

© Е.О. Богданова, О.Н. Береснева, И.М. Зубина, Г.Т. Иванова, М.М. Парастаева, О.В. Галкина, В.А. Добронравов, 2020
УДК 616.12-008.331.1 +616.61-036.12]: 616.127 : 61.001.57

doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-6-85-92

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

КАНОНИЧЕСКИЙ WNT СИГНАЛИНГ И РЕМОДЕЛИРОВАНИЕ МИОКАРДА ПРИ АРТЕРИАЛЬНОЙ ГИПЕРТЕНЗИИ И ХРОНИЧЕСКОЙ ДИСФУНКЦИИ ПОЧЕК

¹Научно-исследовательский институт нефрологии, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия; ²лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической системы, Институт физиологии имени И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Бета-катенин является структурным белком адгезионных контактов и вставочных дисков кардиомиоцитов и главным внутриклеточным мессенджером канонического сигнального пути WNT. Дисбаланс канонического WNT сигналинга, как и перестройка цитоскелета кардиомиоцитов, сопровождают формирование сердечно-сосудистых нарушений при хронической болезни почек. **ЦЕЛЬ:** исследовать экспрессию бета-катенина, кальциневрина А и TGF- β 1 в миокарде при моделировании хронической болезни почек у спонтанно гипертензивных крыс (SHR) и крыс Вистар Киото (WKY) соответствующего возраста. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** У ложнооперированных (ЛО) крыс WKY, SHR и SHR с нефрэктомией (НЭ) 5/6 объема органа измеряли систолическое артериальное давление (АД), частоту сердечных сокращений (ЧСС), индекс массы миокарда (ИММ), концентрацию креатинина (Cr), экспрессию бета-катенина в миокарде и Klotho в почке, выполняли морфологическое исследование миокарда. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** У крыс SHR наблюдали более высокие значения АД, ИММ, диаметра кардиомиоцитов, площади фиброза и низкие уровни Klotho. При НЭ функция почек и уровень Klotho снижались, рост АД и ремоделирование миокарда прогрессировали. При НЭ увеличение диаметра кардиомиоцитов и площади фиброза миокарда сопровождалось экспрессией β -катенина, кальциневрина А и TGF- β 1 в кардиомиоцитах. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Полученные данные позволяют предполагать участие активации канонического Wnt-сигналинга и клеточных программ гипертрофии кардиомиоцитов, опосредованных дефицитом Klotho, в ремоделировании миокарда при хронической дисфункции почек.

Ключевые слова: ремоделирование миокарда, гипертрофия миокарда, кардиомиоциты, хроническая болезнь почек, артериальная гипертензия, Klotho, канонический сигнальный путь WNT, β -катенин

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

CANONICAL WNT SIGNALING AND MYOCARDIAL REMODELING IN ARTERIAL HYPERTENSION AND CHRONIC KIDNEY DYSFUNCTION

¹Research Institute of Nephrology, Pavlov University, Saint Petersburg, Russian Federation; ²Laboratory of cardiovascular and lymphatic systems physiology Pavlov Institute of Physiology RAS, Saint Petersburg, Russia

ABSTRACT

INTRODUCTION. Beta-catenin is a structural protein of adhering junction and intercalated discs of cardiomyocytes as well as the main intracellular messenger of the canonical WNT (cWNT) signaling pathway. The dysregulation of the cWNT signaling and the rearrangement of the cardiomyocyte cytoskeleton accompany the cardiovascular disorders in chronic kidney disease (CKD). **THE AIM:** to investigate the expression and distribution of β -catenin, calcineurin A, and TGF- β 1 in the myocardium of spontaneously hypertensive rats (SHR) with CKD, sham operated SHR and Wistar Kyoto rats of the corresponding age. **MATERIAL AND METHODS.** Systolic blood pressure (BP), heart rate (HR), myocardial mass index (MMI), creatinine concentration (Cr), myocardial beta-catenin expression and renal Klotho expression, morphological light-optical study of kidney and myocardium tissues was performed in sham operated (SO) Wistar Kyoto rats (WKY), spontaneously hypertensive rats (SHR) and SHR with 5/6 nephrectomy (Nx). **RESULTS.** SHR rats showed higher values of BP, MMI, cardiomyocyte diameter, myocardial fibrosis area, and lower Klotho levels compared to WKY rats. Nx SHR had lower kidney function and renal Klotho expression,

Контактная информация:

*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.: +7(812)338-69-31; e-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com. ORCID: 0000-0003-1969-1959

Corresponding author:

*E.O. Bogdanova. 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov 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

higher BP and MMI compared to SHR. An increase in the cardiomyocytes diameter and the area of myocardial fibrosis was accompanied by the overexpression of β -catenin, calcineurin A, and TGF- β 1 in the myocardium. **CONCLUSION.** The upregulation of canonical Wnt signaling and cellular programs of cardiomyocyte hypertrophy mediated by Klotho deficiency can be involved in myocardial remodeling in chronic renal dysfunction.

Keywords: cardiac hypertrophy, chronic kidney disease, arterial hypertension, beta-catenin, Klotho, canonical WNT signaling pathway

Для цитирования: Богданова Е.О., Береснева О.Н., Зубина И.М., Иванова Г.Т., Парастаева М.М., Галкина О.В., Добронравов В.А. Канонический WNT сигналинг и ремоделирование миокарда при артериальной гипертензии и хронической дисфункции почек. *Нефрология* 2020;24(6):85-92. doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-6-85-92

For citation: Bogdanova E.O., Beresneva O.N., Zubina I.M., Ivanova G.T., Parastaeva M.M., Galkina O.V., Dobronravov V.A. Canonical WNT signaling and myocardial remodeling in arterial hypertension and chronic kidney dysfunction. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2020;24(6):85-92 (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-6-85-92

ВВЕДЕНИЕ

Ремоделирование миокарда (PM: гипертрофия кардиомиоцитов и интерстициальный фиброз) – главный предиктор аритмий, инфаркта, острой и хронической сердечной недостаточности [1]. PM обусловлено общими гемодинамическими механизмами [2] и негемодинамическими факторами, в первую очередь, активацией нейрогуморальных систем регуляции и их эффекторов, ростовыми факторами и цитокинами [3]. Нарушение функции почек связано с действием многочисленных факторов, способных вызывать PM, – ишемии, атеросклероза и артериосклероза, окислительного стресса, уремических токсинов, дефицита витамина D и белка Klotho, гиперпродукцией фактора роста фибробластов 23 и пр. [4–7]. Действие перечисленных систем связано с индукцией эмбриональных программ клеточного роста, включая внутриклеточный канонический сигнальный путь WNT [8]. Системная дисрегуляция WNT сигналинга является патогенетической чертой хронической болезни почек (ХБП) [9]. На клеточном уровне активность WNT характеризуется аккумуляцией в цитоплазме и ядрах внутриклеточного мессенджера β -катенина [9]. В норме β -катенин также экспрессируется в кардиомиоцитах, где служит связующим звеном между N-кадгерином адгезионных контактов и актиновым цитоскелетом [10]. Показано, что комплекс N-кадгерин/ β -катенин является важным регулятором функции вставочных дисков кардиомиоцитов [9]. При повышенной экспрессии кадгерина конкурируют за пул β -катенина, в то время как снижение уровня кадгерина, напротив, может усилить передачу сигналов WNT [11]. Конститутивная экспрессия β -катенина приводит к гипертрофическому росту в культуре взрослых миоцитов сердца [12], а тканеспецифичная делеция β -катенина в сердце ослабляет гипертрофический ответ на трансортальную констрикцию *in vivo* [13].

Чтобы исследовать роль β -катенина при PM, вызванном артериальной гипертензией (АГ) и хронической дисфункцией почек (ДП), была проанализирована локализация экспрессии β -катенина в миокарде контрольных нормотензивных крыс, спонтанно-гипертензивных крыс SHR и крыс SHR с ХБП. В результате было продемонстрировано, что сочетание АГ и ДП было связано с накоплением β -катенина в цитоплазме и ядрах кардиомиоцитов и фибробластов сердца, что может свидетельствовать об активации канонического WNT сигналинга.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на взрослых самцах крыс линии Вистар Киото и спонтанно гипертензивных крыс (SHR) 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 хронической дисфункции почек – нефрэктомия (НЭ) 5/6 объема органа. Контролем служили ложнопериорированные (ЛО) крысы SHR и Вистар Киото (таблица). Измерение систолического артериального давления (АД) выполняли 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

Таблица / Table

Характеристика экспериментальных групп
Characteristic of experimental groups

Группа	1	2	3
Линия крыс	Вистар Киото	Спонтанно гипертензивные крысы	
Модель	Контроль	АГ	АГ+ДП
Период наблюдения, мес	2	2	2
Хирургическое воздействие	ЛО	ЛО	НЭ
Количество крыс, n	5	5	5
sCr, ммоль/л	0,037 (0,033–0,038)	0,036 (0,034–0,036)	0,067 (0,064–0,072) ^{p2-3=0,007}
АД, мм рт. ст.	135 (130–142)*	198 (190–205)	210 (200–220) ^{p2-3=0,031}
ЧСС, уд/мин	401 (393–417)	400 (371–428)	412 (380–443)
ИММ, мг/г	2,47 (2,13–2,79)*	3,03 (2,89–3,17)	3,31 (3,11–3,51) ^{p2-3=0,045}
dКМЦ, мкм	13,1 (11,6–14,8)*	16,5 (16,1–16,7)	19,2 (18,8–19,6) ^{p2-3=0,015}
Фиброз, %	2,4 (1,6–2,8)*	6,0 (4,9–6,1)	11,1 (10,4–13,1) ^{p2-3=0,025}
rKlotho, % поля зрения	34,5 (30,9–35,1)*	25,3 (16,2–27,9)	13,1 (12,5–14,8) ^{p2-3=0,011}

Примечание. АГ – артериальная гипертензия; ДП – хроническая дисфункция почек; ЛО – ложная операция; НЭ – нефрэктомия; sCr – креатинин в сыворотке крови; АД – артериальное давление; ИММ – индекс массы миокарда; dКМЦ – диаметр кардиомиоцита; rKlotho – экспрессия белка Klotho в почке; * p<0,014 при попарном сравнении контрольной группы (Вистар Киото) с группами SHR.

АН – arterial hypertension; RD – chronic renal disfunction; SO – sham-operated; Nx – nephrectomy; sCr – serum creatinine; BP – blood pressure; MMI – myocardial mass index; dCM – cardiomyocyte diameter; rKlotho – renal Klotho protein; * p <0.014 in control group (Wistar Kyoto) vs SHR groups.

Н-338-2П (Россия) при скорости протяжки бумажной ленты 10 мм/с. По электрограмме определяли частоту сердечных сокращений (ЧСС) за 1 мин регистрации. Для каждой крысы выполняли 4–5 замеров АД и рассчитывали среднее значение трех последних измерений. Индекс массы миокарда (ИММ, мг/г) рассчитывали как отношение массы миокарда (мг) к массе крысы (г). За сутки до выведения из эксперимента крыс помещали в индивидуальные метаболические камеры для сбора 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) определяли модифицированным методом Яффе с использованием реагентов фирмы «Витал Девелопмент Корпорэйшн» (Россия) на биохимическом автоматическом анализаторе «СА-90» («Furuno», Япония).

Фрагменты миокарда и почки каждого животного (поперечный срез толщиной до 2 мм) фиксировали в 4% нейтральном формалине (рН 7,4) в течение 24 ч при комнатной температуре (22 °С). После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезживание и пропитка) из парафиновых блоков изготавливали серийные срезы толщиной 1,5–2 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином и эозином и анилиновым синим по Массону. Экспрессию бета-катенина (GeneTex, США) в миокарде и Klotho в почке (Abcam, Великобритания)

оценивали иммуноморфологическим методом. Выполняли температурную демаскировку антигена в Трис-ЭДТА буфере рН 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. Для визуализации результатов применяли систему REVEALBiotin-Free Polyvalent DAB («Spring Bioscience», США). Препараты подкрашивали гематоксилином, дегидратировали в спиртах, просветляли в ксилоле и заключали в среду Био Маунт («Bio-Optica», Италия). В качестве негативного контроля использовали срезы, где вместо первичных антител выполняли инкубацию с TBS-буфером (контроль системы детекции) или неспецифичными первичными антителами (контроль первичных антител). Выполняли постановку негативного и позитивного тканевых контролей.

Выраженность морфологических изменений оценивали методом количественной морфометрии в программе «Видео Тест-Морфология 5.2» (ООО «Видеотест», Россия). В каждом препарате анализировали 10 полей зрения. Диаметр кардиомиоцитов (КМЦ) измеряли в мкм при окуляре x10 и объективе x40 на срезах, окрашенных гематоксилином и эозином, выполняли не менее 20 измерений в каждом поле зрения. Площадь фиброза миокарда измеряли при окуляре x10 и объективе x20 на срезах, окрашенных по Массону, и рассчитывали как отношение площади коллагенового фиброза к площади поля зрения в%. Экспрессию бета-катенина в миокарде и Klotho в почке оцени-

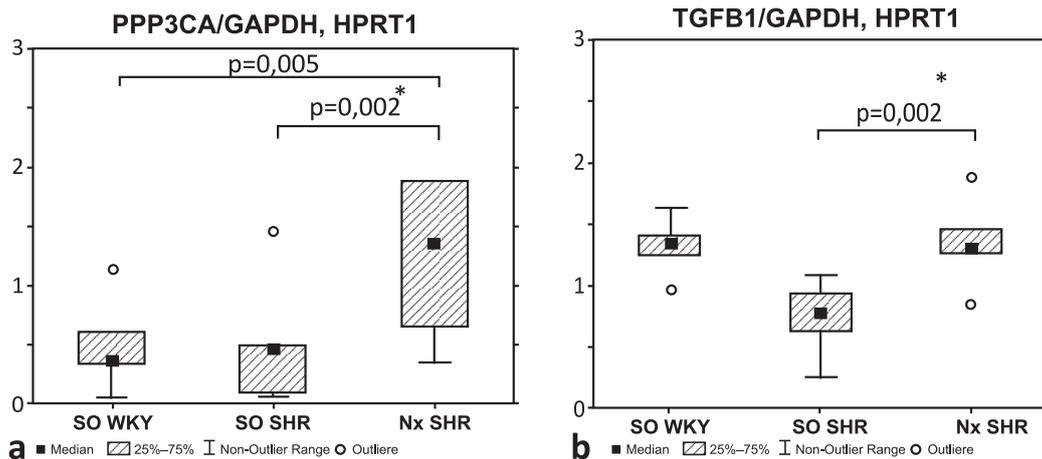


Рисунок 1. Относительная экспрессия генов кальциневрина А (а) и TGF- β 1 (б) в миокарде ЛО крыс и НЭ SHR. *PPP3CA* – протеинфосфатаза 3 каталитическая субъединица альфа (каталитическая субъединица кальциневрина А), *GAPDH* – глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа, *HPRT1* – гипоксантин-гуанинфосфорибозил трансфераза, *TGFB1* – трансформирующий ростовой фактор бета 1, SO WKY – ложнооперированные крысы Вистар Киото, SO SHR – ложнооперированные крысы SHR, Nx SHR – крысы SHR с нефрэктомией 5/6 объема органа.

Figure 1. Relative expression of calcineurin A (a) and TGF-beta 1 (b) genes in myocardium of SO rats and Nx SHR. *PPP3CA* – protein phosphatase 3 catalytic subunit alpha (catalytic subunit of calcineurin A), *GAPDH* – glyceraldehyde-3-phosphate dehydrogenase, *HPRT1* – hypoxanthine guanine phosphoribosyl transferase, *TGFB1* – transforming growth factor beta 1, SO WKY – sham operated Wistar Kyoto, SO SHR – sham operated SHR, Nx SHR – SHR with 5/6 nephrectomy.

вали как долю площади специфического продукта ИГХ реакции от площади поля зрения.

Фрагменты миокарда банкировали в фиксаторе «IntactRNA» для стабилизации РНК в биологических образцах (Евроген, Россия) и хранили при температуре -80°C до проведения исследований. Из образцов была выделена и очищена тотальная РНК («РИБО-золь» и «РИБО-сорб-С», ИнтерЛабСервис, 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 А (*PPP3CA*, Forward 5'-cagtaacttgcagccagcc-3', Reverse 5'-gacttgcg-gaaatggaacg-3') или TGF β 1 (Forward 5'-tgcgcttac-cttggaacc-3', Reverse 5'-ggtgttgagcccttccag -3'), или генов домашнего хозяйства *GAPDH* (Forward 5'-agatggtgaaggtcggtg-3', Reverse 5'-gatctcgctc-tggaagatg-3'), *HPRT1* (Forward 5'-gttgatagcag-gccagactt-3', Reverse 5'-gccacatcaacaggactctt-3'). Для каждой пары праймеров выполняли оценку эффективности ПЦР. Программа амплификации состояла из начальной денатурации (95°C , 3 мин) и 40 циклов, включавших денатурацию (94°C , 20 с), отжиг праймеров и элонгацию (60°C , 40 с). Экспрессию целевого гена рассчитывали методом $\Delta\Delta\text{Ct}$ 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. Межгрупповые различия и регрессионные коэффициенты считали статистически значимыми при величине $p < 0,05$. Все процедуры, выполняемые в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам учреждения и были одобрены локальным этическим комитетом ПСПбГМУ им. Павлова (одобрение № 206 от 23 апреля 2018 г.).

РЕЗУЛЬТАТЫ

У крыс SHR наблюдали более высокие значения АД и показателей ремоделирования миокарда – ИММ, диаметра кардиомиоцитов и площади фиброза и низкие уровни *Klotho* в почке при сравнении с крысами Вистар Киото (см. таблицу). У крыс SHR с НЭ функция почек снижалась, что сопровождалось прогрессированием ремоделирования миокарда и редукцией ренальной экспрессии *Klotho* (см. таблицу). При гистологическом исследовании сердца у крыс с НЭ были выявлены волнообразная деформация мышечных волокон миокарда, неспецифические контрактурные изменения в цитоплазме миоцитов и накопление соединительной ткани (коллагена) в интерстиции миокарда и периферии коронарных артерий (см. таблицу) [14]. Увеличение диаметра КМЦ и площади фиброза миокарда у крыс с НЭ (см. таблицу)

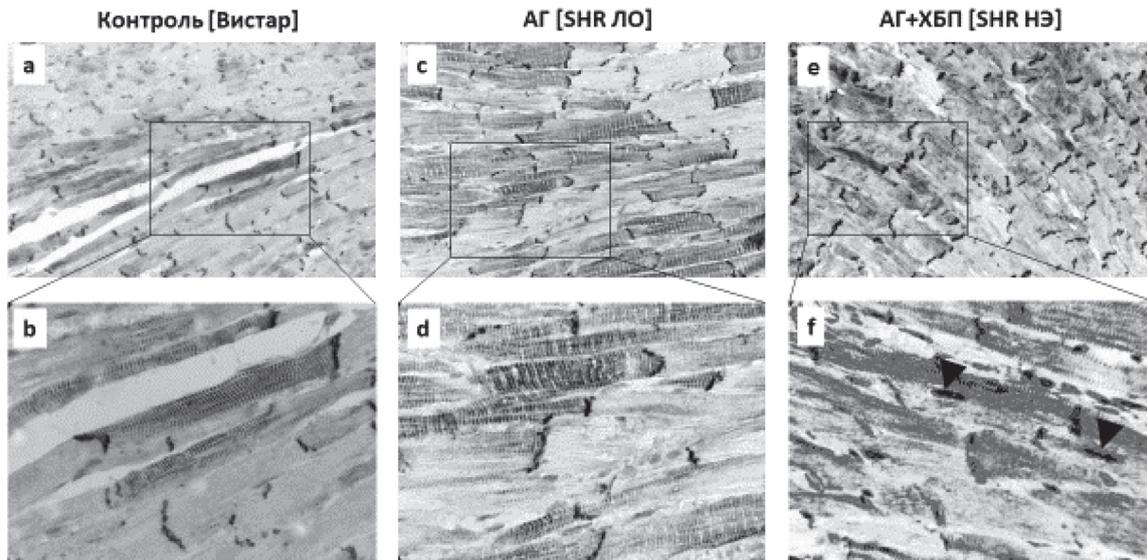


Рисунок 2. Репрезентативные микрофотографии экспрессии β -катенина (ИГХ) в миокарде ложноперированных крыс Вистар Киото (a, b), SHR (c, d) и SHR с нефрэктомией (e, f)

АГ – артериальная гипертензия; ХБП – хроническая болезнь почек; ЛО – ложная операция; НЭ – нефрэктомия. Стрелки – позитивно окрашенные ядра кардиомиоцитов.

Figure 2. Representative micropictures of beta-catenin expression (IHC) in myocardium of sham operated Wistar Kyoto rats (a, b) and SHR (c, d), and nephrectomized SHR (e, f)

AH – arterial hypertension; CKD – chronic kidney disease; SO – sham operated; Nx – nephrectomy; arrows show positive stained nuclei of cardiomyocytes.

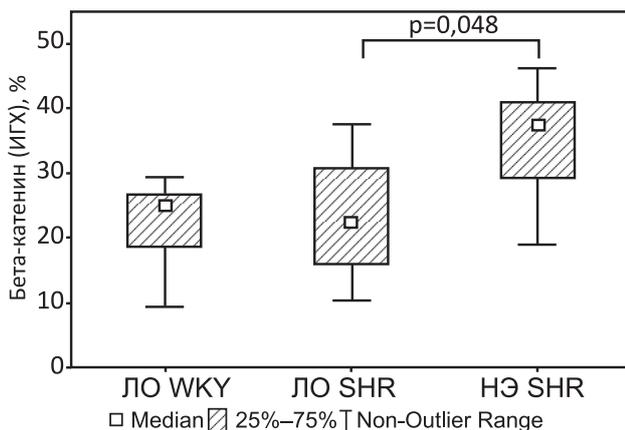


Рисунок 3. Количественная морфометрия экспрессии β -катенина (ИГХ) в миокарде ЛО крыс и НЭ SHR (проанализировано 150 полей зрения)

Figure 3. Quantitative morphometry of beta-catenin expression (IHC) in myocardium of SO rats and Nx SHR (150 FOV were analyzed)

сопровождалось экспрессией прогипертрофических и фибропластических факторов кальциневрина А (рис. 1, a) и TGF- β 1 (рис. 1, b).

При иммуногистохимическом исследовании миокарда экспрессия β -катенина была выявлена в областях плазматической мембраны, вставочных дисков и саркомерах кардиомиоцитов (рис. 2, a–d). Отмечали снижение мембранной и увеличение цитоплазматической экспрессии β -катенина у ЛО (рис. 2, c–d) и НЭ SHR (рис. 2, e, f) при сравнении с крысами Вистар Киото (см. рис. 2, a, b). У крыс SHR с НЭ неспецифические контрактурные изменения миоцитов были ассоциированы с

цитоплазматической экспрессией β -катенина (см. рис. 1, e), в некоторых случаях β -катенин был локализован в ядрах кардиомиоцитов и фибробластов (см. рис. 1, f). У крыс SHR с НЭ площадь экспрессии β -катенина в миокарде была выше по сравнению с ЛО животными (рис. 3).

ОБСУЖДЕНИЕ

РМ является естественной реакцией компенсации на нагрузку давлением и объемом [15]. На клеточном уровне гипертрофия кардиомиоцитов сопровождается перестройкой стромального компонента, развитием интерстициального фиброза сердца, поскольку повышение жесткости миокарда служит дополнительным механизмом снижения его растяжения и предупреждения дилатации [16]. Имея первоначально адаптивный характер, РМ влечет за собой развитие гипертрофии левого желудочка и в дальнейшем приводит к его дисфункции [2]. Независимо от нозологии, основную роль в процессах адаптации сердца к гемодинамическим перегрузкам играют активация нейроэндокринных систем: симпатико-адреналовой системы (САС) и ее эффекторов (адреналин, норадреналин), ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС), продукция эндотелина-1, цитокинов и др. [2]. Но, кроме того, существуют и дополнительные факторы риска РМ, связанные с дисфункцией почек, – ишемия, атеросклероз и артериосклероз, нарушения минерального обмена, почечная анемия,

окислительный стресс и повышенная продукция цитокинов и уремиических токсинов, липопротеинов низкой плотности, холестерина, триглицеридов, гиперпродукция фактора роста фибробластов 23, дефицит витамина D, белка Klotho и др. [17]. Сигнальный каскад WNT – эволюционно консервативный путь развития, участвует в межклеточной коммуникации при широком спектре физиологических процессов, в том числе эмбриогенезе, обновлении стволовых клеток, восстановлении повреждений и патогенезе заболеваний человека [9]. Канонический WNT практически не активен во взрослом сердце, но способен ре-активироваться в ответ на разнообразные повреждающие воздействия, такие как ишемия и хроническая перегрузка давлением, и может быть вовлечен в процессы РМ. Бета-катенин является основным внутриклеточным мессенджером канонического WNT. В норме бета-катенин детектируется в сердце, поскольку является компонентом межклеточных контактов и вставочных дисков кардиомиоцитов [10]. Активация WNT характеризуется аккумулярованием бета-катенина в цитоплазме и ядре клеток [9]. В представленной работе проанализирована ассоциация между изменениями активности WNT сигналинга, в частности, изменением экспрессии бета-катенина в миокарде и макро-/ микроскопически индексами патологического ремоделирования сердца на ранних стадиях экспериментальной АГ и дисфункции почек. На начальном этапе адаптации к стрессовому воздействию в условиях АГ происходит изменение внутриклеточной локализации β -катенина (снижается количество ассоциированного с плазматической мембраной и вставочными дисками β -катенина), что предположительно связано с эффектами цитоскелета [18]. Предполагают, что вставочные диски могут быть важным сигнальным центром для регулирования и координации организации саркомеров при РМ [10]. Снижение экспрессии β -катенина во вставочных дисках может регулировать саркомерогенез при переходе от компенсированной концентрической гипертрофии к декомпенсации и дилатации [18]. При этом, ядерная локализация, характеризующая активность пути WNT, отсутствует в данной модели. При хронической дисфункции почек у крыс SHR происходило отчетливое перераспределение β -катенина во внутриклеточных компартментах и увеличение площади экспрессии в миокарде. Данные изменения сопровождалось ростом АД, диаметра кардиомиоцитов и площади фиброза миокарда. Детекция β -катенина в ядрах кардиомиоцитов и фибробластов сердца, увеличение экспрессии кальциневрина A и

TGF- β свидетельствуют о возможной роли активации клеточных программ гипертрофии кардиомиоцитов и сигнального пути WNT при хронической дисфункции почек.

Исходя из полученных результатов, сложно предположить, какая из упомянутых регуляторных систем приводит к активации WNT при НЭ. Одинаковые частоты сердечных сокращений в экспериментальных группах косвенно свидетельствуют об отсутствии эффектов САС. Активация РААС, как и дисбаланс WNT сигналинга, наиболее характерны для сердечно-сосудистых осложнений при хронической болезни почек. В экспериментальных исследованиях продемонстрировано влияние РАС – РААС на WNT. При АГ, вызванной введением ангиотензина II, повышается экспрессия Wnt-лигандов и бета-катенина в миокарде [19]. Ингибирование ангиотензина II лозартаном или канонического WNT сигналинга ICG-001 в данной модели приводит к схожим эффектам и улучшению геометрических характеристик сердца. Кроме того, ингибирование WNT ICG-001 оказывает дозозависимый эффект на снижение АД, ГМ, экспрессию про-гипертрофических генов, фибронектина и коллагена. Используя *in vitro* культуру кардиомиоцитов H9c2 и *in vivo* образцы ткани сердца крыс SHR, С.Н. Lai et al. 2019 продемонстрировали, что в условиях гипертензии бета-катенин/LEF1 приводит к активации сигнального пути IGF-1IR и гипертрофии сердца [20]. Авторы идентифицировали предполагаемый сайт связывания транскрипционного фактора LEF1 с промотором IGF-1IR, что свидетельствует о возможной регуляции сигнального пути IGF-1IR бета-катенином/LEF1.

Полученные нами данные показали, что при экспериментальной хронической дисфункции почек и системной артериальной гипертензии рост ИММ и активности Wnt ассоциированы со снижением белка Klotho почечного происхождения. Klotho – трансмембранный и циркулирующий протеин, преимущественно синтезируемый почками [21]. Снижение свободного и трансмембранного Klotho типично для прогрессирующей ХБП [17]. Дефицит Klotho является одной из патогенетических черт уремиической кардиомиопатии, встречающейся у 75% пациентов на диализе, и гипертрофии миокарда, характерной для 95% пациентов с ХБП [22]. Кардиопротективное действие белка Klotho обусловлено плейотропными эффектами по отношению к важнейшим внутриклеточным сигнальным путям. Помимо способности взаимодействовать с FGF23/FGFR, секретируемый

Klotho препятствует гиперактивации гипертрофического сигнального пути кальциневрин/NFAT в миокарде [23–25], а также является ловушкой для рецепторов ростовых факторов (TGF- β , FGF1, IGF-I) и Wnt-лигандов [26]. Согласно полученным нами результатам, аккумуляция бета-катенина в цитоплазме и ядрах КМЦ (и равно активация WNT) может быть связана с отсутствием модуляции (или иных опосредованных эффектов) канонического WNT со стороны Klotho в условиях его существенного снижения при хронической дисфункции почек. Кроме того, не исключено участие перестройки цитоскелета, компонентом которого является бета-катенин, в ответ на стрессовое воздействие при АГ. Несмотря на некоторый прогресс, понимание механизмов активации бета-катенина в миокарде при ремоделировании сердца на данном этапе требует дальнейших исследований.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные позволяют предполагать роль Klotho-опосредованной активации канонического Wnt сигналинга и клеточных программ гипертрофии кардиомиоцитов в ремоделировании миокарда в условиях артериальной гипертензии и хронической дисфункции почек.

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

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК REFERENCES

- Levy D, Garrison RJ, Savage DD et al. Prognostic implications of echocardiographically determined left ventricular mass in the Framingham heart study. *N Engl J Med* 1990;322:1561-1566. doi: 10.1056/NEJM199005313222203
- 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.
- Kaesler N, Babler A, Floege J et al. Cardiac Remodeling in Chronic Kidney Disease. *Toxins (Basel)* 2020;12(3):161. doi: 10.3390/toxins12030161
- Buckalew VM, Berg RL, Wang SR et al. Prevalence of hypertension in 1,795 subjects with chronic renal disease: the modification of diet in renal disease study baseline cohort. Modification of diet in renal disease study group. *Am J Kidney Dis* 1996;28(6):811-21. doi:10.1016/s0272-6386(96)90380-7
- Wu-Wong JR. Vitamin D therapy in cardiac hypertrophy and heart failure. *Curr Pharm Des* 2011;17(18):1794-1807. doi: 10.2174/138161211796391038
- 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.
- 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
Bogdanova EO, Beresneva ON, 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.)
- Sassi Y, Avramopoulos P, Ramanujam D et al. Cardiac myocyte miR-29 promotes pathological remodeling of the heart by activating Wnt signaling. *Nat Commun* 2017;8(1):1614. doi: 10.1038/s41467-017-01737-4.
- Wang Y, Zhou CJ, Liu Y et al. Wnt Signaling in Kidney Development and Disease. *Prog Mol Biol Transl Sci* 2018;153:181-207. doi: 10.1016/bs.pmbts.2017.11.019
- Vite A, Radice G. N-cadherin/catenin complex as a master regulator of intercalated disc function. *Cell Commun Adhes* 2014;21(3):169-179. doi: 10.3109/15419061.2014.908853
- Cox RT, Kirkpatrick C, Peifer M. Armadillo is required for adherens junction assembly, cell polarity, and morphogenesis during drosophila embryogenesis. *J Cell Biol* 1996;134:133-148. doi: 10.1083/jcb.134.1.133
- Syed H, Michael A, Andreucci M et al. Stabilization of betacatenin by a Wnt-independent mechanism regulates cardiomyocyte growth. *J Proc Natl Acad Sci USA* 2003;100:4610-4615. doi: 10.1073/pnas.0835895100
- Xin C, Shevtsov SP, Hsich E et al. The β -catenin/T-cell factor/lymphocyte enhancer factor signaling pathway is required for normal and stress-induced cardiac hypertrophy. *J Mol Cell Biol* 2006;26:4462-4473. doi: 10.1128/MCB.02157-05
- Богданова ЕО, Береснева ОН, Галкина ОВ и др. 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
Bogdanova EO, Beresneva ON, Galkina OV et al. Vitamin D and fibroplastic processes in the myocardium of spontaneously hypertensive rats with the initial stages of chronic renal dysfunction. *Arterial hypertension* 2020;26(1):107-118 (In Russ.). doi: 10.18705/1607-419X-2020-26-1-107-118
- Schillaci G, Verdecchia P, Porcellati C. Continuous relation between left ventricular mass and cardiovascular risk in essential hypertension. *Hypertension* 2000;35(2):580-586. doi: 10.1161/01.hyp.35.2.580.
- Weber K, Janicki J, Shroff S et al. Collagen Remodeling of the Pressure-Overloaded, Hypertrophied Nonhuman Primate Myocardium. *Circulation Research* 1988;62:757-765. doi: 10.1161/01.RES.62.4.757
- 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.)
- Zheng Q, Chen P, Xu Z et al. Expression and redistribution of β -catenin in the cardiac myocytes of left ventricle of spontaneously hypertensive rat. *Journal of Molecular Histology* 2013;44:565-573. doi: 10.1007/s10735-013-9507-6
- Zhao Y, Wang Ch, Wang C et al. An essential role for Wnt/ β -catenin signaling in mediating hypertensive heart disease. *Sci Rep* 2018;8:8996. doi: 10.1038/s41598-018-27064-2
- Lai CH, Pandey S, Hsuan C et al. β -catenin/LEF1/IGF-1IR Signaling Axis Galvanizes the Angiotensin-II-induced Cardiac Hypertrophy. *Int J Mol Sci* 2019;20(17):4288. doi: 10.3390/ijms20174288
- Lindberg K, Amin R, Moe OW et al. The kidney is the principal organ mediating klotho effects. *J Am Soc Nephrol* 2014;25(10):2169-2175. doi: 10.1681/ASN.2013111209
- 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):1-10. doi: 10.5301/jn.2010.2030
- 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.
- 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

25. Богданова ЕО, Семенова НЮ, Береснева ОН и др. 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

Bogdanova EO, Semenova NYu, Beresneva ON et al. Increased expression of TRPC6 in cardiomyocytes as one of the mechanisms of myocardial hypertrophy in renal dysfunction. *Nephrology (Saint Petersburg)* 2020;24(4):93-101. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2020-24-4-93-101

26. Liu H, Fergusson MM, Castilho RM et al. Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. *Science* 2007;317(5839):803-806. doi: 10.1126/science.1143578

**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

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.: +7(812)338-69-31; e-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

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.: +7(812)338-69-31; e-mail: zubina@list.ru. ORCID: 0000-0001-8491-7016

Иванова Галина Тажимовна, канд. биол. наук 199034, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической системы. Тел.: +7(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.: +7(812)338-69-01; e-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-4526-8671

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 био-

химического гомеостаза. Тел.: +7(812)338-69-31; e-mail: ovgalkina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

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.: +7(812)338-69-01; e-mail: dobronravov@nephrolog.ru. ORCID: 0000-0002-7179-5520

About the authors:

Evdokia Bogdanova, PhD
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov 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

Olga N. Beresneva, PhD
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Kidney Clinical Physiology. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-7532-2405

Irina M. Zubina PhD
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: zubina@list.ru. ORCID: 0000-0001-8491-7016

Galina T. Ivanova, PhD
Affiliations: 199034, Russian Federation, Saint Petersburg, sea-front Makarova, build. 6. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, Laboratory of cardiovascular and lymphatic systems physiology. Phone: +7(812)328-11-01; e-mail: pavlov.institute@infran.ru. ORCID: 0000-0003-0188-5173

Marina M. Parastaeva, PhD
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Kidney Clinical Physiology. Phone: +7(812)338-69-01; e-mail: beresnevaolga@list.ru. ORCID: 0000-0002-4526-8671

Olga V. Galkina, PhD
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Laboratory of Biochemical Homeostasis, Head. Phone: +7(812)338-69-31; e-mail: ovgalkina@mail.ru. ORCID: 0000-0001-7265-7392

Prof. Vladimir A. Dobronravov, MD, PhD, DSc
Affiliations: 197022, Russian Federation, Saint Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov 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: 28.08.2020

Принята в печать: 20.10.2020

Article received: 28.08.2020

Accepted for publication: 20.10.2020