

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭКСПРЕССИИ ФАКТОРОВ ФИБРОЗА  
В СЕРДЕЧНОЙ ТКАНИ КРЫС SPRAGUE-DAWLEY И WISTAR ПРИ РАЗВИТИИ  
ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

© 2023 г. Н. И. Агалакова<sup>1</sup>, Е. В. Михайлова<sup>1</sup>, А. А. Пьянков<sup>2</sup>, О. В. Надей<sup>1</sup>,  
И. А. Ершов<sup>1</sup>, М. М. Галагудза<sup>3</sup>, А. Я. Багров<sup>4</sup>, И. В. Романова<sup>1, \*</sup>

<sup>1</sup>*Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова Российской академии наук,  
Санкт-Петербург, Россия*

<sup>2</sup>*Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого,  
Санкт-Петербург, Россия*

<sup>3</sup>*Институт экспериментальной медицины НМИЦ им. В.А. Алмазова Минздрава России,  
Санкт-Петербург, Россия*

<sup>4</sup>*Padakonn Pharma, Narva, Estonia*

\*E-mail: irinaromanova@mail.ru

Поступила в редакцию 05.04.2023 г.

После доработки 03.05.2023 г.

Принята к публикации 04.05.2023 г.

Проведено сравнение степени развития уремической кардиомиопатии и фиброза сердечной ткани при хронической почечной недостаточности в модельных экспериментах на самцах крыс Sprague-Dawley и Wistar категории SPF. Для индукции ХПН у крыс проводили субтотальную нефрэктомию слева, а через 2 нед. — тотальную нефрэктомию справа. Контролем служили ложнооперированные животные. Через 4 нед. после второй операции у животных измеряли артериальное давление, а в тканях левого желудочка сердца методами ПЦР в реальном времени и иммуноблоттинга оценивали экспрессию факторов фиброза (транскрипционного фактора *Fli1*, проколлагена-I, коллагена-I и коллагена-IV). После нефрэктомии у крыс Sprague-Dawley выявлено значительное повышение систолического артериального давления и гипертрофия левого желудочка сердца. У крыс Wistar разница артериального давления между нефрэктомизированными и ложнооперированными животными была меньше, а отношение массы левого желудочка к массе тела не изменилось. Экспериментальная хроническая почечная недостаточность у крыс Sprague-Dawley сопровождалась 1.5–2.5-кратным подавлением экспрессии гена *Fli1* и снижением содержания белка *Fli1* в ткани сердца, в то время как у крыс Wistar достоверных различий не наблюдалось. Уровни проколлагена-I и коллагена-I в сердце крыс обеих линий не изменялись ни на уровне транскрипции, ни на уровне трансляции. Такая разница в развитии патологических процессов в ткани сердца животных двух линий свидетельствует о неэффективности примененной схемы нефрэктомии для индукции уремической кардиомиопатии и изучения про-фибротических механизмов у крыс Wistar.

*Ключевые слова:* почечная недостаточность, нефрэктомия, сердце, фиброз, *Fli1*

DOI: 10.31857/S086981392306002X, EDN: WGYLZJ

## ВВЕДЕНИЕ

Хроническая почечная недостаточность (ХПН) представляет собой многофакторное прогрессирующее патологическое состояние, неизбежно приводящее к необратимому снижению функции почек [1]. Этот синдром ежегодно диагностируется у миллионов людей по всему миру, достигая 10–15% от мировой популяции, и в большинстве случаев сопровождается развитием сердечно-сосудистых осложнений – уремической кардиомиопатии (УКП). Более того, у большинства пациентов уремическая кардиомиопатия развивается даже раньше ХПН, а риск инвалидности и неожиданной смерти из-за сердечно-сосудистых патологий выше, чем из-за терминальной почечной недостаточности, в целом в 15–30 раз чаще, чем от других заболеваний. Уремическая кардиомиопатия характеризуется гипертензией, множественным метаболическими нарушениями в клетках сердца и ремоделированием ткани сердца (гипертрофией левого желудочка сердца и фиброзом миокарда), приводящим к аритмии (систолической и диастолической дисфункции) [2, 3].

Экспериментальное моделирование ХПН является важнейшим подходом для изучения патофизиологических механизмов развития уремиической кардиомиопатии и поиска новых терапевтических стратегий, направленных на снижение тяжести его течения. Одной из наиболее эффективных моделей ХПН у экспериментальных животных, быстро приводящих к УКП, является нефрэктомия (НЭ) разных типов, например, 5/6 и 2K1C (2-kidney-1-clip) [4]. В предыдущих работах было показано, что частичная НЭ (5/6 почек) у крыс и мышей приводит к появлению симптомов, характерных для уремиической кардиомиопатии, в частности фиброзу поражению сердца [5–8]. Однако грызуны разных видов и линий вследствие генетических различий по-разному реагируют на НЭ, в результате чего степень и эффективность развития ХПН может различаться, и для появления выраженных симптомов требуется разное время или различные схемы НЭ [4, 9]. В предыдущих исследованиях механизмов развития сосудистого фиброза при уремиической кардиомиопатии в качестве модельного объекта использовались крысы Sprague-Dawley [5–7]. Целью данной работы было оценить универсальность и эффективность модели 5/6 НЭ для индукции уремиической кардиомиопатии и фиброза сердечной ткани у двух родственных линий крыс (Sprague-Dawley и Wistar).

Известно, что одним из универсальных сигнальных путей фиброза тканей сердечно-сосудистой системы при гипертензивных заболеваниях является активация внутриклеточного каскада, включающего подавление экспрессии транскрипционного фактора Fli1, что приводит к стимуляции экспрессии генов проколлагена и избыточному синтезу коллагенов различных типов [10]. Для того чтобы выяснить, какая из линий крыс является более подходящей экспериментальной моделью для изучения процессов развития фиброза сердечной ткани при ХПН, на уровне транскрипции и трансляции был проведен сравнительный анализ уровней экспрессии фактора Fli1, коллагенов I и IV.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Самцы крыс линий Sprague-Dawley ( $n = 13$ ) и Wistar ( $n = 12$ ) статуса SPF были получены из НПП “Питомник лабораторных животных” филиала Института биологической химии им. академиков М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН (г. Пушкино, Московская обл.) в возрасте 3 мес. Масса тела животных составляла 280–330 г. Крысы содержались на базе вивария Института экспериментальной медицины НМИЦ им. В.А. Алмазова при температуре 23–25°C, цикле освещении 12 ч день/ночь и с доступом к еде и воде *ad libitum*.

После 1-недельной адаптации крысы каждой линии были случайным образом разделены на 2 группы. Для индукции ХПН животным проводили субтотальную

**Таблица 1.** Характеристики праймеров, использованных для ПЦР в “реальном времени”

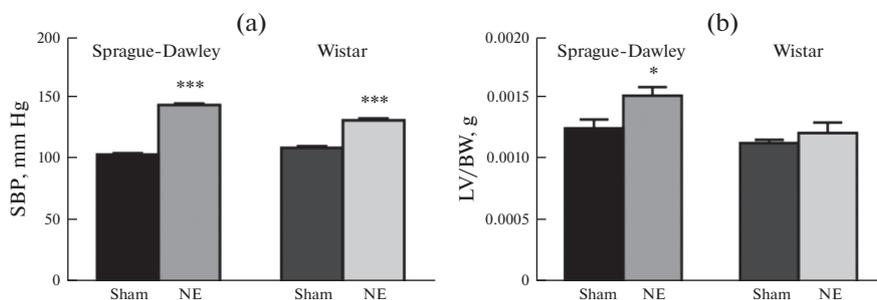
| Ген                | Положение | Последовательность (5'–3')                               | NCBI номер     |
|--------------------|-----------|--|----------------|
| <i>Collagen-I</i>  | F<br>R    | TGG CAA CCT CAA GAA GTC CC<br>ACA AGC GTG CTG TAG GTG AA | NM_053304.1    |
| <i>Collagen-IV</i> | F<br>R    | AAA TGG CGC TCC TGA TCC AA<br>TTC TTG TGG AGT TCT CGC CC | NM_001135009.1 |
| <i>Fli1</i>        | F<br>R    | CCAACGAGAGGAGAGTCATCG<br>TTCCGTGTTGTAGAGGGTGGT           | NM_002017.5    |
| <i>18S*</i>        | F<br>R    | GGACACGGACAGGATTGACA<br>ACCCACGGAATCGAGAAAGA             | NR_046237.1    |

\* – Контрольный ген, кодирующий 18S субъединицу рибосомальной РНК.

НЭ слева (удаление коркового и части мозгового слоев), а еще через 2 нед. – тотальную НЭ справа. Контролем служили ложнооперированные животные. Для анестезии использовали изофлуран. Через 4 нед. после второй операции у животных измеряли артериальное давление (АД) с помощью установки для неинвазивного измерения фирмы ADInstruments (Австралия), состоящей из NIBP Controller (запись пульсограммы, измерение АД) и Power Lab 4/35 (преобразование и вывод сигнала на ПК в программу для анализа Lab Chart 8). В конце эксперимента под анестезией изофлураном крысам рассекали брюшную аорту, выделяли левые желудочки сердца и замораживали их на сухом льду. Экспрессию факторов фиброза (транскрипционного фактора *Fli1*, проколлагена-I, коллагена-I и коллагена-IV) в сердечной ткани оценивали методами ПЦР в реальном времени и иммуноблоттинга.

Анализ уровня экспрессии генов был проведен с помощью количественной ПЦР в реальном времени. Для выделения тотальной РНК использовали RNA-extract (Евроген, Россия) согласно инструкции производителя. Концентрацию РНК и ее чистоту ( $A260/A280 \geq 1.6$ ) определяли с помощью “Nanophotometer C40” (Implen, Германия). Синтез обратной транскрипции (ОТ) был проведен с 1 мкг тотальной РНК и набором ОТ MMLV RT kit (Евроген, Россия) по инструкции производителя. Амплификацию проводили в смеси (25 мкл), содержащей ОТ-продукт (по 10 нг для генов, кодирующих коллагены, 20 нг для гена, кодирующего *Fli1*), по 0.4 мкМ прямого (F – forward) и обратного (R – reverse) праймеров (табл. 1), qPCRmix-NS SYBR + LowROX (Евроген, Россия) в 96-луночных ПЦР-планшетах (в триплетах) на приборе “Real-Time System CFX96 C1000 Touch Thermal Cycler” (BioRad Laboratories, Inc., Singapore). Протокол циклов амплификации ранее был подробно описан ранее [11]. Чистоту ПЦР-продукта проверяли с помощью электрофореза в 30%-ном агарозном геле с бромистым этидием и оценивали с помощью гель-документирующей системы (Chemidoc, BioRad, Великобритания). Для количественной оценки уровня мРНК целевых генов относительно контрольного гена *18S* использовали метод delta-delta Ct.

Для иммуноблоттинга кусочки левого желудочка сердца гомогенизировали при 4°C в буфере RIPA (Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, США). Белки в солюбилизованных пробах разделяли по молекулярной массе с помощью SDS-PAGE в 10%-ном геле и переносили на нитроцеллюлозную мембрану (GE Health Care/Life Sciences, Pittsburgh, PA, США). Мембраны последовательно инкубировали с первичными антителами к *Fli1* (rabbit ab124791, Abcam; 1 : 500), проколлагену-I (mouse sc-166572, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, США; 1 : 200), коллагену-I (mouse sc-393573, Santa Cruz Biotechnology, Santa Cruz, CA, США; 1 : 200) и коллагену-IV (rabbit ab6586, Abcam; 1 : 500), а затем со вторичными HRP-конъюгированными антителами к кролику (Amersham RPN934, GE Health Care/Life Sciences, Ве-



**Рис. 1.** Артериальное давление (а) и отношение массы левого желудочка к массе тела (б) у крыс Sprague-Dawley и Wistar после ложной операции (Sham) и нефрэктомии (NE). Обозначения: LV – левый желудочек, BW – масса тела. Достоверность отличий от Sham: \* –  $p < 0.05$ , \*\*\* –  $p < 0.001$ ,  $n = 6-7$  в каждой группе.

ликобритания; 1 : 1000) или к мыши (Amersham RPN931; 1 : 2000). Для оценки уровня экспрессии контрольного белка GAPDH (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназы) использовали первичные антитела мыши (Santa Cruz Biotechnology, США; 1 : 1000), а затем вторичные антитела козы против мыши (1 : 2000). Иммуно-позитивный сигнал визуализировали с помощью реагентов Amersham ECL detection system (RPN2236) на пленку X-ray film (CEA, Göteborg, Швеция). Оптическую плотность полос определяли с помощью денситометрического анализа, используя программу Image Lab (BioRad, Hercules, CA, США).

Статистическую обработку данных проводили в программе GraphPad Prism 6 software (San Diego, CA, США), используя однофакторный дисперсионный анализ ANOVA и апостериорный тесты Тьюки или Даннета. Различия между пробами считали статистически достоверными при  $p < 0.05$ . Результаты представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка.

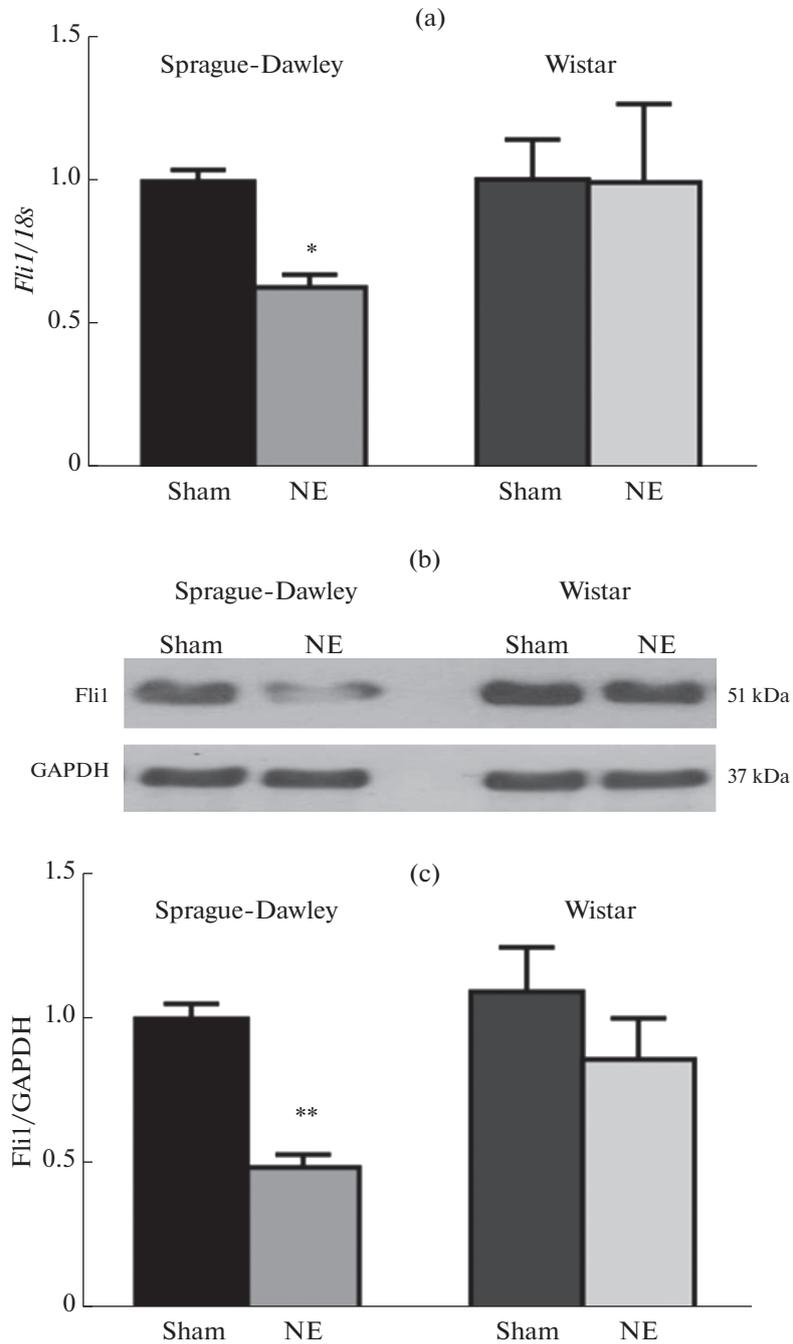
## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У животных обеих линий НЭ привела к значительному повышению систолического АД по сравнению с контрольными группами (рис. 1а). У крыс Sprague-Dawley АД повышалось от  $105.3 \pm 1.0$  у ложнооперированных животных до  $145.8 \pm 1.2$  мм рт. ст. у крыс после НЭ, в то время как у крыс Wistar – от  $110.7 \pm 1.4$  мм рт. ст. до  $133.4 \pm 1.4$  мм рт. ст. соответственно. Кроме того, развитие ХПН у крыс Sprague-Dawley сопровождалось увеличением массы левого желудочка сердца по отношению к массе тела, в то время как у животных линии Wistar это отношение статистически достоверно не изменилось (рис. 1б).

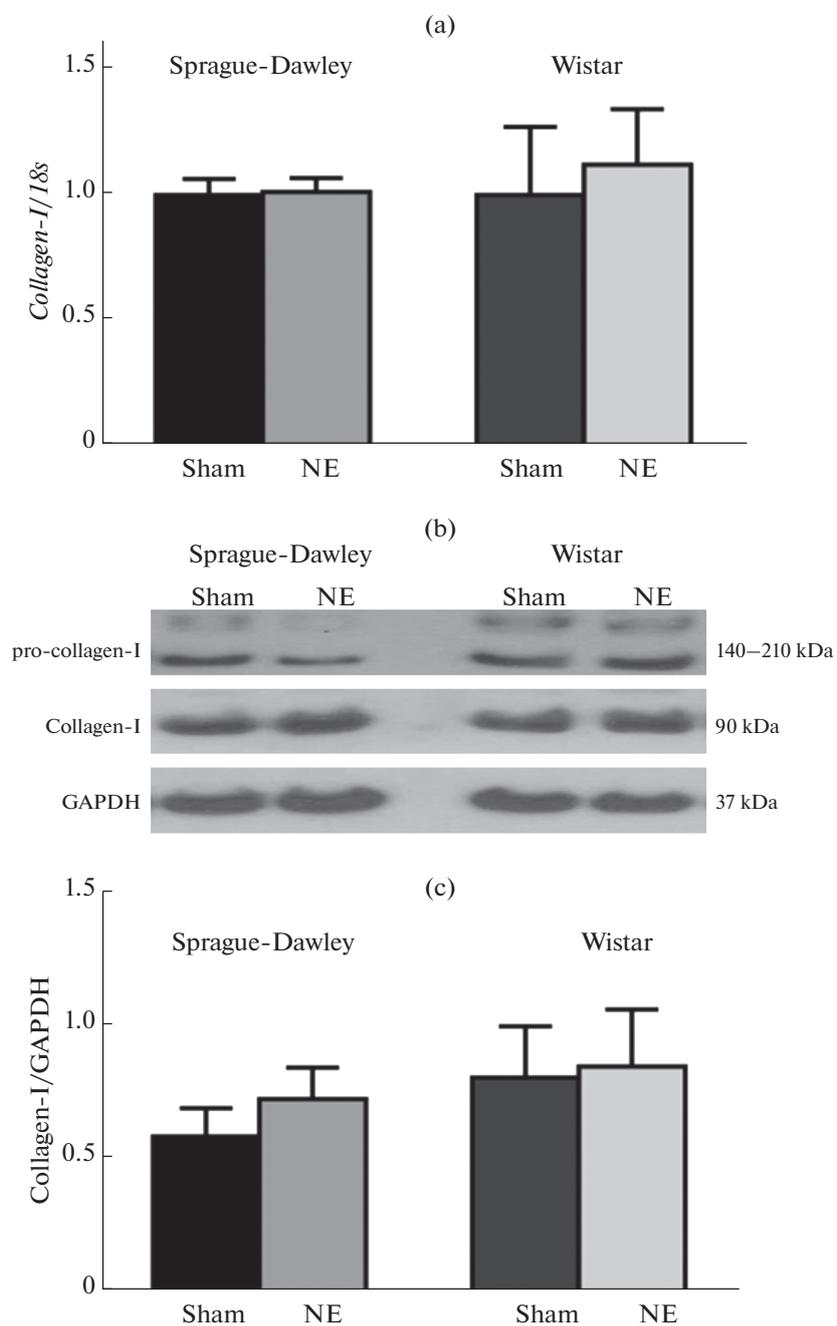
Сравнительный анализ экспрессии транскрипционного фактора *Fli1*, одного из ключевых факторов фиброза, показал, что экспериментальная ХПН у крыс Sprague-Dawley сопровождалась значительным подавлением экспрессии гена *Fli1* (рис. 2а). Содержание белка *Fli1* в клетках сердца также снижалось в 2–2.5 раза (рис. 2б). У крыс Wistar после НЭ в нашем эксперименте уровень *Fli1* достоверно не изменился ни на уровне транскрипции, ни на уровне трансляции (рис. 2а–с).

Экспрессия гена другого маркера фиброза – коллагена-I в тканях левого желудочка после НЭ не изменилась ни у крыс Sprague-Dawley, ни у животных Wistar. Уровни белка про-коллагена-I и коллагена-I также не различались в ткани сердца контрольных и НЭ-крыс обеих линий (рис. 3).

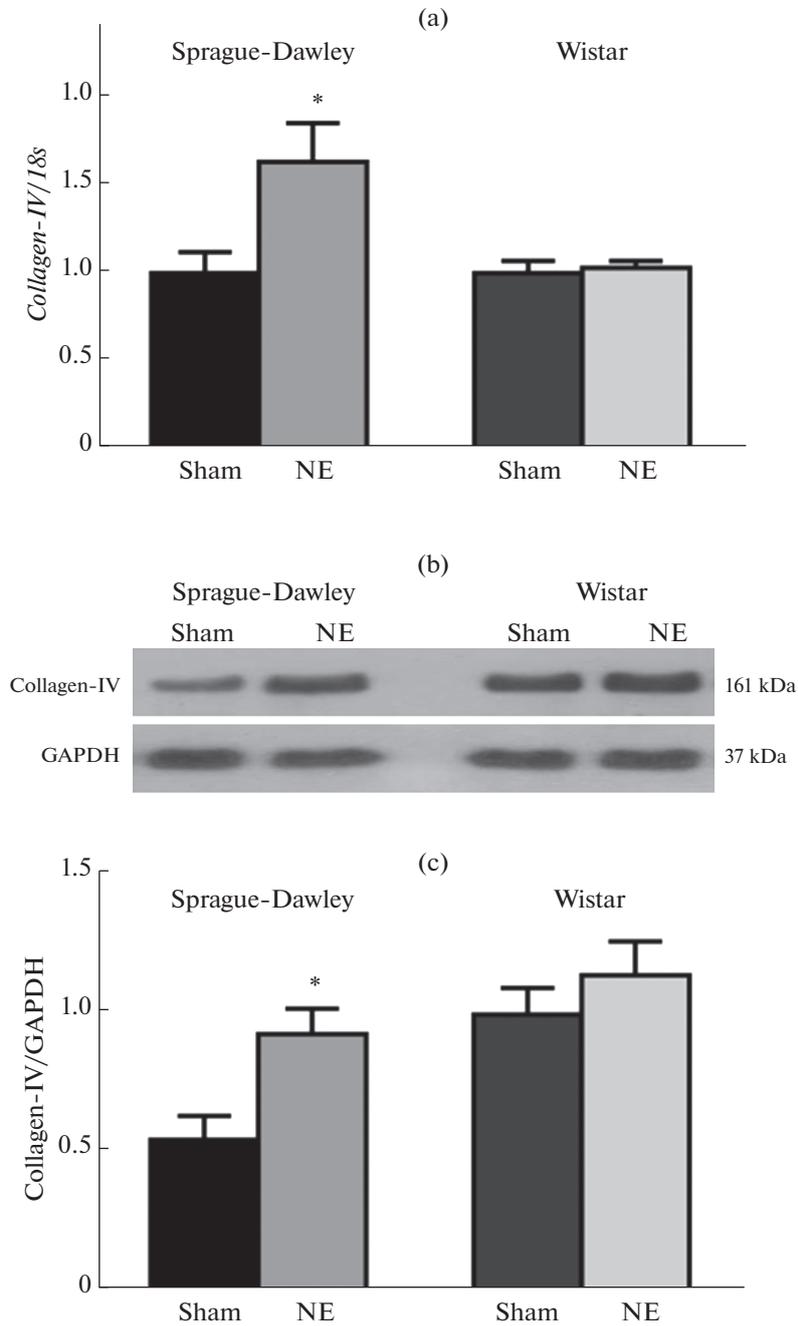
В ткани сердца крыс Sprague-Dawley после НЭ было выявлено значительное повышение уровня мРНК коллагена-IV и накопление белка коллагена-IV, в то время как у крыс Wistar ни уровень мРНК коллагена-IV, ни содержание белка коллагена-IV не изменялись (рис. 4).



**Рис. 2.** Относительный уровень мРНК транскрипционного фактора Fli1 (a) и белка Fli1 (b, c) в тканях сердца крыс Sprague-Dawley и Wistar после ложной операции (Sham) и нефрэктомии (NE). \* –  $p < 0.05$ , \*\* –  $p < 0.001$  по сравнению с Sham,  $n = 6-7$  в каждой группе.



**Рис. 3.** Относительный уровень мРНК коллагена-I (а) и уровень белков проколлагена-I (б) и коллагена-I (б, с) в ткани сердца крыс Sprague-Dawley и Wistar после ложной операции (Sham) и нефрэктомии (NE). В каждой группе  $n = 6$ .



**Рис. 4.** Относительный уровень мРНК коллагена-IV (a) и уровень белка коллагена-IV (b, c) в ткани сердца крыс Sprague-Dawley и Wistar после ложной операции (Sham) и нефрэктомии (NE). (\*) – достоверность отличий от Sham при  $p < 0.05$ ,  $n = 6$  в каждой группе.

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Хотя точные генетические отличия между животными линий Sprague-Dawley и Wistar не определены, в ряде исследований выявлены различные метаболические особенности, а также отличия реакций сердечно-сосудистой и респираторной систем в ответ на действие различных стимулов. Например, крысы Sprague-Dawley представляют собой менее активных и более быстро растущих животных, однако метаболические эффекты высокожировой диеты (набор массы тела и жировой ткани, размер адипоцитов, уровни адипонектина и лептина в плазме, снижение толерантности к глюкозе) более очевидны у крыс Wistar [12]. Кроме того, животные этих линий различаются по эндокринному профилю [13] и метаболизму глюкозы и аминокислот в клетках печени [14]. Эмбрионы Wistar более подвержены тератогенному воздействию, например, бис-диамин индуцирует более выраженные сердечно-сосудистые аномалии [15]. Повышение артериального давления в ответ на кратковременную гипоксию было более выражено у Sprague-Dawley [16], в то время как у Wistar гипоксия индуцировала более сильную полицитемию и гипертрофию правого желудочка, которые являются важнейшими признаками легочной гипертензии [17]. У крыс Sprague-Dawley наблюдались более стабильные ишемические повреждения и максимальное снижение мозгового кровоснабжения по сравнению с крысами Wistar после окклюзии средней мозговой артерии, хотя уровень смертности был выше у последних [18]. Наоборот, в исследовании Kunze и соавт. [19] уровень смертности после подобной процедуры была выше у Sprague-Dawley.

Результаты нашей работы продемонстрировали значительные отличия в восприимчивости крыс Sprague-Dawley и Wistar к НЭ и, как следствие, разную эффективность развития уремиической кардиомиопатии и фиброза сердечной ткани при ХПН. Хотя АД повышалось у животных обеих линий, степень гипертензии у крыс Sprague-Dawley была значительно выше, чем у Wistar (рис. 1). Разница АД между ложнооперированными и нефрэктомированными животными линии Sprague-Dawley составила ~40 мм рт. ст., в то время как у крыс Wistar АД повысилось только на ~23 мм рт. ст. Увеличение массы левого желудочка сердца по отношению к массе тела у Sprague-Dawley может косвенно указывать на развитие гипертрофии сердца, в отличие от крыс линии Wistar, у которых этот параметр не отличался от такового у ложнооперированных животных. Уровни экспрессии изучаемых маркеров фиброза в тканях левого желудочка сердца крыс двух линий также различались. Если в сердце крыс Sprague-Dawley экспрессия гена *Fli1* и белка Fli1 подавлялась в 1.5–2.5 раза, в сердце Wistar содержание этого фактора оставалась относительно стабильным как на уровне транскрипции, так и на уровне трансляции (рис. 2). Содержание коллагена-IV также увеличивалось только в ткани сердца крыс Sprague-Dawley (рис. 4).

Данные, полученные для крыс Sprague-Dawley, согласуются с результатами предыдущих исследований, полученных на НЭ-животных этой линии [5–7] и мышцах линии B6 [8]. Экспериментальная уремиическая кардиомиопатия и фиброз тканей сердечно-сосудистой системы, индуцированные 5/6 НЭ, сопровождалась увеличением в плазме крови содержания одного из кардиотонических стероидов — маринобуфлагенина. Более того, было показано, что сигнальный путь фиброза, включающий подавление экспрессии *Fli1* и избыточный синтез коллагена, зависел от прямого ингибирования активности Na/K-АТФазы маринобуфлагенином.

Проявления уремиической кардиомиопатии и возможное развитие фиброза сердечной ткани у крыс Wistar в предыдущих исследованиях не оценивались. Однако в ряде работ была выявлена меньшая восприимчивость крыс Wistar к НЭ, хотя полученные данные противоречивы, возможно, вследствие использования разных суб-

линий животных и схем НЭ. Так, 30-дневная выживаемость крыс Sprague-Dawley после 150-минутной односторонней тепловой ишемии почки, реперфузии и двухсторонней НЭ составила 55% по сравнению с 67% таковой Wistar-Furth [20]. После 5/6 НЭ 75% крыс линии Wistar-Kyoto остались нормотензивными, а в оставшейся почке не наблюдалось гломерулярных повреждений [21]. В работе Fleck и соавтор. [9] долговременные последствия и умеренный фиброз почки после 5/6 НЭ наблюдался только у самок Wistar. В противоположность этому, в исследовании Appenroth и соавт. [22] 5/6 НЭ и временная тепловая ишемия не приводили к каким-либо фиброзным изменениям в почках самок Wistar даже после 20 нед. после операции. Резистентность Wistar к развитию ХПН по сравнению со Sprague-Dawley была выявлена и в работах, в которых использовали как 5/6 НЭ [23], так и одностороннюю НЭ + DOCA + NaCl [24], хотя у животных обеих линий наблюдалось снижение экспрессии нескольких типов эндотелиальной синтазы оксида азота. Однако стеноз почечной артерии по методу 2K1C (2-kidney-1-clip) у крыс Wistar индуцировал значительное увеличение массы сердца и повышение АД, а также увеличение содержания мочевины в плазме крови через 4 нед. после процедуры [25].

Хотя известно, что уремиическая кардиомиопатия развивается раньше, чем выраженные симптомы ХПН [2, 3], меньшая степень патологических процессов в ткани сердца крыс Wistar, наблюдаемая в нашей работе, свидетельствует о неэффективности примененной схемы НЭ для изучения про-фибротических процессов. По-видимому, 4 нед. после НЭ недостаточно для развития уремиической кардиомиопатии и полноценного фиброза, а для получения сравнимых со Sprague-Dawley показателей этим животным необходимо более длительное время или другая схема НЭ. Повышение АД у крыс Wistar может быть связано с активацией других механизмов. Развитие гипертензии и сосудистых осложнений, в том числе при заболеваниях почек, также может быть следствием активации вазоконстрикции, один из механизмов которой включает избыточную продукцию эндотелием вазоконстрикторных факторов, в частности эндотелина-1 [26, 27]. Например, в недавнем исследовании отсроченной кардиотоксичности доксорубицина развитие фиброза сердца у крыс Wistar через 2 мес. после достижения максимальной кумулятивной дозы (15 мг/кг) сопровождалось достоверным увеличением экспрессии гена эндотелина [28], хотя минимальная доза препарата (5 мг/кг) приводила к значимому снижению уровня этого фактора. Кроме того, формирование фиброзной ткани зависело от дозы доксорубицина. Например, у крыс, получавших минимальную дозу (5 мг/кг) доксорубицина, экспрессия генов, кодирующих коллаген-I и коллагена-II, снижалась по сравнению с контрольной группой, в то время как введение 10 и 15 мг/кг доксорубицина не влияло или увеличивало экспрессию этих генов соответственно. Кроме того, у всех животных, получавших доксорубицин, снижался уровень мРНК коллагена-III [28]. Мы не исключаем, что и в сердце крыс Wistar после схемы НЭ, примененной в нашей работе, может изменяться экспрессия коллагенов других типов.

#### СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все экспериментальные процедуры соответствовали положениям Animal Welfare act (2006) и European Communities Council Directive 1986 (2010/63/ЕЕС), а также правилам, изложенным в "Guide for the Care and Use of Laboratory Animals" и руководству по содержанию животных Института экспериментальной медицины Центра им. В.А. Алмазова. Дизайн исследования одобрен Комитетом по биоэтике Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН (Протокол 12/1 2020 от 24 декабря 2020 г.).

## ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Исследование проведено с использованием оборудования Института экспериментальной медицины Центра им. В.А. Алмазова и центра коллективного пользования Института эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова РАН в рамках государственного задания № 075-00967-23-00.

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## ВКЛАД АВТОРОВ

Идея исследования и дизайн эксперимента (А.Я.Б., М.М.Г., Н.И.А.), проведение экспериментов и сбор материала для исследования (Н.И.А., О.В.Н., Е.В.М., И.А.Е.), обработка результатов (Н.И.А., О.В.Н., Е.В.М., А.А.П., И.В.Р.), написание и редактирование текста (Н.И.А., И.В.Р.).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Garikapati K, Goh D, Khanna S, Echampati K* (2021) Uraemic Cardiomyopathy: A Review of Current Literature. *Clin Med Insights Cardiol* 15: 1179546821998347. <https://doi.org/10.1177/1179546821998347>
2. *Patel N, Yaqoob MM, Aksentijevic D* (2022) Cardiac metabolic remodelling in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 18(8): 524–537. <https://doi.org/10.1038/s41581-022-00576-x>
3. *Law JP, Pickup L, Pavlovic D, Townend JN, Ferro CJ* (2023) Hypertension and cardiomyopathy associated with chronic kidney disease: epidemiology, pathogenesis and treatment considerations. *J Hum Hypertens* 37(1): 1–19. <https://doi.org/10.1038/s41371-022-00751-4>
4. *Adam RJ, Williams AC, Kriegel AJ* (2022) Comparison of the surgical resection and infarct 5/6 nephrectomy rat models of chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 322(6): F639–F654. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00398.2021>
5. *Kennedy DJ, Vetteth S, Periyasamy SM, Kanj M, Fedorova L, Khouri S, Kahaleh MB, Xie Z, Malhotra D, Kolodkin NI, Lakatta EG, Fedorova OV, Bagrov AY, Shapiro JI* (2006) Central role for the cardiotoxic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy. *Hypertension* 47: 488–495. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000202594.82271.92>
6. *Elkareh J, Kennedy DJ, Yashaswi B, Vetteth S, Shidyak A, Kim EG, Smaili S, Periyasamy SM, Hariri IM, Fedorova L, Liu J, Wu L, Kahaleh MB, Xie Z, Malhotra D, Fedorova OV, Kashkin VA, Bagrov AY, Shapiro JI* (2007) Marinobufagenin stimulates fibroblast collagen production and causes fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy. *Hypertension* 49(1): 215–224. <https://doi.org/10.1161/01.HYP.0000252409.36927.05>
7. *Haller ST, Kennedy DJ, Shidyak A, Budny GV, Malhotra D, Fedorova OV, Shapiro JI, Bagrov AY* (2012) Monoclonal antibody against marinobufagenin reverses cardiac fibrosis in rats with chronic renal failure. *Am J Hypertens* 25(6): 690–696. <https://doi.org/10.1038/ajh.2012.17>
8. *Elkareh J, Periyasamy SM, Shidyak A, Vetteth S, Schroeder J, Raju V, Hariri IM, El-Okdi N, Gupta S, Fedorova L, Liu J, Fedorova OV, Kahaleh MB, Xie Z, Malhotra D, Watson DK, Bagrov AY, Shapiro JI* (2009) Marinobufagenin induces increases in procollagen expression in a process involving protein kinase C and Fli-1: implications for uremic cardiomyopathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 296(5): F1219–F1226. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.90710.2008>
9. *Fleck C, Appenroth D, Jonas P, Koch M, Kundt G, Nizze H, Stein G* (2006) Suitability of 5/6 nephrectomy (5/6NX) for the induction of interstitial renal fibrosis in rats – influence of sex, strain, and surgical procedure. *Exp Toxicol Pathol* 57(3): 195–205. <https://doi.org/10.1016/j.etp.2005.09.005>
10. *Mikhailova EV, Romanova IV, Bagrov AY, Agalakova NI* (2023) Fli1 and Tissue Fibrosis in Various Diseases. *Int J Mol Sci* 24(3): 1881. <https://doi.org/10.3390/ijms24031881>
11. *Agalakova NI, Grigorova Y, Ershov I, Reznik VA, Mikhailova EV, Nadei OV, Samuilovskaya L, Romanova LA, Adair CD, Romanova IV, Bagrov A* (2022) Canrenone restores vasorelaxation im-

- paired by marinobufagenin in human preeclampsia. *Int J Mol Sci* 23: 3336.  
<https://doi.org/10.3390/ijms23063336>
12. Marques C, Meireles M, Norberto S, Leite J, Freitas J, Pestana D, Faria A, Conceição Calhau C (2016) High-fat diet-induced obesity Rat model: a comparison between Wistar and Sprague-Dawley Rat. *Adipocyte* 5(1): 11–21.  
<https://doi.org/10.1080/21623945.2015.1061723>
  13. Kühn ER, Bellon K, Huybrechts L, Heyns W (1983) Endocrine differences between the Wistar and Sprague-Dawley laboratory rat: influence of cold adaptation. *Horm Metab Res* 15(10): 491–498.  
<https://doi.org/10.1055/s-2007-1018767>
  14. Garg R, Heinzle E, Noor F (2018) Hepatocytes of Wistar and Sprague Dawley rats differ significantly in their central metabolism. *J Cell Biochem* 119(1): 909–917.  
<https://doi.org/10.1002/jcb.26255>
  15. Fujino H, Nakagawa M, Nishijima S, Okamoto N, Hanato T, Watanabe N, Shirai T, Kamiya H, Takeuchi Y (2005) Morphological differences in cardiovascular anomalies induced by bis-diamine between Sprague–Dawley and Wistar rats. *Congenit Anom (Kyoto)* 45: 52–58.  
<https://doi.org/10.1111/j.1741-4520.2005.00063.x>
  16. Bazilio DS, Rodrigues KL, Moraes DJA, Machado BH (2021) Distinct cardiovascular and respiratory responses to short-term sustained hypoxia in juvenile Sprague Dawley and Wistar Hanover rats. *Auton Neurosci* 230: 102746.  
<https://doi.org/10.1016/j.autneu.2020.102746>
  17. Snow JB, Kanagy NJ, Walker BR, Resta TC (2009) Rat Strain Differences in Pulmonary Artery Smooth Muscle Ca<sup>2+</sup> Entry Following Chronic Hypoxia. *Microcirculation* 16(7): 603–614.  
<https://doi.org/10.1080/10739680903114268>
  18. Svoboda J, Litvinec A, Kala D, Pošusta A, Vávrová L, Jiruška P, Otáhal J (2019) Strain differences in intraluminal thread model of middle cerebral artery occlusion in rats. *Physiol Res* 68(1): 37–48.  
<https://doi.org/10.33549/physiolres.933958>
  19. Kunze A, Zierath D, Drogomiretskiy O, Becker K (2014) Variation in behavioral deficits and patterns of recovery after stroke among different rat strains. *Transl Stroke Res* 5(5): 569–576.  
<https://doi.org/10.1007/s12975-014-0337-y>
  20. Raman RN, Pivetti CD, Ramsamooj R, Matthews DL, Demos SG, Troppmann C (2011) Factors influencing rat survival in a warm renal ischemia model: time to adapt the protocols. *Transplant Proc* 43(5): 1511–1514.  
<https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2011.01.177>
  21. Bidani AK, Mitchell KD, Schwartz MM, Navar LG, Lewis EJ (1990) Absence of glomerular injury or nephron loss in a normotensive rat remnant kidney model. *Kidney Int* 38: 28–38.  
<https://doi.org/10.1038/ki.1990.163>
  22. Appenroth D, Lupp A, Kriegsmann J, Sawall S, Splinther J, Sommer M, Stein G, Fleck C (2001) Temporary warm ischaemia, 5/6 nephrectomy and single uranyl nitrate administration—comparison of three models intended to cause renal fibrosis in rats. *Exp Toxicol Pathol* 53(4): 316–324.  
<https://doi.org/10.1078/0940-2993-00197>
  23. Saracyn M, Czarzasta K, Brytan M, Murawski P, Lewicki S, Ząbkowski T, Zdanowski R, Cudnoch-Jędrzejewska A, Kamiński GW, Wańkiewicz Z (2017) Role of Nitric Oxide Pathway in Development and Progression of Chronic Kidney Disease in Rats Sensitive and Resistant to its Occurrence in an Experimental Model of 5/6 Nephrectomy. *Med Sci Monit* 23: 4865–4873.  
<https://doi.org/10.12659/msm.903820>
  24. Erdely A, Freshour G, Tain YL, Engels K, Baylis C (2007) DOCA/NaCl-induced chronic kidney disease: a comparison of renal nitric oxide production in resistant and susceptible rat strains. *Am J Physiol Renal Physiol* 292(1): F192–F196.  
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00146.2006>
  25. Drábková N, Hojná S, Žicha J, Vaněčková I (2020) Contribution of selected vasoactive systems to blood pressure regulation in two models of chronic kidney disease. *Physiol Res* 69(3): 405–414.  
<https://doi.org/10.33549/physiolres.934392>
  26. de Oliveira MG, Nadruz W Jr, Mônica FZ (2022) Endothelial and vascular smooth muscle dysfunction in hypertension. *Biochem Pharmacol* 205: 115263.  
<https://doi.org/10.1016/j.bcp.2022.115263>
  27. Martínez-Díaz I, Martos N, Llorens-Cebrià C, Álvarez FJ, Bedard PW, Vergara A, Jacobs-Cachá C, Soler MJ (2023) Endothelin receptor antagonists in kidney disease. *Int J Mol Sci* 24(4): 3427.  
<https://doi.org/10.3390/ijms24043427>
  28. Podyacheva EY, Shmakova TV, Andreeva DD, Toropov RI, Cheburkin YV, Danilchuk MS, Martynov MO, Toropova YG (2023) Molecular markers profile of fibrosis in rats exposed to different doses of doxorubicin. *J Evol Biochem Physiol* 59(2): 359–368.  
<https://doi.org/10.1134/S0022093023020059>

**Comparative Analysis of the Fibrosis Factors Expression in the Heart Tissue of Sprague-Dawley and Wistar Rats during Development of Chronic Renal Failure**

**N. I. Agalakova<sup>a</sup>, E. V. Mikhailova<sup>a</sup>, A. A. Piankov<sup>b</sup>, O. V. Nadei<sup>a</sup>, I. A. Ershov<sup>a</sup>, M. V. Galagudza<sup>c</sup>, A. Y. Bagrov<sup>d</sup>, and I. V. Romanova<sup>a,\*</sup>**

<sup>a</sup>*Sechenov Institute of Evolutionary Physiology and Biochemistry, Russian Academy of Sciences, St.-Petersburg, Russia*

<sup>b</sup>*Peter the Great Saint-Petersburg Polytechnic University, St.-Petersburg, Russia*

<sup>c</sup>*Institute of Experimental Medicine, Almazov National Medical Research Center, Ministry of the Health of the Russian Federation, St.-Petersburg, Russia*

<sup>d</sup>*Padakonn Pharma, Narva, Estonia*

<sup>\*</sup>*e-mail: irinaromanova@mail.ru*

The severity of the development of uremic cardiomyopathy (UC) and fibrosis of cardiac tissue at chronic renal failure (CRF) was compared in the model experiments on male Sprague-Dawley and Wistar rats of the SPF category. To induce CRF in rats, subtotal nephrectomy (NE) was performed on the left, and after 2 weeks, total nephrectomy on the right. Sham-operated (Sham) animals served as controls. 4 weeks after the second surgery, blood pressure (BP) was measured in animals, and the expression of fibrotic factors (transcription factor Fli1, pro-collagen-I, collagen-I and collagen-IV) in the tissues of heart left ventricle was evaluated by real-time PCR and immunoblotting. After NE, Sprague-Dawley rats exhibited a significant increase in systolic blood pressure and left ventricular hypertrophy. In Wistar rats, the difference in BP between NE and Sham animals was smaller, and the ratio of left ventricular mass to body weight did not change. Experimental CRF in Sprague-Dawley rats was accompanied by a 1.5–2.5-fold suppression of the *Fli1* gene expression and a decrease in the content of Fli1 protein in the cardiac tissue, while no significant differences were observed in Wistar rats. The levels of pro-collagen-I and collagen-I in the heart of rats of both lines did not change either at the levels of transcription or translation. Such difference in development of pathological processes indicates ineffectiveness of applied NE scheme for induction of UC and investigation of pro-fibrotic processes in Wistar rats.

**Keywords:** renal failure, nephrectomy, heart, fibrosis, Fli1