

© Е.О. Богданова, Н.Ю. Семенова, О.Н. Береснева, О.В. Галкина, И.М. Зубина, Г.Т. Иванова, М.М. Парастаева, В.А. Добронравов, 2020
УДК 616.61-06 : 616.122-003.826] : 612.17

doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-93-101

Е.О. Богданова^{1}, Н.Ю. Семенова², О.Н. Береснева¹, О.В. Галкина¹,
И.М. Зубина¹, Г.Т. Иванова², М.М. Парастаева¹, В.А. Добронравов¹*

ПОВЫШЕННАЯ ЭКСПРЕССИЯ TRPC6 В КАРДИОМИОЦИТАХ КАК ОДИН ИЗ МЕХАНИЗМОВ ГИПЕРТРОФИИ МИОКАРДА ПРИ ДИСФУНКЦИИ ПОЧЕК

¹Научно-исследовательский институт нефрологии, Научно-клинический исследовательский центр, Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ²Научно-исследовательский отдел патоморфологии, Центр доклинических и трансляционных исследований, Институт экспериментальной медицины, Национальный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова, Санкт-Петербург, Россия; ³лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической системы, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Klotho – трансмембранный и циркулирующий протеин, преимущественно синтезируемый почками. Дефицит Klotho характерен для хронической болезни почек (ХБП), как и гипертрофии миокарда (ГМ). Кардиопротективное действие белка Klotho обусловлено негативной регуляцией разнообразных стрессовых сигналов, приводящих к активации гипертрофического внутриклеточного пути кальциневрин (CaN)/ NFAT в миокарде. Действие Klotho предположительно может быть опосредовано модуляцией Ca²⁺-каналов и/или факторов Foxo, существенных для передачи сигналов CaN. **ЦЕЛЬ:** исследовать активность сигнального пути кальциневрин/NFAT в миокарде и определить механизмы его регуляции при снижении Klotho, обусловленном экспериментальной ХБП у спонтанно-гипертензивных крыс (SHR). **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Для моделирования ХБП выполняли нефрэктомия (НЭ) 3/4 или 5/6 объема органа у крыс линии SHR. Контролем служили ложнооперированные (ЛО) SHR и крысы линии Вистар Киото (WKY). У всех животных измеряли систолическое артериальное давление, рассчитывали индекс массы миокарда – ИММ, клиренс креатинина, измеряли диаметр кардиомиоцитов (КМЦ), уровни Klotho в сыворотке крови (ИФА) и почке (ИГХ), анализировали экспрессию кальциневрина (ИГХ, ПЦР), транскрипционного фактора NFAT (ИГХ), Ca²⁺-каналов TRPC6 (ИГХ), экспрессию FOXO3A (ПЦР) и фосфорилированных Foxo1/3/4 (ИГХ) в миокарде. Выраженность экспрессии кальциневрина и TRPC6 в миокарде, Klotho в почке рассчитывали как долю площади специфического продукта ИГХ-реакции от площади поля зрения. При анализе экспрессии NFAT рассчитывали долю позитивно окрашенных ядер от количества ядер в поле зрения. Измерения выполняли в 10 полях зрения для каждого гистологического препарата. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Полученные модели соответствовали начальным стадиям ХБП. У крыс с НЭ наблюдали увеличение ИММ (p=0,005), диаметра КМЦ (p=0,002). Почечная экспрессия Klotho (p=0,019) и концентрация Klotho в сыворотке крови (p=0,020) были ниже при НЭ. ИММ и толщина КМЦ были независимо ассоциированы с уровнем белка Klotho почечного происхождения ($\beta=-0,38\pm0,16$, p=0,026, $\beta=-0,64\pm0,14$, p<0,001 соответственно). НЭ и системная гипертензия сопровождалась увеличением экспрессии гена кальциневрина (p=0,005) и кальциневрина в цитоплазме КМЦ (p=0,004), количества NFAT-позитивных ядер (p=0,007), ростом экспрессии гена FOXO3A (p<0,001) при отсутствии накопления фосфорилированных форм Foxo1/3/4 в цитоплазме КМЦ. Для крыс SHR было характерно выраженное позитивное ИГХ-окрашивание TRPC6 по сравнению с WKY (p=0,004). Экспрессия кальциневрина и TRPC6 изменялись сопоставительно (r=0,69, p<0,001), и оба этих показателя были ассоциированы с уровнем Klotho (кальциневрин vs Klotho в почке, r=-0,73, p<0,001; TRPC6 vs Klotho в сыворотке, r=-0,43, p=0,025). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Формирующийся на начальных стадиях ХБП системный дефицит белка Klotho ассоциирован с увеличением экспрессии Ca²⁺-каналов кардиомиоцитов и активацией гипертрофического сигнального пути кальциневрин/NFAT в кардиомиоцитах.

Ключевые слова: гипертрофия миокарда, хроническая болезнь почек, Klotho, кальциневрин, Ca²⁺-каналы, TRPC6, Foxo

Е.О. Bogdanova^{1}, N.Yu. Semenova², O.N. Beresneva¹, O.V. Galkina¹,
I.M. Zubina¹, G.T. Ivanova², M.M. Parastaeva¹, V.A. Dobronravov¹*

CARDIOMYOCYTE TRPC6 OVEREXPRESSION AS ONE OF THE MYOCARDIAL HYPERTROPHY MECHANISMS IN CHRONIC KIDNEY DYSFUNCTION

¹Institute of Nephrology Pavlov First Saint Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia; ²Research Department of Pathomorphology, Center for Preclinical and Translational Research, Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Center, St. Petersburg, Russia; ³Laboratory of cardiovascular and lymphatic systems physiology Pavlov Institute of Physiology RAS, Saint Petersburg, Russia

*Богданова Е.О. 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.: (812) 338-69-31; E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

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

ABSTRACT

BACKGROUND. Klotho is a transmembrane and circulating protein primarily synthesized by the kidney. Klotho deficiency characterizes chronic kidney disease (CKD), as myocardial hypertrophy (GM). The cardioprotective effect of the Klotho protein is due to the negative regulation of a variety of stress signals, leading to the activation of the hypertrophic intracellular signaling pathway calcineurin (CaN) / NFAT in the myocardium. The effect of Klotho may presumably be mediated by the modulation of Ca²⁺ channels and / or Foxo factors essential for CaN signaling. **THE AIM:** to study the activity of CaN / NFAT signaling pathway in the myocardium and to determine the molecular mechanisms of its regulation in conditions of Klotho level decrease in spontaneous hypertensive rats (SHR) with experimental CKD. **MATERIAL AND METHODS.** The experimental model of CKD was 3/4 or 5/6 nephrectomy (Nx) in SHR. Sham-operated (SO) SHR, and Wistar Kyoto rats (WKY) were used as controls. In all animals were measured systolic blood pressure, myocardial mass index – MMI, creatinine clearance, cardiomyocyte (CM) diameter, Klotho levels in serum (ELISA) and kidney (IHC), myocardial expression of calcineurin (IHC, PCR), transcription factor NFAT (IHC), TRPC6 (IHC), FOXO3A (PCR) and phosphor-Foxo1/3/4 (IHC). The tissue expressions of calcineurin, TRPC6, and Klotho were calculated as the IHC specific product area to the field of view ratio. NFAT expression was evaluated as the positively stained nuclei to the number of nuclei ratio in the field of view. Measurements were performed in 10 fields of view for each histology slide. **RESULTS.** The model has corresponded to the initial stages of CKD. The increase in MMI ($p = 0.005$) and CM diameter ($p = 0.002$) were observed compared in Nx rats to SO. Renal Klotho expression ($p < 0.001$), and serum Klotho level ($p = 0.019$) were lower in the Nx. In multiple linear regression analyzes, the values of MMI and CM thickness were independently associated with the level of renal Klotho protein ($\beta = -0.38 \pm 0.16$, $p = 0.026$, $\beta = -0.64 \pm 0.14$, $p < 0.001$, respectively). Nx and systemic hypertension were accompanied by an increase in the expression of the calcineurin gene ($p = 0.005$) and cytoplasmic calcineurin in CM ($p = 0.004$), the number of NFAT-positive nuclei ($p = 0.007$), and an increase in the expression of the FOXO3A gene ($p < 0.001$) in the absence of accumulation of phosphorylated Foxo1/3/4 in CM cytoplasm. SHR rats were characterized by positive IHC staining for TRPC6 compared to WKY ($p = 0.004$). The expression of calcineurin and TRPC6 varied co-directionally ($r = 0.69$, $p < 0.001$), and both of these indicators were associated with the Klotho levels (calcineurin vs Klotho in the kidney, $r = -0.73$, $p < 0.001$; TRPC6 vs Klotho in serum, $r = -0.43$, $p = 0.025$). **CONCLUSION.** The development of Klotho deficiency on early-stage CKD is associated with the expression of transient Ca²⁺ channels TRPC6 and activation of the calcineurin / NFAT hypertrophic signaling pathway in cardiomyocytes.

Keywords: myocardial hypertrophy, chronic kidney disease, Klotho, calcineurin, Ca channels, TRPC6, Foxo

Для цитирования: Богданова Е.О.*, Семенова Н.Ю., Береснева О.Н., Галкина О.В., Зубина И.М., Иванова Г.Т., Парастаева М.М., Добронравов В.А. Повышенная экспрессия trpc6 в кардиомиоцитах как один из механизмов гипертрофии миокарда при дисфункции почек. *Нефрология* 2020;24(4):93-101. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-93-101

For citation: Bogdanova E.O.*, Semenova N.Yu., Beresneva O.N., Galkina O.V., Zubina I.M., Ivanova G.T., Parastaeva M.M., Dobronravov V.A. Cardiomyocyte trpc6 overexpression as one of the myocardial hypertrophy mechanisms in chronic kidney dysfunction. *Nephrology* 2020;24(4):93-101 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-93-101

ВВЕДЕНИЕ

Хроническая болезнь почек (ХБП) ассоциирована с увеличением риска сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) [1]. Одним из главных механизмов ССЗ при ХБП является гипертрофия левого желудочка (ГЛЖ) [2]. Распространенность ГЛЖ у пациентов с ХБП С2–4 составляет 50–70% и достигает 95% к началу диализа [3–5], что значительно превышает число случаев в общей популяции (15–21%) [2]. Известные гемодинамические факторы – активность ренин-ангиотензиновой системы (РАС) [6], артериальная гипертензия [7], анемия [8] и задержка жидкости [9], ассоциированные с хроническим повреждением почек, во многом объясняют высокую распространенность ГЛЖ в популяции пациентов с ХБП. Однако с учетом многочисленных системных метаболических и эндокринных изменений, развивающихся по мере прогрессирования ХБП, очевидно существование дополнительных негемодинамических механизмов, связанных с развитием гипертрофии миокарда (ГМ). Экспериментальные и клинические исследования последних лет свидетельствуют о том, что дисбаланс неорганического фосфата (Pi) [10], дефицит белка Klotho [11, 12] и кальцитриола

[13, 14], сопутствующие начальным стадиям ХБП, приводят к изменениям эндокринных систем регуляторной оси почки–скелет [15], стимуляции образования паратиреоидного гормона (Pth), фактора роста фибробластов (Fgf23), синтеза остеопротегерина (Opg) и ингибиторов канонического Wnt (iWNT) – склеростина (Sost) и Dickkopf-1 (Dkk-1) [16]. Дисбаланс регуляторных сигнальных путей обмена скелета может оказывать прямое и опосредованное действия на сосуды и сердце.

Klotho – трансмембранный и циркулирующий протеин, преимущественно синтезируемый почками. Кардиопротективное действие белка Klotho обусловлено плеiotропными эффектами по отношению к важнейшим внутриклеточным сигнальным путям. Помимо способности взаимодействовать с FGF23/FGFR, секретируемый Klotho также является ловушкой для Wnt-лигандов и опосредует активацию рецепторов ростовых факторов (TGF- β , FGF1, IGF-I), модулирует нисходящие патогенетические сигналы, в том числе PI3K (фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат-3-киназный) сигнальный путь, препятствуя гиперактивации гипертрофического сигналинга кальциневрин/NFAT в миокарде [5]. Изменение экспрессии Ca²⁺-каналов кардиомиоцитов

(КМЦ) и инактивация факторов Foxo существенны для регуляции активности кальциневрин/NFAT, и оба регулируются PI3K [17–19]. Целью выполненной работы явилось исследование активности сигнального пути кальциневрин/NFAT в миокарде и определение механизмов его регуляции при снижении Klotho, обусловленном экспериментальной ХБП у спонтанно-гипертензивных крыс (SHR).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на взрослых самцах линии спонтанно гипертензивных крыс (SHR) и Вистар Киото (WKY) массой 190–230 г (питомник «Колтуши»). Животных 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 сбалансированный лабораторный корм с содержанием полноценного белка 20,16%, жиров 1,18%, углеводов 85,3%, кальция 1,03%, фосфата 0,8% и хлорида натрия 0,34% 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 (НЭ) 3/4 или 5/6 объема органа [21]. Контролем служили ложноперицизированные (ЛО) крысы SHR и WKY. Артериальное давление (АД) у животных измеряли манжеточным методом на хвосте за сутки до выведения из эксперимента. Измерение индекса массы миокарда (ИММ: соотношение массы органа к массе животного (мг/г)) выполняли при выведении животных из эксперимента. Сроки наблюдения составили 1 или 2 мес после операции (табл. 1).

Биохимические исследования За сутки до выведения из эксперимента крыс помещали в индивидуальные метаболические камеры для сбо-

ра мочи на 24 ч в условиях водной депривации. Взятие образцов крови происходило при выведении животных из эксперимента. Кровь и мочу центрифугировали при 1000 g в течение 30 мин. Аликвоты хранили при температуре –80 °С до момента выполнения исследований (не более 6 мес). Концентрацию креатинина (Cr) в сыворотке крови и моче, уровни альбуминурии и протеинурии (uTP) определяли с использованием реагентов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе «СА-90» («Furuno», Япония). Для измерения концентрации Klotho в сыворотке крови использовали тест-систему «ELISA Kit for Klotho» (Rat) (Cloud-Clone Corp., Китай).

Гистологические исследования. Фрагменты миокарда и почки каждого животного (поперечный срез толщиной 2 мм) фиксировали в 4% нейтральном формалине (pH 7,4) в течение 24 ч при комнатной температуре (22 °С). После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезживание и пропитка) из парафиновых блоков были изготовлены серийные срезы толщиной 1,5–2 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином-эозином и анилиновым синим по Массону. Экспрессию кальциневрина (1:100), TRPC6 (1:100), NFAT (1:100), Klotho (1:200), фосфорилированных Foxo1/3/4 (1:50) оценивали иммуноморфологическим методом (ThermoFisher Scientific, США). Выполняли температурную демаскировку антигена при pH 9 в течение 15 мин с использованием водяного термостата TW-2.02 (ELMI, Латвия). Эндогенную активность пероксидазы ликвидировали инкубацией в 3% растворе H₂O₂ в течение 10 мин, неспецифичное связывание антител блокировали 10 мин реагентом «Background Blocker» («DBS», США). Для визуализации результатов применяли систему REVEAL Biotin-Free Polyvalent DAB («Spring Bioscience», США). В качестве негативного контроля использовали срезы, инкубирован-

Таблица 1 / Table 1

Экспериментальные группы Experimental groups

Группа	Контроль, нормотония	Контроль, гипертензия	Ранняя ХБП	Контроль, гипертензия	Начальная ХБП
Количество крыс	8	9	9	9	8
Линия	WKY	SHR	SHR	SHR	SHR
Модель	ЛО	ЛО	3/4НЭ	ЛО	5/6НЭ
Продолжительность эксперимента, мес	2	1	1	2	2
Сокращенное наименование	ЛО	ЛО1	НЭ1	ЛО2	НЭ2

Примечание. WKY – крысы Вистар Киото; SHR – спонтанно гипертензивные крысы; ЛО – ложная операция; 3/4 НЭ – нефрэктомия 3/4 объема органа; 5/6 НЭ – нефрэктомия 5/6 объема органа.

WKY – Wistar Kyoto rats, SHR – spontaneously hypertensive rats, SO – sham-operated, 3/4Nx – 3/4 nephrectomy, 5/6Nx – 5/6 nephrectomy.

ные с TBS-буфером вместо первичных антител. Препараты подкрашивали гематоксилином, дегидратировали в спиртах, просветляли в ксилоле и заключали в среду Био Маунт («Bio-Optica», Италия).

Выраженность морфологических изменений оценивали методами 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–эозином, выполняли не менее 20 измерений в каждом поле зрения. 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 %. Площадь интерстициального фиброза миокарда измеряли на участках без сосудов, перивасальный фиброз оценивали отдельно. При анализе экспрессии NFAT рассчитывали долю позитивно окрашенных ядер от количества ядер в поле зрения. Экспрессию кальциневрина, TRPC6 и Klotho оценивали как долю площади специфического продукта ИГХ-реакции (в мкм²) от площади поля зрения.

ПЦР в реальном времени

Фрагменты миокарда банкировали в фиксаторе «IntactRNA» для стабилизации РНК в биологических образцах («Евроген», Россия) и хранили при температуре –80 °С до проведения исследований. Из образцов была выделена и очищена тотальная РНК («РИБО-золь» и «РИБО-сорб-С», ИнтерЛаб-Сервис, Россия), выполнена обработка очищенной тотальной РНК дезоксирибонуклеазой I («Thermo Scientific», США). Выполнена обратная транскрипция с использованием набора MMLV RT kit («Евроген», Россия). Амплификацию проводили на приборе ICycler («BioRad», США) с использованием готовой смеси qPCRmix-HS SYBR («Евроген», Россия). Каждый образец амплифицировали в трех пробирках, содержащих праймеры для кальциневрина A (PPP3CA, Forward 5'-cagtaactttcgagccagcc-3', Reverse 5'-gacttggcggaatggaacg-3'), кальциневрина B (PPP3RI, Forward 5'-agcttgacttggaactct-3', Reverse 5'-atatctaggccacctaacaac-3'), FOXO3A (Forward 5'-cagcacaagtcccccagtga-3', Reverse 5'-agtttgagggtctgtcttgc-3') и генов домашнего хозяйства GAPDH (Forward 5'-agatgggtgaagtcggtgtg-3', Reverse 5'-gatctcgctcctggaagatg-3'), HPRT1 (Forward 5'-gttggtacaggccagactt-3', Reverse 5'-gccacatcaacaggactctt-3'). Для каждой пары праймеров выполняли оценку эффективности ПЦР. Программа амплификации состояла из начальной денатурации

(95 °С, 3 мин) и 40 циклов, включавших денатурацию (94 °С, 20 с), отжиг праймеров и элонгацию (60 °С, 40 с). Экспрессию таргетного гена рассчитывали методом $\Delta\Delta C_t$ с учетом эффективности ПЦР.

Статистический анализ выполняли с помощью лицензионного программного обеспечения SAS Enterprise Guide 9.4. Данные представлены как медиана и интерквартильный размах (Me, Q1–Q3). 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 $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Характеристика полученных моделей. Полученные экспериментальные модели хронической дисфункции почек были сопоставимы с начальными стадиями ХБП, поскольку концентрация креатинина в сыворотке крови увеличивалась не более чем на 50 % по сравнению с контролем (табл. 2).

У крыс с нефрэктомией ИММ и диаметр КМЦ были выше по сравнению с соответствующим контролем (табл. 2). Хроническая дисфункция почек и гипертензия сопровождались более низкими значениями почечной экспрессии белка Klotho (рисунок 1,А) и концентрации Klotho в сыворотке крови (см. рисунок 1,Б). При множественном линейном регрессионном анализе в группе спонтанно гипертензивных животных значения ИММ ($\beta = -0,38 \pm 0,16$, $p = 0,026$) и толщины КМЦ ($\beta = -0,64 \pm 0,14$, $p < 0,001$) были независимо ассоциированы с уровнем белка Klotho в почке при коррекции модели по концентрации неорганического фосфата, паратиреоидного гормона, фактора роста фибробластов 23 в сыворотке крови, АД. При иммуногистохимическом исследовании цитоплазматическая экспрессия кальциневрина была более выражена у крыс с продолжительным воздействием гипертензии (ЛО2 vs ЛО1) и с нефрэктомией (НЭ1 vs ЛО1, НЭ2 vs ЛО2) (см. рисунок 1,Г). В группе НЭ2 увеличение площади экспрессии кальциневрина в миокарде сопровождалось достоверным повышением количества NFAT-позитивных ядер КМЦ (см. рисунок 1,Д) и увеличением экспрессии гена кальциневрина A (мРНК PPP3CA/GAPDH, HPRT1) (см. рисунок 1,В). Экспрессии гена FOXO3A (mRNA FOXO3A/GAPDH, HPRT1) в миокарде была выше у крыс с НЭ (см. рису-

Таблица 2 / Table 2

Характеристика экспериментальных групп

Characteristic of experimental groups

Модель (Model)	sCr, ммоль/л (sCr, mmol/l)	ИММ, мг/г (MMI, mg/g)	dКМЦ, мкм (dCM, um)	ПФ, % (PF, %)	ИФ, % (IF, %)
ЛО	0,037 (0,033–0,038)	2,49 (1,96–3,22)	13,1 (11,6–14,8)	3,6 (2,3–3,9)	1,1 (0,8–1,72)
ЛО1	0,032 (0,028–0,037)	2,99 (2,81–3,17)	14,6 (12,9–15,1)	6,1 (3,8–6,3)	3,1 (2,7–3,4)
НЭ1	0,054 (0,052–0,056) ¹	3,13 (3,02–3,24) ²	16,4 (15,2–16,9) ⁴	6,7 (4,7–8,4)	3,2 (3,1–3,9)
ЛО2	0,036 (0,034–0,036)	3,04 (2,85–3,38)	16,5 (16,1–16,7) ⁵	8,0 (6,6–8,2) ⁵	4,1 (2,7–6,0) ⁵
НЭ2	0,067 (0,064–0,072) ¹	3,37 (3,09–3,84) ³	19,2 (18,8–19,6) ⁶	14,7 (13,3–17,4) ⁶	7,4 (4,4–10,6) ⁶

Примечание. sCr – креатинин в сыворотке; ИММ – индекс массы миокарда; dКМЦ – диаметр кардиомиоцита; ПФ – периваскулярный фиброз; ИФ – интерстициальный фиброз.

sCr – serum creatinine, MMI – myocardial mass index, dCM – cardiomyocyte diameter, PF – perivascular fibrosis, IF – interstitial fibrosis.

¹ – $p < 0,001$ (vs ЛО1 и ЛО2, соответственно), ² – $p = 0,008$ (vs ЛО1), ³ – $p = 0,006$ (vs ЛО2), ⁴ – $p = 0,010$ (vs ЛО1), ⁵ – $p < 0,001$ (vs ЛО WKY), ⁶ – $p < 0,001$ (vs ЛО), $p = 0,002$ (vs ЛО1), ⁶ – $p < 0,001$ (vs ЛО, ЛО1).

нок 1,Е). Неактивных фосфорилированных форм Foxo1/3/4 в КМЦ при ИГХ-исследовании выявлено не было. Экспрессия TRPC6 в миокарде была выше при более продолжительном сроке повреждающего воздействия – нефрэктомии (см. рисунок 1,Ж) и изменялась сонаправленно с экспрессией кальциневрина ($r = 0,44$, $p = 0,021$). У крыс SHR оба этих показателя негативно коррелировали с уровнем Klotho: экспрессия кальциневрина с Klotho в почке ($r = 0,69$, $p < 0,001$) и TRPC6 – с концентрацией циркулирующего Klotho (см. рисунок 1,З).

ОБСУЖДЕНИЕ

Снижение свободного и трансмембранного Klotho типично для прогрессирующей ХБП [22–25], как и развитие кардиомиопатии [5, 26]. В ранее проведенных экспериментальных и клинических исследованиях была выявлена корреляция между супрессией Klotho в почке и циркуляции и развитием ГЛЖ [12, 26]. В настоящем исследовании мы также подтвердили наличие отчетливых взаимосвязей между дефицитом Klotho и макро- и микроскопическими индексами ГЛЖ, показав, что эти события развиваются на ранних стадиях экспериментальной дисфункции почек. Уровень Klotho был связан с ИММ и диаметром КМЦ независимо от других возможных факторов индукции ГЛЖ, в том числе уровня неорганического фосфата, паратиреоидного гормона и фактора роста фибробластов 23, что подтверждает сделанные ранее наблюдения [11, 25, 27]. Кроме того, нам удалось определить ряд молекулярных механизмов, ассоциированных с изменениями КМЦ – активацию TRPC6 и CaN/NFAT сигналинга.

Предположения о роли Klotho в развитии ГЛЖ находят подтверждение в интервенционных исследованиях на модели индоксилсульфат-индуцированной гипертрофии сердца у мышей с интактными почками. Внутривентрикулярное вве-

дение экзогенного Klotho было ассоциировано с уменьшением относительной массы сердца, толщины стенок желудочков и снижением экспрессии мРНК генов *BNP* (brain natriuretic peptide, мозговой натрийуретический пептид), *ANF* (atrial natriuretic factor, предсердный натрийуретический пептид) и β -*MHC* (β -myosin heavy chain, тяжелая цепь бета-миозина) сердца [12]. Авторы объясняли действие Klotho способностью блокировать MAPK/ ERK1/2 внутриклеточный сигнальный путь [12]. Вместе с тем, благодаря плеiotропной активности и способности взаимодействовать с различными внутриклеточными сигнальными путями действие Klotho на миокард не ограничивается регуляцией ROS/MAPK. В частности, секретируемый Klotho является ловушкой для Wnt-лигандов и рецепторов некоторых факторов роста (TGF- β , FGF1, IGF-I), модулируя их нисходящие сигналы, препятствуя гиперактивации PAC и гипертрофических сигнальных путей, в первую очередь, кальциневрин/NFAT в миокарде [6].

До настоящего времени данные о молекулярных механизмах действия Klotho на КМЦ были ограничены несколькими исследованиями генетических моделей с интактными почками или экспериментами *in vitro* [12, 28, 28]. В представляемом *in vivo* исследовании начальных стадий ХБП при системной гипертензии показано существенное увеличение экспрессии Ca^{2+} -каналов TRPC6 в кардиомиоцитах. Эти данные позволяют предполагать существенную роль Ca^{2+} -зависимого сигналинга в опосредованном дефицитом Klotho ремоделировании миокарда. Биологическая роль TRPC6 заключается в том, что эти каналы связывают стимулы окружающей среды (механический и оксидативный стресс) с внутриклеточными молекулярными изменениями кардиомиоцитов [32–37, 39]. В частности, Ca^{2+} -каналы играют ключевую роль в активации системы CaN/NFAT [28, 30, 31], ответственной за индукцию ги-

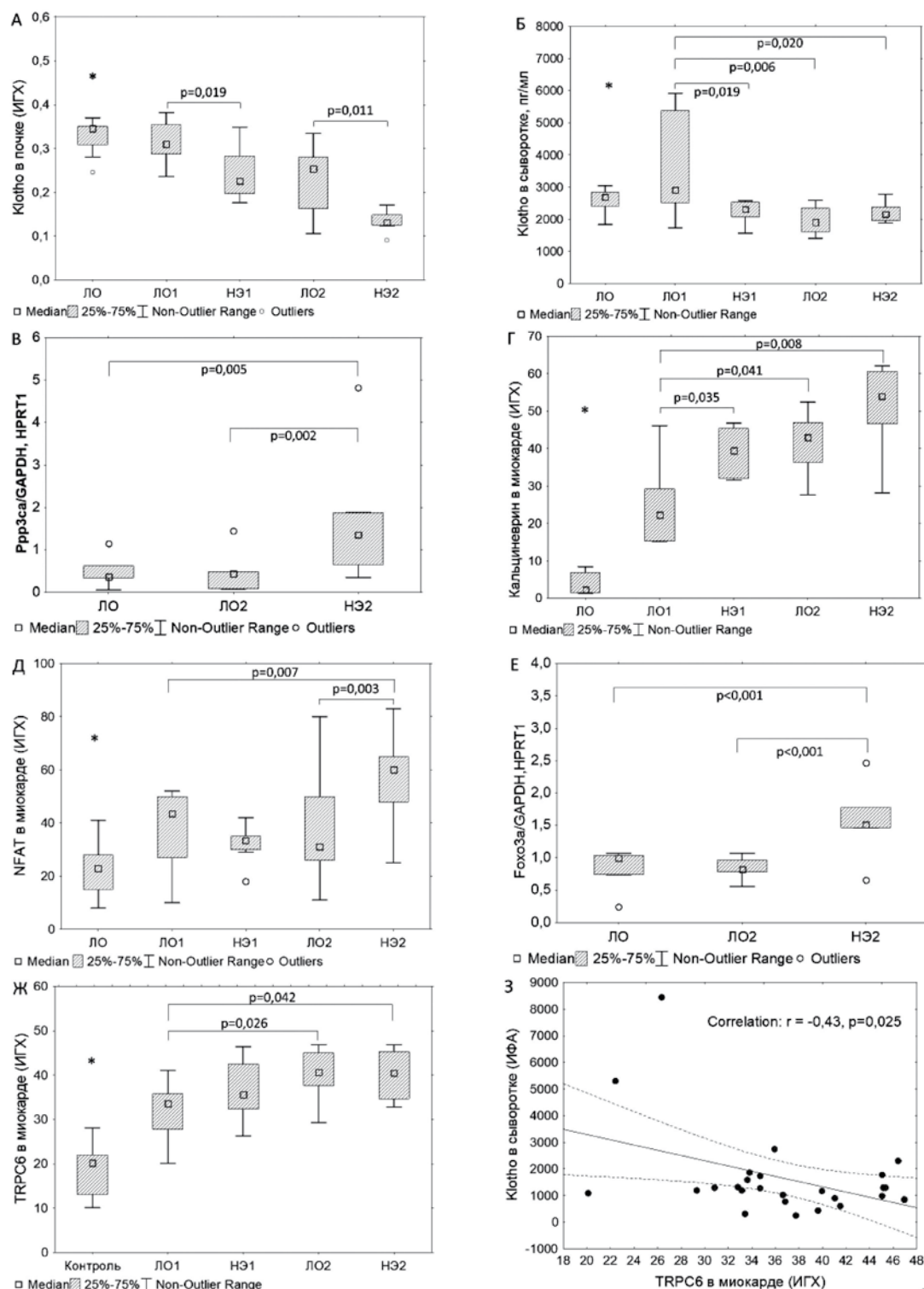


Рисунок. Уровень Klotho и экспрессия молекул сигнального пути кальциневрина в миокарде: А – экспрессия белка Klotho в почке (доля площади специфического продукта ИГХ-реакции); Б – концентрация белка Klotho в сыворотке; В – относительная экспрессия гена кальциневрина А в миокарде (мРНК *PPP3CA/GAPDH, HPRT1*); Г – экспрессия кальциневрина в миокарде (доля площади специфического продукта ИГХ-реакции); Д – экспрессия NFAT в миокарде (доля позитивно окрашенных ядер, ИГХ); Е – относительная экспрессия гена *FOXO3A* в миокарде (мРНК *FOXO3A/GAPDH, HPRT1*); Ж – экспрессия TRPC6 в миокарде (доля площади специфического продукта ИГХ-реакции); З – корреляция между концентрацией Klotho в сыворотке и экспрессией TRPC6 в миокарде в группе крыс SHR; * $p < 0,005$ при сравнении с группами крыс SHR.

Figure. Klotho levels and myocardial expression of calcineurin signaling pathway molecules: А – renal Klotho protein expression (the proportion of the specific IHC product area), В – serum concentration of Klotho protein, С – relative expression of calcineurin A gene (mRNA *PPP3CA/GAPDH, HPRT1*) in the myocardium, Г – myocardial calcineurin expression (the proportion of the specific IHC product area), Д – myocardial NFAT expression (the proportion of the positive stained nuclei), Е – relative expression of *FOXO3A* gene (mRNA *FOXO3A/GAPDH, HPRT1*) in the myocardium, F – myocardial TRPC6 expression (the proportion of the specific IHC product area), G – correlation between the serum Klotho level and myocardial TRPC6 expression (IHC) in SHR rats; * $p < 0,005$ vs SHR groups.

пертрофии миокарда. Экспериментальные данные свидетельствуют о более активной экспрессии мРНК и белка TRPC1/3-6 у крыс с индуцированной механическим стрессом гипертрофией сердца и нормальными почками [42–45]. Повышенная регуляция TRPC1/6 способствует усилению ответов, впоследствии активирующих путь CaN / NFAT, приводя к патологической гипертрофии миоцитов [42–44, 45]. В частности, показано, что гиперэкспрессия гена *TRPC6* приводит к спонтанной ГЛЖ у трансгенных мышей, в то время как гиперэкспрессия гена *KL* блокирует этот эффект [28].

В условиях ренальной дисфункции и гипертензии нами показано сопоставленное с изменениями TRPC6 увеличение экспрессии исследуемых компонентов сигнального пути CaN/NFAT и на уровне генов, и на уровне протеинов. С другой стороны – уровень ренального Klotho был негативно связан с экспрессией кальциневрина в миокарде, а циркулирующего белка Klotho – с экспрессией TRPC6. Эти данные, в целом, находятся в рамках основной гипотезы исследования и позволяют предполагать TRPC6-зависимую активацию CaN/ NFAT как механизм индукции ГЛЖ в условиях дефицита Klotho.

Проксимальным событием по отношению к активации TRPC6 является PI3K-сигнальный путь, который может быть активирован различными стрессовыми факторами, в том числе PAC, действие которой опосредовано инактивацией антагонистов кальциневрина – факторов Foxo [46]. Теоретически циркулирующий Klotho, который является негативным регулятором Wnt-сигналинга и Wnt-зависимой активации PAC, может снижать опосредованное ангиотензином-2 фосфорилирование Foxo, тем самым приводя к депрессии CaN/NFAT. Вместе с тем, полученные данные не подтвердили эту гипотезу, поскольку увеличение активности CaN/NFAT в примененных экспериментальных моделях не сопровождалось существенным увеличением фосфорилированной формы Foxo. С учетом этих результатов более вероятным механизмом в регуляции TRPC6 представляется связывание циркулирующего Klotho с остатками сиаловых кислот ганглиозидов плазматической мембраны и изменение структуры липидных рафтов, приводящее к нарушению сигналинга ростовых факторов (IGF-I) и ингибированию PI3K (фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфат-3-киназа)-зависимого экзоцитоза с встраиванием TRPC6 в плазмолемму КМЦ [28, 47].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В проведенном исследовании установлено, что системный дефицит белка Klotho на фоне началь-

ной дисфункции почек ассоциирован с развитием и прогрессированием гипертрофии миокарда. Молекулярной основой выявленной взаимосвязи являются увеличение экспрессии Ca²⁺-каналов кардиомиоцитов TRPC6 и активация сигнального пути кальциневрин/NFAT. Механизмы предполагаемой Klotho-опосредованной модуляции рецепторов на плазматической мембране клеток миокарда нуждаются в проведении дополнительных исследований.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда фундаментальных исследований (№18-315-00342).

This work was supported by the Russian Foundation for Basic Research (No. 18-315-00342).

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК REFERENCES

1. 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):1296–1305. doi:10.1056/NEJMoa041031
2. Faul C, Amaral AP, Oskouei B et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011;121(11):4393–4408. doi: 10.1172/JCI46122
3. Levin A, Singer J, Thompson CR et al. Prevalent left ventricular hypertrophy in the predialysis population: identifying opportunities for intervention. *Am J Kidney Dis* 1996;27(3):347–354 doi:10.1016/s0272-6386(96)90357-1
4. London GM, Pannier B, Guerin AP et al. Cardiac hypertrophy, aortic compliance, peripheral resistance and wave reflection in end-stage renal disease. Comparative effects of ACE inhibition and calcium channel blockade. *Circulation* 1994;90: 2786–2796. doi: 10.1161/01.cir.90.6.2786
5. Xie J, Yoon J, An SW et al. Soluble klotho protects against uremic cardiomyopathy independently of fibroblast growth factor 23 and phosphate. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:1150–1160. doi: 10.1681/ASN.2014040325
6. Nadruz W Myocardial remodeling in hypertension. *Journal of Human Hypertension* 2015;29:1–6. doi:10.1038/jhh.2014.36
7. 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):811–821. doi:10.1016/s0272-6386(96)90380-7
8. Silberberg JS, Barre PE, Prichard SS, Sniderman AD. Impact of left ventricular hypertrophy on survival in end stage renal disease. *Kidney Int* 1989;36:286–290. doi:10.1038/ki.1989.192
9. 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 117–137
10. Парастаева ММ, Береснева ОН, Кучер АГ и др. Содержание белка в рационе, ремоделирование миокарда и кальций-фосфорный гомеостаз у крыс с нефрэктомией. *Вестник Санкт-Петербургского университета. Серия 11. Медицина* 2014;4:196–204
11. Парастаева ММ, Береснева ОН, Кучер АГ et al. Protein content in the diet, myocardial remodeling and calcium-phosphorus homeostasis in rats with nephrectomy. *Bulletin of St. Petersburg University. Series 11. Medicine* 2014;4:196–204 (In Russ.)
12. Добронравов ВА, Богданова ЕО, Семенова НЮ и др. Почечная экспрессия белка αKlotho, фактор роста фибробластов 23 и паратиреоидный гормон при экспериментальном моделировании ранних стадий хронического повреждения почек. *Нефрология* 2014;18(2):72–78
13. Dobronravov VA, Bogdanova EO, Semenova NYu et al. Renal expression of αKlotho protein, fibroblast growth factor 23 and

parathyroid hormone in experimental modeling of early stages of chronic kidney damage. *Nephrology (Saint Petersburg)* 2014; 18(2): 72–78 (In Russ.)

12. Yang K, Wang C, Nie L et al. Klotho protects against indoxyl sulphate-induced myocardial hypertrophy. *Journal of the American Society of Nephrology* 2015;26(10):2434–2446. doi: 10.1681/ASN.2014060543

13. Xiang W, Kong J, Chen S 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

14. Wu-Wong JR Vitamin D therapy in cardiac hypertrophy and heart failure. *Curr Pharm Des* 2011;17(18):1794–1807. doi: 10.2174/138161211796391038

15. Добронравов ВА. Фосфат, почки, кости и сердечно-сосудистая система. *Нефрология* 2016;20(4):10–24

Dobronravov VA. Phosphate, kidneys, bones and cardiovascular system. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2016;20(4):10–24 (In Russ.)

16. Богданова ЕО, Береснева ОН, Зубина ИМ и др. Ингибиторы канонического сигнального пути Wnt и нарушение обмена неорганического фосфата при экспериментальной дисфункции почек. *Нефрология* 2019;23(6):83–91. doi: 10.36485/1561-6274-2019-236-83-91

Bogdanova EO, Beresneva OV, Zubina IM et al. Inhibitors of canonical Wnt signaling pathway and inorganic phosphate imbalance in experimental chronic kidney disease. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019;23(6):83–91 (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2019-236-83-91

17. Kim JH, Xie J, Hwang KH et al. Klotho May Ameliorate Proteinuria by Targeting TRPC6 Channels in Podocytes. *J Am Soc Nephrol* 2017;28(1):140–151. doi: 10.1681/ASN.2015080888

18. Mazzotta C, Manetti M, Rosa I et al. Proangiogenic effects of soluble α -Klotho on systemic sclerosis dermal microvascular endothelial cells. *Arthritis Res Ther* 2017;19(1):27. doi: 10.1186/s13075-017-1233-0

19. Kusaba T, Okigaki M, Matui A et al. Klotho is associated with VEGF receptor-2 and the transient receptor potential canonical-1 Ca²⁺ channel to maintain endothelial integrity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2010;107(45):19308–19313. doi: 10.1073/pnas.1008544107

20. Numaga-Tomita T, Nishida M. TRPC Channels in Cardiac Plasticity. *Cells* 2020;9(2):E454. doi: 10.3390/cells9020454

21. 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

22. Hu MC. The emerging role of Klotho in clinical nephrology. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27(7):2650–2657. doi: 10.1093/ndt/gfs160

23. Hu MC, Moe OW. Klotho as a potential biomarker and therapy for acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol* 2012;8(7):423–429. doi: 10.1038/nrneph.2012.92

24. Hu MC, Kuro-o M, Orson W. Secreted klotho and chronic kidney disease. *Adv Exp Med Biol* 2012;728:126–157. doi: 10.1007/978-1-4614-0887-1_9

25. Богданова ЕО, Галкина ОВ, Зубина ИМ и др. Klotho, фактор роста фибробластов 23 и неорганический фосфат на ранних стадиях хронической болезни почек. *Нефрология* 2016; 20(4):61–67

Bogdanova EO, Galkina OV, Zubina IM et al. Klotho, fibroblast growth factor 23 and inorganic phosphate in early stages of chronic kidney disease. *Nephrology (Saint Petersburg)* 2016;20(4):61–67 (In Russ.)

26. Cerasola G, Nardi E, Palermo A et al. Epidemiology and pathophysiology of left ventricular abnormalities in chronic kidney disease: A review. *J Nephrol* 2011;24:1–10. doi: 10.5301/jn.2010.2030

27. 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.)

28. Xie J, Cha SK, An SW et al. Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nat Commun* 2012;3:1238–1240. doi: 10.1038/ncomms2240

29. 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. doi: 10.1371/journal.pone.0082968

30. Saleem N, Prasad A, Goswami Sh K. Apocynin prevents isoproterenol-induced cardiac hypertrophy in rat. *Molecular and Cellular Biochemistry* 2018;445:79–88. doi: 10.1111/j.1749-6632.2009.05100.x

31. Houser SR, Molkentin JD. Does contractile Ca²⁺ control calcineurin-NFAT signaling and pathological hypertrophy in cardiac myocytes? *Sci Signal* 2008;1(25):pe31. doi: 10.1126/scisignal.125pe31

32. Cioffi DL. Redox regulation of endothelial canonical transient receptor potential channels. *Antioxid. Redox Signal* 2011;15:1567–1582. doi: 10.1089/ars.2010.3740

33. Yamaguchi Y, Iribe G, Nishida M, Naruse K. Role of TRPC3 and TRPC6 channels in the myocardial response to stretch: Linking physiology and pathophysiology. *Prog Biophys Mol Biol* 2017;130:264–272. doi: 10.1016/j.pbiomolbio.2017.06.010

34. Veit F, Pak O, Brandes RP, Weissmann N. Hypoxia-dependent reactive oxygen species signaling in the pulmonary circulation: Focus on ion channels. *Antioxid Redox Signal* 2015;22:537–552. doi: 10.1089/ars.2014.6234

35. Kozai D, Ogawa N, Mori Y. Redox regulation of transient receptor potential channels. *Antioxid Redox Signal* 2014;21:971–986. doi: 10.1089/ars.2013.5616

36. Ding Y, Winters A, Ding M et al. Reactive oxygen species-mediated TRPC6 protein activation in vascular myocytes, a mechanism for vasoconstrictor-regulated vascular tone. *J Biol Chem* 2011;286:31799–31809. doi: 10.1074/jbc.M512205200

37. Poteser M, Graziani A, Rosker C et al. TRPC3 and TRPC4 associate to form a redox-sensitive cation channel. Evidence for expression of native TRPC3-TRPC4 heteromeric channels in endothelial cells. *J Biol Chem* 2006;281:13588–13595. doi: 10.1074/jbc.M512205200

38. Maroto R, Raso A, Wood TG et al. TRPC1 forms the stretch-activated cation channel in vertebrate cells. *Nat Cell Biol* 2005;7:179–185. doi: 10.1038/ncb1218

39. Spassova MA, Hewavitharana T, Xu W et al. A common mechanism underlies stretch activation and receptor activation of TRPC6 channels. *Proc Natl Acad Sci USA* 2006;103:16586–16591. DOI: 10.1073/pnas.0606894103

40. Sabourin J, Boet A, Rucker-Martin C et al. Ca(2+) handling remodeling and STIM1L/Orai1/TRPC1/TRPC4 upregulation in monocrotaline-induced right ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2018;118:208–224. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.04.003

41. Jiang Y, Huang H, Liu P et al. Expression and localization of TRPC proteins in rat ventricular myocytes at various developmental stages. *Cell Tissue Res* 2014;355(1):201–212. doi: 10.1007/s00441-013-1733-4

42. Sabourin J, Boet A, Rucker-Martin C et al. Ca(2+) handling remodeling and STIM1L/Orai1/TRPC1/TRPC4 upregulation in monocrotaline-induced right ventricular hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2018;118:208–224. doi: 10.1016/j.yjmcc.2018.04.003

43. Ohba T, Watanabe H, Murakami M et al. Upregulation of TRPC1 in the development of cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Cardiol* 2007;42:498–507. doi: 10.1016/j.yjmcc.2006.10.020

44. Chen MS, Xiao JH, Wang Y et al. Upregulation of TRPC1 contributes to contractile function in isoproterenol-induced hypertrophic myocardium of rat. *Cell Physiol Biochem Int J Exp Cell Physiol Biochem Pharmacol* 2013;32:951–959. doi: 10.1159/000354498

45. Kuwahara K, Wang Y, McAnally J et al. TRPC6 fulfills a calcineurin signaling circuit during pathologic cardiac remodeling. *J Clin Invest* 2006;116:3114–3126. doi: 10.1172/JCI27702

46. Ni YG, Berenji K, Wang N et al. Foxo transcription factors

blunt cardiac hypertrophy by inhibiting calcineurin signaling. *Circulation* 2006;114(11):1159–1168

47. Dalton G, An S-W, Al-Juboori S I et al. Soluble klotho binds monosialoganglioside to regulate membrane microdomains and growth factor signaling. *PNAS* 2017;114(4):752–757. doi: 10.1073/pnas.1620301114

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.: (812) 338-69-31; E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Семенова Наталья Юрьевна, канд. биол. наук
197341, Россия, Санкт-Петербург, ул. Аккуратова, д. 2. Национальный исследовательский центр им. В.А. Алмазова, Институт экспериментальной медицины, центр доклинических и трансляционных исследований, Научно-исследовательский отдел патоморфологии. Тел.: (812)338-69-31; E-mail: natyciel87@gmail.com. ORCID: 0000-0002-5595-3832

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 почки. Тел.: (812)338-69-31; E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID 0000-0002-7532-2405

Галкина Ольга Владимировна, 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.: (812) 338-69-31; 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, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория биохимического гомеостаза. Тел.: (812)338-69-31; E-mail: zubina@list.ru. ORCID 0000-0001-8491-7016

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 системы. Тел.: (812)328-11-01; e-mail: pavlov.institute@infran.ru. ORCID 0000-0003-0188-5173

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 почки. Тел.: (812) 338-69-01; E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID 0000-0002-4526-8671

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, Научно-исследовательский институт нефрологии, заместитель директора. Тел.: (812)338-69-01; E-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

About the authors:

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

Natalia Y. Semenova, PhD
Affiliations: 197341, Russia, St. Petersburg, Akkuratova st., 2, Almazov National Medical Research Center Institute of Experimental Medicine Center for Preclinical and Translational Research Pathomorphology Research Department. Phone: (812)338-69-31; Email: natyciel87@gmail.com. ORCID: 0000-0002-5595-3832

Olga N. Beresneva PhD
Affiliations: 197022 Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University Institute of Nephrology Laboratory of Kidney Clinical Physiology. Phone: (812)338-69-31; E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID 0000-0002-7532-2405

Olga V. Galkina PhD
Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University Institute of Nephrology Laboratory of Biochemical Homeostasis, head. Phone: (812)338-69-31; E-mail: ovgalkina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

Irina M. Zubina PhD
Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University Institute of Nephrology Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: (812)338-69-31; E-mail: zubina@list.ru, ORCID: 0000-0001-8491-7016

Galina T. Ivanova PhD
Affiliations: 199034, Russia, St. Petersburg, seafont Makarova, build. 6. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences Laboratory of cardiovascular and lymphatic systems physiology. Phone: (812)328-11-01; E-mail: pavlov.institute@infran.ru. ORCID: 0000-0003-0188-5173

Marina M. Parastaeva PhD
Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University Institute of Nephrology Laboratory of Kidney Clinical Physiology. Phone: (812)338-69-01; E-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-4526-8671

Prof. Vladimir A. Dobronravov, MD, PhD, DSc
Affiliations: 197022, Russia, St. Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University Institute of Nephrology, Vice Director. Phone: (812)338-69-01; E-mail: dobronravov@nephrolog.ru ORCID: 0000-0002-7179-5520

Поступила в редакцию: 10.02.2020

Принята в печать: 20.05.2020

Article received: 10.02.2020

Accepted for publication: 20.05.2020