.00247.2009
23. Li YC, Kong J, Wei M et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002;110:229–238. doi: 10.1172/JCI15219
24. Helvig CF, Cuerrier D, Hosfield CM et al. Dysregulation of renal vitamin D metabolism in the uremic rat. *Kidney Int* 2010;78(5):463–472. doi: 10.1038/ki.2010.168
25. Takahashi S, Okada K, Nagura Y et al. Three-quarters nephrectomy in rats as a model of early renal failure. *Nihon Jinzo Gakkai Shi* 1991;33(1):27–31
26. Богданова ЕО, Береснева ОН, Семенова НЮ и др. Почечная экспрессия белка α Klotho ассоциирована с гипертрофией миокарда (экспериментальное исследование). *Артериальная гипертензия* 2014;20(6):522–530
- Bogdanova EO, Beresneva ON, Semenova NYu et al. Renal expression of α Klotho protein is associated with myocardial hypertrophy (experimental study). *Arterial'naya gipertenziya (Saint-Petersburg)* 2014;20(6):522–530 (In Russ.)
27. Hutchinson K, Healy M, Crowley V et al. Verification of Abbott 25-OH-vitamin D assay on the architect system. *Pract Lab Med* 2017;7:27–35. doi: 10.1016/j.plabm.2017.01.001
28. Zeisberg M, Duffield JS. Resolved: EMT produces fibroblasts in the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1247–1253. doi: 10.1681/ASN.2010060616
29. Sato M, Muragaki Y, Saika S et al. Targeted disruption of TGF- β 1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *J Clin Invest* 2003;112:1486–1494. doi: 10.1172/JCI19270
30. Rampanelli E, Rouschop K, Teske GJ et al. CD44v3-v10 reduces the profibrotic effects of TGF- β 1 and attenuates tubular injury in the early stage of chronic obstructive nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2013;305:F1445–F1454. doi: 10.1152/ajprenal.00340.2013
31. Yoon HE, Yang CW. Established and newly proposed mechanisms of chronic cyclosporine nephropathy. *Korean J Intern Med* 2009;24:81–92. doi: 10.3904/kjim.2009.24.2.81
32. Sun Y, Zhou G, Gui T et al. Elevated serum 1,25(OH) $_2$ -vitamin D3 level attenuates renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction in kl/kl mice. *Sci Rep* 2014;4:6563. doi: 10.1038/srep06563
33. Tan X, Li Y, Liu Y. Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(12):3382–3393
34. Arfian N, Budiharjo S, Sekar Kencana SM et al. Reduces Myofibroblast Formation and Collagen 1 Expression Through Upregulating eNOS Expression in Kidney Fibrosis Model in Mice. doi: 10.1109/BIOMIC.2018.8610552
35. Mawer EB, Taylor CM, Backhouse J et al. Failure of formation of 1,25-dihydroxycholecalciferol in chronic renal insufficiency. *Lancet* 1973;1:626–628. doi: 10.1016/s0140-6736(73)92197-1
36. Satomura K, Seino Y, Yamaoka K et al. Renal 25-hydroxyvitamin D3-1-hydroxylase in patients with renal disease. *Kidney Int* 1988;34:712–716. doi: 10.1038/ki.1988.237
37. Zehnder D, Quinkler M, Eardley KS et al. Reduction of the vitamin D hormonal system in kidney disease is associated with increased renal inflammation. *Kidney Int* 2008;74:1343–1353. doi: 10.1038/ki.2008.453
38. Akiyoshi-Shibata M, Sakaki T, Ohyama Y et al. Further oxidation of hydroxycalcidiol by calcidiol 24-hydroxylase. A study with the mature enzyme expressed in *Escherichia coli*. *Eur J Biochem* 1994;224:335–343. doi: 10.1111/j.1432-1033.1994.00335.x
39. Beckman MJ, Tadikonda P, Werner E et al. Human 25-hydroxyvitamin D3-24-hydroxylase, a multicatalytic enzyme. *Biochemistry* 1996;35:8465–8472. doi: 10.1021/bi960658i

droxyvitamin D3-24-hydroxylase, a multicatalytic enzyme. *Biochemistry* 1996;35:8465–8472. doi: 10.1021/bi960658i

40. St-Arnaud R, Arabian A, Travers R et al. Deficient mineralization of intramembranous bone in vitamin D-24-hydroxylase-ablated mice is due to elevated 1,25-dihydroxyvitamin D and not to the absence of 24,25-dihydroxyvitamin D. *Endocrinology* 2000;141:2658–2666. doi: 10.1210/endo.141.7.7579

41. Masuda S, Byford V, Arabian A et al. Altered pharmacokinetics of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 and 25-hydroxyvitamin D3 in the blood and tissues of the 25-hydroxyvitamin D-24-hydroxylase (Cyp24a1) null mouse. *Endocrinology* 2005;146:825–834. doi: 10.1210/en.2004-1116

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

Сведения об авторах:

Богданова Евдокия Олеговна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-31; E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Иванова Галина Тажимовна, канд. биол. наук
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем, ст. науч. сотр. Тел.: +7(812)328-07-01; E-mail: tazhim@list.ru

Галкина Ольга Владимировна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, заведующая лабораторией биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-01; E-mail: ovgalkina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

Зубина Ирина Михайловна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-01; E-mail: zubina@list.ru

Береснева Ольга Николаевна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория клинической физиологии почек, ст. науч. сотр. Тел.: +7(812)346-39-26; E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

Парастаева Марина Магрезовна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория клинической физиологии почек, ст. науч. сотр. Тел.: +7(812)346-39-26; E-mail: parastaeva@list.ru

Проф. Каюков Иван Глебович, д-р мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, руководитель лаборатории клинической физиологии почек. Тел.: +7(981)815-39-49; E-mail: kvaka55@mail.ru. ORCID: 0000-0003-0793-5629

Проф. Добронравов Владимир Александрович, д-р мед. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, заместитель директора Научно-исследовательского института нефрологии по научной работе. Тел.: +7(812)338-69-01; E-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

About the authors:

Evdokia O. Bogdanova, PhD

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-31; E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Galina T. Ivanova, PhD, senior researcher

Affiliation: 199034, Russia, St. Petersburg, Makarova Emb., 6, I.P. Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences, Laboratory of physiology of cardiovascular and lymphatic systems. Phone: +7(812)328-07-01; E-mail: tazhim@list.ru

Olga V. Galkina, PhD in Biology

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Head of The Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-01; E-mail: ovgalkina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

Irina M. Zubina, PhD in Biology

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-01; E-mail: zubina@list.ru

Olga N. Beresneva, PhD, senior researcher

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney. Phone: +7(812)346-39-26; E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

Marina M. Parastaeva, PhD, senior researcher

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney. Phone: +7(812)346-39-26; E-mail: parastaeva@list.ru

Prof. Ivan G. Kayukov, MD, PhD, DMedSci

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Head of The Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney. Phone: +7(981)815-39-49; E-mail: kvaka55@mail.ru. ORCID: 0000-0003-0793-5629

Prof. Vladimir A. Dobronravov, MD, PhD, DMedSci

Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Research Institute of Nephrology, Vice-Director. Phone: +7(812)338-69-01; E-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

Поступила в редакцию: 23.08.2019

Принята в печать: 06.11.2019

Article received: 23.08.2019

Accepted for publication: 06.11.2019