

DOI: 10.7868/S2658655X26030041  
УДК 616.61

Экспериментальная статья

## **Гистологические и молекулярные особенности костного ремоделирования на ранних стадиях хронической дисфункции почек: экспериментальное исследование**

**Е.О. Богданова<sup>1,\*</sup>, А.М. Садыков<sup>1</sup>, Г.Т. Иванова<sup>2</sup>, И.М. Зубина<sup>1</sup>,  
О.Н. Береснева<sup>1</sup>, О.В. Галкина<sup>1</sup>, В.В. Шаройко<sup>1</sup>, Н.Ю. Семёнова<sup>3</sup>,  
М.М. Парастаева<sup>1</sup>, В.А. Добронравов<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

<sup>2</sup>*Институт физиологии им. И.П. Павлова Российской академии наук, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

<sup>3</sup>*Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова, Санкт-Петербург, Российская Федерация*

*\*E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com*

*Аннотация.* Минеральные и костные нарушения при хронической болезни почек (МКН-ХБП) традиционно связывают с гиперфосфатемией и вторичным гиперпаратиреозом. Однако накопленные данные свидетельствуют о формировании МКН-ХБП задолго до появления очевидных системных изменений, что указывает на наличие неизученных ранних механизмов патогенеза. Цель исследования – оценка гистоморфометрических и молекулярно-генетических изменений костной ткани в моделях хронической дисфункции почек (ДП). Начальные стадии ДП моделировали у крыс SHR при сроке наблюдения 6 месяцев (ЛО6) и при комбинировании гипертензии с 3/4-нефрэктомией (НЭ2, НЭ6 – 2 и 6 месяцев). Контролем служили крысы WKY (K2) и SHR (ЛО2) со сроком наблюдения 2 месяца. Во всех группах оценивали клиренс креатинина, альбуминурию, интерстициальный фиброз почек, концентрации неорганического фосфата (Pi), интактного паратиреоидного гормона (ПТГ), фактора роста фибробластов 23 (FGF23), Klotho, Dickkopf-1, склеростина; выполняли гистоморфометрию и иммуногистохимическое исследование кости, анализ экспрессии генов Pi-транспортеров и сигнальных путей. Концентрации Pi, Dickkopf-1 и склеростина в сыворотке были достоверно повышены при НЭ6. Уровни ПТГ, FGF23 и экскреция Pi с мочой значимо не различались. Снижение площади трабекулярной кости и количества остеоцитов обнаружено в группах ЛО6, НЭ2 и НЭ6; количества остеобластов – в НЭ2 и НЭ6; индекса резорбции (эродированный периметр) – в НЭ6. В группах НЭ2 и НЭ6 гистологические изменения сопровождались подавлением экспрессии генов Pi-транспортеров и сигнальных путей MAPK, BMP, WNT. Таким образом, гистологические признаки

снижения костеобразования обнаруживаются на начальных стадиях ДП при нормальных уровнях системных регуляторов  $Pi$ -обмена (ПТГ, FGF23). В основе выявленных изменений может лежать локальное подавление экспрессии генов  $Pi$ -транспортеров и внутриклеточных сигнальных путей, критически важных для остеобластогенеза.

*Ключевые слова:* экспериментальная дисфункция почек, ремоделирование костной ткани, гистоморфометрия кости, транспорт неорганического фосфата

*Финансирование.* Работа выполнена за счет средств Государственного задания ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» (№ 121061700145-2, SGXL-2025-0004) и государственного задания ФГБУН «Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН» (№ 1021062411787-0-3.1.8).

*Соблюдение этических стандартов.* Все манипуляции, выполненные в исследованиях с участием животных, соответствовали этическим стандартам, утвержденным правовыми актами РФ, директиве Совета Европейского сообщества (2010/63EU). Исследование проведено в соответствии с «Кодексом практики содержания и ухода за животными, используемыми в научных процедурах» при одобрении локальным Этическим комитетом Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (номер протокола № 06/03 от 6 марта 2023 г.).

*Конфликт интересов.* Все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

*Вклад авторов в публикацию.* БЕО, ДВА – идея работы и планирование эксперимента; БЕО – сбор и обработка данных, написание манускрипта; ТГИ, БОН – планирование эксперимента; ТГИ, БОН, ПММ – проведение эксперимента; БЕО, САМ, СНЮ, ШВВ, ЗИМ – методология; ГОВ – ресурсы; БОН, ЗИМ – редактирование манускрипта.

*Ссылка для цитирования:* Богданова Е.О., Садыков А.М., Иванова Г.Т., Зубина И.М., Береснева О.Н., Галкина О.В., Шаройко В.В., Семёнова Н.Ю., Парастаева М.М., Добронравов В.А. Гистологические и молекулярные особенности костного ремоделирования на ранних стадиях хронической дисфункции почек: экспериментальное исследование. *Российский физиологический журнал им. И.М. Сеченова / Russian Journal of Physiology*. 2026. Т. 112. № 3. С. 697–717. <https://doi.org/10.7868/S2658655X26030041>

## Histological and Molecular Features of Bone Remodeling at Early Stages of Chronic Kidney Disease: An Experimental Study

E.O. Bogdanova<sup>1</sup>, A.M. Sadykov<sup>1</sup>, G.T. Ivanova<sup>2</sup>, I.M. Zubina<sup>1</sup>,  
O.N. Beresneva<sup>1</sup>, O.V. Galkina<sup>1</sup>, V.V. Sharoyko<sup>1</sup>, N.Yu. Semenova<sup>3</sup>,  
M.M. Parastaeva<sup>1</sup>, V.A. Dobronravov<sup>1</sup>

<sup>1</sup>*Pavlov University, St. Petersburg, Russian Federation*

<sup>2</sup>*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences,  
St. Petersburg, Russian Federation*

<sup>3</sup>*National Medical Research Center named after V.A. Almazov,  
St. Petersburg, Russian Federation*

**Abstract.** Mineral and bone disorders in chronic kidney disease (CKD-MBD) are traditionally associated with hyperphosphatemia and secondary hyperparathyroidism. However, evidence suggests that CKD-MBD develops before overt systemic changes, indicating unexplored early mechanisms. This study assessed bone histomorphometric and molecular genetic changes in bone tissue in models of chronic kidney dysfunction. Early-stage kidney dysfunction was obtained in spontaneously hypertensive rats (SHR), including sham-operated SHR observed for 6 months (SO6), or in SHR subjected to 3/4 nephrectomy (Nx2 and Nx6, corresponding to 2 and 6 months, respectively). Sham-operated SHR (SO2) and WKY rats (K2) were controls. Creatinine clearance, albuminuria, renal interstitial fibrosis, serum inorganic phosphate (Pi), intact parathyroid hormone (PTH), fibroblast growth factor 23 (FGF23), Klotho, Dickkopf-1, and sclerostin, bone tissue histomorphometry, immunomorphology, and gene expression of Pi transporters and osteogenic signaling pathways were assessed. Serum concentrations of Pi, Dickkopf-1, and sclerostin were significantly increased in Nx6. Levels of PTH, FGF23, and urinary Pi excretion did not differ significantly between groups. A decrease in trabecular bone area and osteocyte number was observed in SO6, Nx2, and Nx6, whereas osteoblast number decreased in Nx2 and Nx6, and the resorption index (eroded perimeter) decreased in Nx6. In Nx2 and Nx6, histological features of reduced bone formation were associated with down-regulation in genes related to Pi transport and MAPK, WNT, BMP pathways. Thus, histological features of reduced bone formation are detected at the early stages of kidney dysfunction despite normal levels of systemic regulators of Pi metabolism (PTH, FGF23). These changes may be driven by local downregulation of genes encoding Pi transporters and intracellular signaling pathways that are critical for osteoblastogenesis.

**Keywords:** experimental kidney disease, bone remodeling, bone histomorphometry, inorganic phosphate transport

**Funding.** This work was funded by the State Assignment of the First Saint Petersburg State Medical University named after Academician I.P. Pavlov

(No. 121061700145-2, SGXL-2025-0004) and the state assignment of the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences (No. 1021062411787-0-3.1.8).

*Ethics declarations.* All manipulations performed in studies involving animals complied with the ethical standards established by the legislation of the Russian Federation and the Council Directive of the European Community (2010/63EU). The study was conducted in accordance with the “Code of Practice for the Care and Maintenance of Animals Used in Scientific Procedures” and was approved by the local Ethics Committee of the Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences (Protocol No. 06/03, dated March 6, 2023).

*Conflict of interests.* The authors declare no conflicts of interest.

*Authors contribution.* BEO, DVA – concept of the study and experimental design; BEO – data collection and processing, manuscript writing; TGI, BON – experimental design; TGI, BON, PMM – experiment execution; BEO, SAM, SNYu, ShVV, ZIM – methodology; GOV – resources; BON, ZIM – manuscript editing.

*For Citation:* Bogdanova E.O., Sadykov A.M., Ivanova G.T., Zubina I.M., Beresneva O.N., Galkina O.V., Sharoyko V.V., Semenova N.Yu., Parastaeva M.M., Dobronravov V.A. Histological and molecular features of bone remodeling at early stages of chronic kidney disease: an experimental study. *Rossiiskii fiziologicheskii zhurnal imeni I.M. Sechenova / Russian Journal of Physiology*. 2026;112(3):697–717. (In Russ.) <https://doi.org/10.7868/S2658655X26030041>

## ВВЕДЕНИЕ

Нарушение метаболизма неорганического фосфата (Pi) – ключевое проявление прогрессирующей хронической болезни почек (ХБП) [1]. Развивающаяся при этом гиперфосфатемия – показатель положительного баланса Pi, является критическим фактором риска неблагоприятных исходов и важной терапевтической мишенью [2, 3]. Устойчивое повышение уровня Pi в сыворотке крови возникает при значительном снижении количества функционирующих нефронов (<30–40%) [1]. Повышение концентрации паратиреоидного гормона (ПТГ) и фактора роста фибробластов 23 (FGF23) уравнивает почечную ретенцию Pi и сдерживает гиперфосфатемию [4–9]. Дисбаланс эндокринной и паракринной регуляции Pi и кальция при ХБП лежит в основе развития системных поражений скелета, патологического ремоделирования миокарда и сосудов, объединяемых синдромом минеральных и костных нарушений при ХБП (МКН-ХБП) [3, 8–13].

Показано, что степень повреждения почек прямо коррелирует с выраженностью костных аномалий [12], которые наблюдаются у большинства пациентов с терминальной стадией ХБП [14–19]. МКН-ХБП связаны с формированием различных костных фенотипов [2, 7, 8, 10–13, 15–21], среди которых выделяют фиброзный остит (высокий костный обмен), адинамическую болезнь кости (низкий или отсутствующий костный обмен) и смешанные формы [2, 8, 10–13, 15–21].

Большинство экспериментальных и клинических исследований МКН-ХБП выполнено на более поздних стадиях заболевания [10, 11, 14–18]. В экспериментальных исследованиях с использованием 5/6-нефрэктомии или генетических

моделей получено снижение функции почек до 50% и выше, что сопоставимо с ХБП 3–5 стадий у человека [6–8, 10, 11, 13]. В данных условиях изменения скелета развиваются уже на фоне гиперфосфатемии [7, 8, 11, 13] и/или выраженных нарушений гормональной регуляции, включающих значительное повышение уровней FGF23, ПТГ [7, 10, 12, 13]. Наблюдаемый в ряде моделей гиперпаратиреоз ассоциирован с повышенным костным обменом, вероятно, обусловленным активацией канонического сигнального пути WNT пути (cWnt) [2, 7–10, 15, 16, 18, 19]. В противоположность этому, ХБП, протекающая с нормальным или сниженным уровнем ПТГ [8, 12, 13, 18–20] и активацией ингибиторов cWnt (iWnt) [8, 13], характеризуется сниженным костным обменом. Важно, что повышенный уровень ПТГ может быть обнаружен и при сниженном костном обмене (адинамическом фенотипе) [12, 21, 22], что подчеркивает сложность контррегуляторных взаимодействий в патогенезе МКН-ХБП.

Недостаток данных о молекулярных и клеточных механизмах, запускающих нарушения при МКН-ХБП, диктует необходимость изучения особенностей ремоделирования костной ткани на ранних стадиях ХБП. Получение таких данных может стать основой для разработки превентивных терапевтических стратегий, направленных на предотвращение тяжелых и часто необратимых поражений скелета у пациентов с ХБП.

Целью исследования явилось комплексное изучение ранних молекулярно-клеточных механизмов, лежащих в основе дисрегуляции ремоделирования костной ткани на ранних стадиях хронической дисфункции почек (ДП).

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Крысы были получены из центра коллективного пользования «Биоколлекция» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (Санкт-Петербург, Россия). Взрослых самцов крыс линий SHR и Wistar Kyoto (WKY) массой тела 190–230 г содержали в стандартных условиях вивария Института физиологии им. И.П. Павлова РАН по 5 особей в клетке. Животные имели свободный доступ к воде и стандартному корму (0,6% фосфора). Ранние стадии ДП моделировали при комбинировании артериальной гипертензии (АГ) у крыс SHR и ложной операции (ЛО) или АГ и 3/4 нефрэктомии (НЭ). Были получены три группы, соответствующие начальным стадиям хронической ДП: (i) АГ + ЛО с шестимесячным сроком наблюдения (ЛО6); (ii) АГ + НЭ с двухмесячным сроком наблюдения (НЭ2); (iii) АГ + НЭ с шестимесячным сроком наблюдения (НЭ6). ЛО крысы линий WKY (К2) и SHR (ЛО2) с двухмесячным наблюдением служили контролем. Перед выведением из эксперимента у бодрствующих крыс измеряли систолическое артериальное давление (АД) манжеточным методом на хвосте с использованием электроманометра (ELEMA, Швеция). Суточную мочу собирали в индивидуальных метаболических камерах. Образцы крови, левой почки и большеберцовой кости забирали немедленно после эвтаназии. Кровь и мочу центрифугировали при 3000 об/мин в течение 10 мин и алиquotировали.

*Биохимические и молекулярно-генетические исследования.* Концентрации креатинина и  $P_i$  измеряли на анализаторе SYNCHRON CX DELTA с использованием соответствующих наборов (Beckman Coulter, США). Рассчитывали фракционную (FEP $_i$ ) и абсолютную экскрецию  $P_i$  почками. Уровень альбумина в моче определяли методом иммунотурбидиметрии с использованием наборов реагентов (Vital,

Санкт-Петербург, Россия) на анализаторе CA-90 (Fuguno, Нагасаки, Япония). Для измерения содержания фосфора в костной ткани применяли метод атомно-эмиссионной спектроскопии с индуктивно связанной плазмой (АЭС-ИСП) в соответствии с ранее опубликованной методикой [23]. Уровни интактных ПТГ и FGF23, Dickkopf-1 и склеростина измеряли методом мультиплексного иммуноанализа на магнитных микросферах с использованием набора MILLIPLEX MAP «Rat Bone Magnetic Bead Panel 1» (EDM Millipore Corporation, США) на анализаторе Bio-Plex 200 (BioRad, США). Концентрацию Klotho в сыворотке крови определяли методом ИФА с помощью набора  $\alpha$ -Klotho ELISA Kit for Rat (Cloud-Clone Corp., США) и планшетного ридера Immunochem 2100 (High Technology, США). Экспрессию генов-мишеней и референсного гена *Gapdh* (глицеральдегид-3-фосфатдегидрогеназа) в костной ткани анализировали методом количественной мультиплексной ПЦР в реальном времени с использованием TaqMan зондов [24].

*Гистологическое и иммуногистохимическое исследование.* Фрагменты почки и большеберцовой кости фиксировали в 10%-ном нейтральном забуференном формалине с последующей стандартной проводкой и заливкой в парафин [24]. Для гистологического анализа серийные срезы толщиной 1,5–2 мкм окрашивали гематоксилином и эозином, реактивом Шиффа (PAS, «Лабико», Россия), трихромом по Массону («Биовитрум», Россия), толуидиновым синим с Fast green («Лабико», Россия) и TRAP (татрат-резистентная кислая фосфатаза) для визуализации остеокластов (Servicebio, Китай). Для иммуногистохимического исследования костной ткани использовали поликлональные кроличьи антитела к Dickkopf-1 (разведение 1 : 400, Cat. № ab109416, Abcam, Великобритания) и склеростину (разведение 1 : 100, Cat. № ab63097, Abcam, Великобритания). Детекцию проводили в соответствии с ранее описанным протоколом [24].

*Количественная морфометрия.* Количественную оценку проводили с использованием программного обеспечения Orbit Image Analysis 3.64 и Panoramic Viewer 1.15.4 [24]. Площадь интерстициального фиброза (ИФ) почек и статические гистоморфометрические параметры костной ткани оценивали два независимых исследователя, не имевшие информации о принадлежности образцов к экспериментальным группам. Гистоморфометрический анализ выполняли в соответствии с руководством «Bone Research Protocols, Methods in Molecular Biology (Histomorphometry in Rodents)» [25] и рекомендациями Комитета по номенклатуре Американского общества по изучению кости и минерального обмена [26].

*Статистический анализ* данных проводили с использованием программного обеспечения GraphPad Prism версии 8.0.1 (GraphPad Software, Сан-Диего, США). Результаты представлены в виде медиан и межквартильного размаха [IQR]. Сравнение групп выполняли с помощью *H*-критерия Краскела–Уоллиса и двустороннего *U*-критерия Манна–Уитни. Учитывая целенаправленный, гипотез-ориентированный дизайн сравнений (сравнение каждой экспериментальной группы с контролем), поправку на множественные сравнения на данном этапе не применяли с целью минимизации риска ложноотрицательных результатов (ошибки II рода). Для выявления взаимосвязей между парами переменных использовали коэффициент ранговой корреляции Спирмена. Статистически значимыми считали различия при значениях  $p < 0,05$ . Анализ взаимодействий продуктов дифференциально экспрессируемых генов выполняли с использованием базы данных Search Tool for Recurring Instances of Neighboring Genes (STRING) (<https://string-db.org/>; дата обращения: 15 сентября 2025 г.).

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

У крыс контрольной группы SHR (ЛО2) показатели хронического повреждения почек не отличались от нормотензивного контроля WKY (K2) (табл. 1). Во всех моделях ДП (ЛО6, НЭ2, НЭ6) отмечали более высокие уровни сывороточного креатинина (Cr), альбуминурии, площади ИФ почки и сниженные уровни Klotho (табл. 1). В группах ЛО6, НЭ2, НЭ6 альбуминурия была выше в 6–12 раз, в то время как различия клиренса Cr и ИФ почек не превышали 30% по сравнению с контрольной группой ЛО2, что указывает на соответствие почечного повреждения в экспериментальных моделях 1–2-м стадиям ХБП у человека.

*Минерально-костные нарушения в моделях дисфункции почек.* Содержание фосфора в костной ткани, уровни FGF23 и ПТГ, абсолютная экскреция Pi достоверно не различались между группами (табл. 1). Концентрации Pi, Dickkopf-1 и склеростина в сыворотке крови были достоверно выше в НЭ6 (табл. 1).

Сниженные значения площади трабекулярной кости (рис. 1а, е) и количества остеоцитов (рис. 1б, е) обнаружены в группах ЛО6, НЭ2 и НЭ6. Группы НЭ2 и НЭ6 дополнительно демонстрировали редукцию относительного количества остеобластов (рис. 1в, е), а группа НЭ6 – индекса резорбции (эродированного периметра) (рис. 1д, е).

*Молекулярные основы сниженного костного обмена.* Во всех моделях ДП с минерально-костными нарушениями (ЛО6, НЭ2, НЭ6) наблюдали сниженную экспрессию генов транспортеров Pi и Ppi – *Slc20a1*, *Slc20a2*, *Xpr1*, *Ankh*, остеобластогенеза и формирования костной ткани – *Sp7*, *Cttnb1*, *Bmp4*, *Mapk1/3* (рис. 2а, б). Анализ взаимодействий продуктов дифференциально экспрессируемых генов выявил наличие статистически значимой сети ( $p$  сети < 0,001; confidence score > 0,7), что указывает на скоординированное нарушение специфических биологических процессов – транспорта Pi (*Slc20a1*/PiT1, *Slc20a2*/PiT2, *Xpr1*, *Ankh*), клеточного ответа на стресс (*Bmp4*, *Cttnb1*/β-catenin, *Mapk1*/Erk2, *Mapk3*/Erk1) и дифференцировки остеобластов (*Bmp4*, *Sp7*, *Cttnb1*/β-catenin) (рис. 2в). Экспериментальное воздействие приводило к достоверному изменению определенных молекулярных функций – регуляции транспорта неорганического фосфата и сигнального пути MAPK/ERK ( $p$  < 0,001; similarity ≥ 0,8, рис. 2г).

При иммуногистохимическом окрашивании экспрессию ингибиторов канонического WNT пути – Dickkopf-1 и склеростина, детектировали в остеоцитах и эндотелиоцитах (рис. 3а, в), хондроцитах и внеклеточном матриксе хрящевой зоны, клетках костного мозга. Доля Dickkopf-1-позитивных и склеростин-позитивных остеоцитов в диафизе была значительно повышена в группах НЭ2 и НЭ6 по сравнению с группой ЛО2 (рис. 3б) и группой ЛО6 (рис. 3б, г).

При пулированном корреляционном анализе в группе SHR гистологические и молекулярные параметры формирования костной ткани были негативно ассоциированы с концентрацией Cr в сыворотке крови (табл. 2). Связь параметров костного формирования с уровнями FGF23 и ПТГ отсутствовала (табл. 2). Экспрессия гена *Slc20a2* (PiT2, внутриклеточный транспорт Pi) негативно коррелировала с клиренсом Pi почкой. Уровень сывороточного Pi был отрицательно ассоциирован с гистологическими показателями, характеризующими костную резорбцию (стандартизованное количество остеокластов и доля эродированного периметра, табл. 2).

**Таблица 1.** Сравнительная характеристика экспериментальных групп: параметры повреждения почек, минерального обмена и системных регуляторов костного ремоделирования

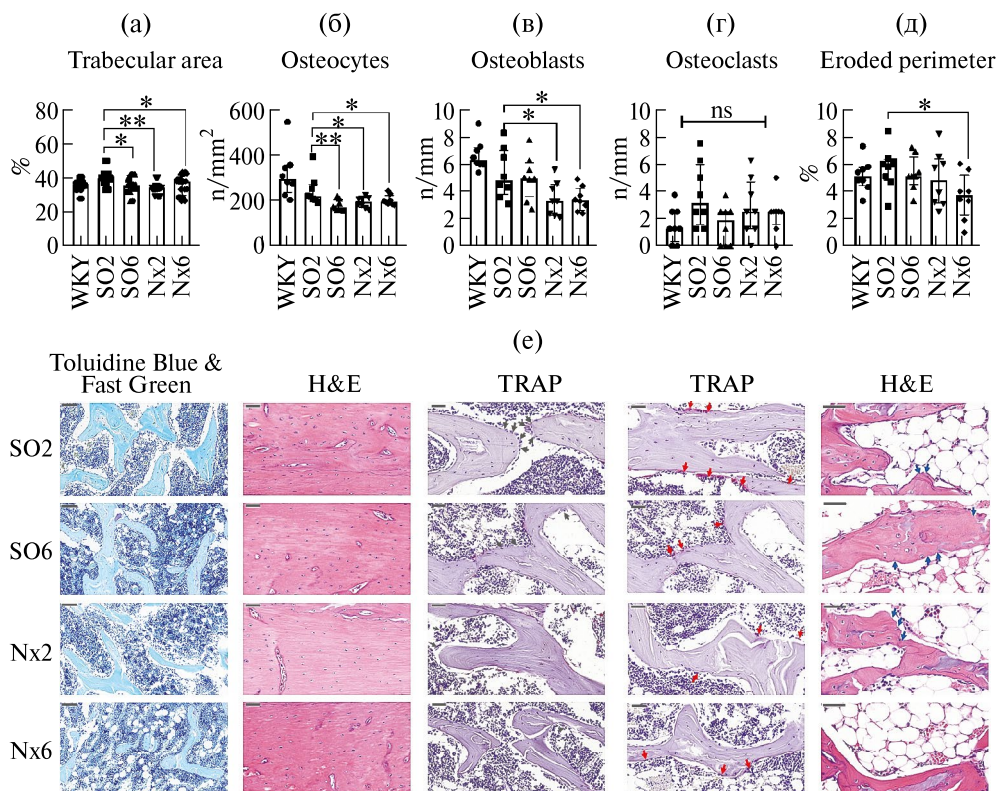
**Table 1.** Group characteristics: kidney injury parameters, mineral metabolism and systemic regulators of bone remodeling

Группа (номер)	K2 (1)		ЛЮ2 (2)		ЛЮ6 (3)		НЭ2 (4)		НЭ6 (5)	
	WKY		SHR		SHR		SHR		SHR	
Линия животных	WKY		SHR		SHR		SHR		SHR	
Модель	Контроль		SHR контроль		SHR операция		SHR операция		SHR операция	
Операция	Ложная операция		Ложная операция		Ложная операция		Ложная операция		Ложная операция	
Начальные стадии ХБП	Начальные стадии ХБП		Начальные стадии ХБП		Начальные стадии ХБП		Начальные стадии ХБП		Начальные стадии ХБП	
Операция	Ложная операция		Ложная операция		Ложная операция		Ложная операция		Ложная операция	
Нефректомия 3/4	Нефректомия 3/4		Нефректомия 3/4		Нефректомия 3/4		Нефректомия 3/4		Нефректомия 3/4	
Продолжительность эксперимента, мес	2	2	2	2	6	6	2	2	6	6
Количество животных, n	8	8	8	8	8	8	8	8	8	8
Систолическое давление, мм Hg	135 (130; 142) <sup>2-4#</sup>	170 (160; 182) <sup>3,4*5#</sup>	195 (183; 200)	195 (183; 200)	195 (183; 200)	195 (183; 200)	195 (180; 205)	195 (180; 205)	208 (195; 223)	208 (195; 223)
Креатинин сыворотки, мкмоль/л	74 (69; 79) <sup>3-5#</sup>	73 (68; 77) <sup>3-5‡</sup>	83 (81; 86) <sup>4,5#</sup>	83 (81; 86) <sup>4,5#</sup>	83 (81; 86) <sup>4,5#</sup>	83 (81; 86) <sup>4,5#</sup>	93 (91; 97) <sup>5#</sup>	93 (91; 97) <sup>5#</sup>	107 (102; 110)	107 (102; 110)
Клиренс креатинина, мл/мин/100 г	0,20 (0,15; 0,26)	0,27 (0,20; 0,35) <sup>4,5‡</sup>	0,23 (0,14; 0,30)	0,23 (0,14; 0,30)	0,23 (0,14; 0,30)	0,23 (0,14; 0,30)	0,19 (0,16; 0,23)	0,19 (0,16; 0,23)	0,19 (0,16; 0,25)	0,19 (0,16; 0,25)
Альбумин /креатинин мочи, мг/мг	0,026 (0,017; 0,035) <sup>3-5#</sup>	0,043 (0,031; 0,065) <sup>3-5‡</sup>	0,288 (0,237; 0,336)	0,288 (0,237; 0,336)	0,288 (0,237; 0,336)	0,288 (0,237; 0,336)	0,327 (0,153; 0,370)	0,327 (0,153; 0,370)	0,543 (0,345; 1,114)	0,543 (0,345; 1,114)
Почечный интерстициальный фиброз, %	2,5 (1,6; 3,1) <sup>3-5#</sup>	1,9 (0,1; 3,3) <sup>3-5#</sup>	5,8 (3,5; 7,2) <sup>‡#</sup>	5,8 (3,5; 7,2) <sup>‡#</sup>	5,8 (3,5; 7,2) <sup>‡#</sup>	5,8 (3,5; 7,2) <sup>‡#</sup>	6,9 (3,9; 7,7) <sup>‡#</sup>	6,9 (3,9; 7,7) <sup>‡#</sup>	14,5 (13,2; 17,2)	14,5 (13,2; 17,2)
Klotho сыворотки, пг/мл	2698 (2413; 2831)	2916 (2520; 5374) <sup>3-5*#</sup>	2043 (1676; 2663)	2043 (1676; 2663)	2043 (1676; 2663)	2043 (1676; 2663)	2304 (2074; 2524)	2304 (2074; 2524)	2259 (1428; 2696)	2259 (1428; 2696)
Pi сыворотки, ммоль/л	1,47 (1,22; 1,60) <sup>3-5#</sup>	1,89 (1,79; 1,95) <sup>5*#</sup>	1,90 (1,80; 1,98) <sup>‡‡</sup>	1,90 (1,80; 1,98) <sup>‡‡</sup>	1,90 (1,80; 1,98) <sup>‡‡</sup>	1,90 (1,80; 1,98) <sup>‡‡</sup>	1,60 (1,50; 1,84) <sup>5*#</sup>	1,60 (1,50; 1,84) <sup>5*#</sup>	2,21 (2,15; 2,28)	2,21 (2,15; 2,28)
Pi/креатинин мочи, мг/мг	5,6 (4,5; 6,5) <sup>5*#</sup>	8,9 (6,9; 10,1)	8,6 (7,9; 9,8)	8,6 (7,9; 9,8)	8,6 (7,9; 9,8)	8,6 (7,9; 9,8)	10,1 (7,6; 12,7)	10,1 (7,6; 12,7)	9,3 (8,9; 11,2)	9,3 (8,9; 11,2)
Фосфор кости, г/кг	58,6 (33,4; 62,7)	63,5 (58,1; 64,5)	62,8 (61,8; 64,1)	62,8 (61,8; 64,1)	62,8 (61,8; 64,1)	62,8 (61,8; 64,1)	62,8 (55,2; 65,6)	62,8 (55,2; 65,6)	59,7 (58,9; 63,6)	59,7 (58,9; 63,6)
ПТТ, пг/мл	55,1 (12,7; 112,9)	76,6 (18,4; 111,0)	45,5 (12,6; 67,1)	45,5 (12,6; 67,1)	45,5 (12,6; 67,1)	45,5 (12,6; 67,1)	45,9 (21,2; 76,6)	45,9 (21,2; 76,6)	33,5 (9,6; 84,9)	33,5 (9,6; 84,9)
FGF23, пг/мл	351 (290; 836)	361 (330; 1530)	468 (326; 694)	468 (326; 694)	468 (326; 694)	468 (326; 694)	676 (330; 793)	676 (330; 793)	630 (330; 953)	630 (330; 953)
Dkkorf-1 сыворотки, пг/мл	965 (845; 1175)	1221 (975; 1534)	466 (100; 979) <sup>4*‡†</sup>	466 (100; 979) <sup>4*‡†</sup>	466 (100; 979) <sup>4*‡†</sup>	466 (100; 979) <sup>4*‡†</sup>	1402 (994; 1605)	1402 (994; 1605)	1017 (876; 1264)	1017 (876; 1264)
Склеростин сыворотки, пг/мл	233 (161; 292)	246 (157; 433)	94 (50; 169) <sup>‡*</sup>	94 (50; 169) <sup>‡*</sup>	94 (50; 169) <sup>‡*</sup>	94 (50; 169) <sup>‡*</sup>	212 (119; 251)	212 (119; 251)	221 (161; 263)	221 (161; 263)

Надстрочные индексы соответствуют уровню статистической значимости межгрупповых различий с обозначением номера группы сравнения: \* -  $p < 0,05$ ; † -  $p < 0,01$ ; ‡ -  $p < 0,005$ ; # -  $p < 0,001$ .

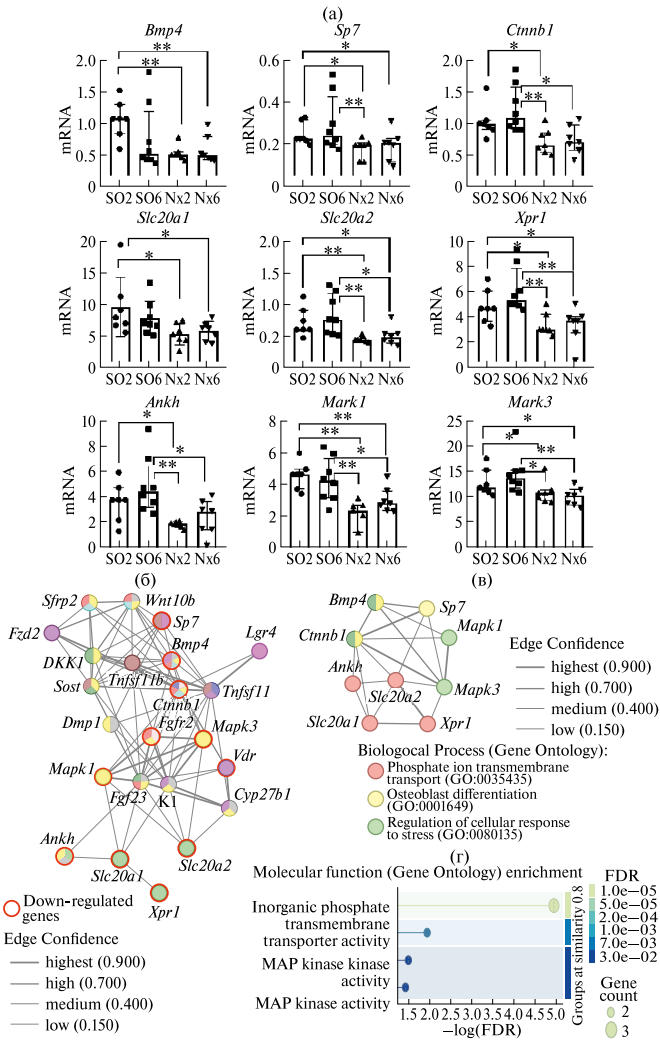
The superscripts correspond to the level of statistical significance of the intergroup differences with the designation of the comparison group number:

\* -  $p < 0,05$ , † -  $p < 0,01$ , ‡ -  $p < 0,005$ , # -  $p < 0,001$ .



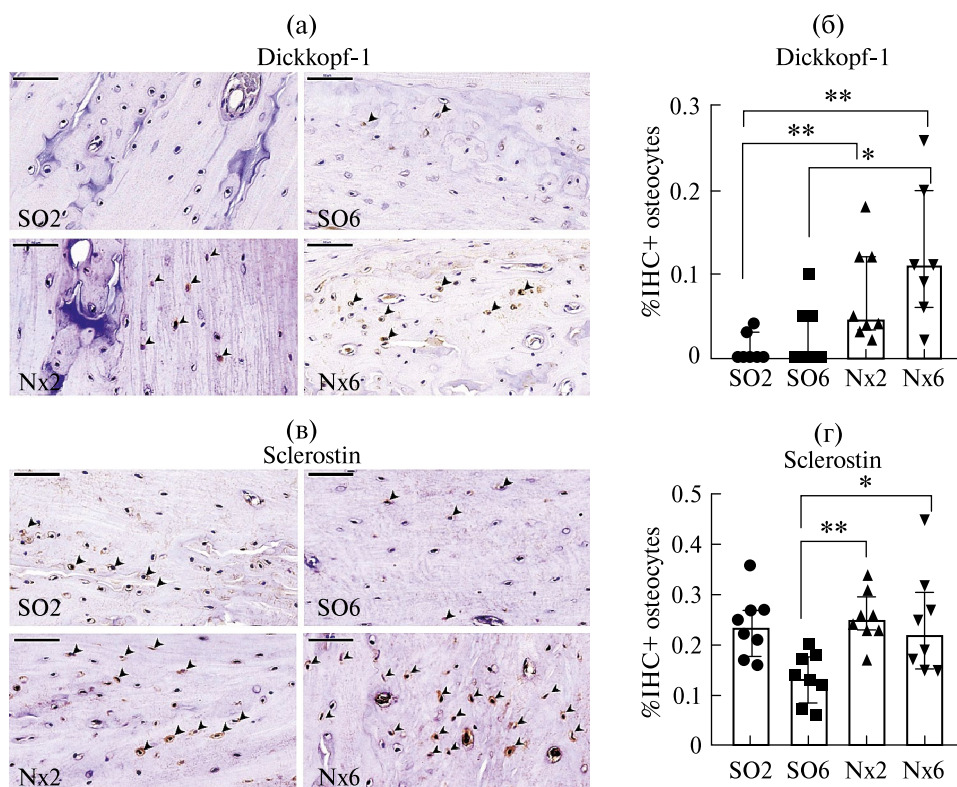
**Рис. 1.** Ремоделирование костной ткани в моделях по данным статической гистоморфометрии: (а) – площадь трабекулярной костной ткани (В.Аг/Т.Аг, %); (б) – количество остеоцитов (N.От/Т.Аг, шт/мм<sup>2</sup>); (в) – количество остеобластов (N.Об/В.Рм, шт/мм); (г) – количество остеокластов (N.Ос/В.Рм, шт/мм); (д) – эродированный периметр (Е.Рм/В.Рм, %); (е) – репрезентативные микрофотографии кости в контрольной группе (SO2) и группах с ранними стадиями экспериментальной ДП (SO6, Н×2 и Н×6); черные стрелки – активные остеобласты, красные стрелки – остеокласты, синие стрелки – эродированный периметр; Toluidine Blue & Fast Green: масштабная линейка 100 мкм; H&E, TRAP: масштабная линейка – 50 мкм. *n.s.* –  $p \geq 0,05$ ; К – ложнооперированные крысы WKY; ЛО – ложнооперированные крысы SHR; НЭ – нефрэктомированные крысы SHR; ХБП – хроническая болезнь почек

**Fig. 1.** Bone remodeling in models based on static histomorphometry data: (a) – trabecular bone area (B.Ar/T.Ar, %); (б) – the number of osteocytes (N.Ot/T.Ar, pcs/mm<sup>2</sup>); (в) – the number of osteoblasts (N.Ob/B.Pm, pcs/mm); (г) – the number of osteoclasts (N.Oc/B.Pm, pcs/mm); (д) – the eroded perimeter (E.Pm/B.Pm, %); (e) – representative micrographs of bone in the control group (SO2) and groups with early stages of experimental DP (SO6, H×2 and H×6); black arrows – active osteoblasts, red arrows – osteoclasts, blue arrows – eroded perimeter; Toluidine Blue & Fast Green: scale ruler of 100 microns; H&E, TRAP: scale bar of 50 microns. *n.s.* –  $p \geq 0.05$ ; K – sham-operated WKY rats; LO – sham-operated SHR rats; NE – nephrectomized SHR rats; CKD – chronic kidney disease



**Рис. 2.** Анализ экспрессии генов и их функциональных взаимодействий (STRING Database, <https://string-db.org/>): (a) – относительная экспрессия генов со значимыми изменениями: *Bmp4*, *Sp7*, *Ctnnb1*, *Slc20a1* (Pit1), *Slc20a2* (Pit2), *Xpr1*, *Ankh*, *Mapk1* (ERK2), *Mapk3* (ERK1); (б) – предсказанная сеть взаимодействий всех исследованных генов с указанием дифференциально-экспрессируемых генов; (в) – сеть взаимодействий и ассоциированные биологические процессы для дифференциально экспрессируемых генов; (г) – обогащение дифференциально-экспрессируемых генов по молекулярным функциям

**Fig. 2.** Analysis of gene expression and their functional interactions (STRING Database, <https://string-db.org/>): (a) – relative expression of genes with significant changes: *Bmp4*, *Sp7*, *Ctnnb1*, *Slc20a1* (Pit1), *Slc20a2* (Pit2), *Xpr1*, *Ankh*, *Mapk1* (ERK2), *Mapk3* (ERK1); (б) – predicted a network of interactions of all studied genes with indication of differentially expressed genes; (в) – a network of interactions and associated biological processes for differentially expressed genes; (г) – enrichment of differentially expressed genes by molecular functions



**Рис. 3.** Репрезентативные микрофотографии иммуногистохимического исследования кости и количественная морфометрия: (а) – экспрессия Dickkopf-1; (б) – гистограмма доли Dickkopf-1-положительных остеоцитов; (в) – экспрессия склеростина; (г) – гистограмма доли склеростин-положительных остеоцитов; стрелки – положительно-окрашенные остеоциты. Масштабная линейка – 50 мкм

**Fig. 3.** Representative micrographs of bone immunohistochemical examination and quantitative morphometry: (a) Dickkopf-1 expression; (б) histogram of the proportion of Dickkopf-1-positive osteocytes; (в) sclerostin expression; (г) histogram of the proportion of sclerostin-positive osteocytes; arrows indicate positively stained osteocytes. The scale bar is 50 μm

## ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В ходе проведенного исследования выявлены отчетливые гистологические и молекулярные изменения костной ткани уже на ранних стадиях хронической дисфункции почек. Полученные данные демонстрируют, что даже незначительное снижение функции почек ассоциировано с развитием дезадаптивного костного ответа.

Во всех полученных моделях МКН-ХБП (ЛО6, НЭ2, НЭ6) происходило снижение интегральных показателей, характеризующих костный обмен – площади трабекулярной кости и количества остеоцитов. Способность сети остеоцитов регулировать функцию остеобластов и остеокластов указывает на их принципиальную

**Таблица 2.** Корреляционный анализ связи характеристик костной ткани с функцией почек и обменом фосфата в объединенной группе SHR

**Table 2.** Correlation analysis of bone tissue characteristics with kidney function and phosphate metabolism in the pooled SHR group

	ПТГ	FGF23	Pi сыворотки	Pi/Cr мочи	Cr сыворотки
N.Ot/T.Ar, шт/мм <sup>2</sup>	0,11	0,20	-0,10	0,16	<b>-0,31*</b>
N.Ob/V.Pm, шт/мм	-0,38	-0,22	-0,10	-0,26	<b>-0,32*</b>
N.Oc/V.Pm, шт/мм	-0,16	-0,11	<b>-0,37*</b>	-0,11	0,06
E.Pm.%B.Pm	-0,12	0,09	<b>-0,48*</b>	-0,10	-0,22
<i>Slc20a1</i>	-0,05	0,05	0,29	-0,24	<b>-0,39*</b>
<i>Slc20a2</i>	-0,14	0,04	0,16	<b>-0,37*</b>	<b>-0,43*</b>
<i>Xpr1</i>	<b>-0,54*</b>	-0,004	-0,03	-0,16	<b>-0,50*</b>
<i>Ankh</i>	-0,26	0,03	0,14	-0,16	<b>-0,40*</b>
<i>Fgf23</i>	-0,07	-0,18	0,06	0,04	<b>0,45*</b>
<i>Fgfr2</i>	-0,08	-0,06	0,04	-0,03	<b>-0,37*</b>
<i>Mapk1</i>	0,01	0,20	0,24	-0,30	<b>-0,57**</b>
<i>Mapk3</i>	-0,28	-0,07	-0,13	-0,26	<b>-0,50*</b>
<i>Sp7</i>	0,12	0,15	0,03	0,02	<b>-0,44*</b>
<i>Ctnnb1</i>	-0,17	0,05	-0,08	-0,15	<b>-0,43*</b>
<i>Wnt10b</i>	-0,06	-0,08	0,01	-0,08	<b>-0,34*</b>
<i>Vdr</i>	-0,02	0,02	0,06	0,04	<b>-0,34*</b>
<i>Bmp4</i>	0,12	0,24	-0,13	-0,03	<b>-0,42*</b>

N.Ot/T.Ar – количество остеоцитов; N.Ob/V.Pm – количество остеобластов; N.Oc/V.Pm – количество остеокластов; E.Pm.%B.Pm – доля эродированного периметра; *Slc20a1* – Pi-транспортер Pit1; *Slc20a2* – Pi-транспортер Pit2; *Xpr1* – ксенотропный и политропный ретровирусный рецептор 1 (экспортер Pi); *Ankh* – регулятор транспорта пирофосфата ANKH; *Fgf23* – фактор роста фибробластов 23; *Fgfr2* – рецептор фактора роста фибробластов 2; *Mapk1* – митоген-активируемая протеинкиназа 1 (Erk2); *Mapk3* – митоген-активируемая протеинкиназа 3 (Erk1); *Sp7* – фактор транскрипции Osterix; *Ctnnb1* – катенин бета 1; *Wnt10b* – член 10В-семейства Wnt-лигандов; *Vdr* – рецептор витамина D; *Bmp4* – костный морфогенетический белок 4; \* –  $p < 0,05$ ; \*\* –  $p < 0,005$ .

N.Ot/T.Ar – osteocyte number; N.Ob/V.Pm – osteoblast number; N.Oc/V.Pm – osteoclast number; E.Pm.%B.Pm – eroded perimeter fraction; *Slc20a1* – phosphate transporter Pit1; *Slc20a2* – phosphate transporter Pit2; *Xpr1* – xenotropic and polytropic retrovirus receptor 1 (phosphate exporter); *Ankh* – ANKH pyrophosphate transport regulator; *Fgf23* – fibroblast growth factor 23; *Fgfr2* – fibroblast growth factor receptor 2; *Mapk1* – mitogen-activated protein kinase 1 (ERK2); *Mapk3* – mitogen-activated protein kinase 3 (ERK1); *Sp7* – transcription factor Osterix; *Ctnnb1* – beta-catenin 1; *Wnt10b* – Wnt family member 10B; *Vdr* – vitamin D receptor; *Bmp4* – bone morphogenetic protein 4; \* –  $p < 0.05$ ; \*\* –  $p < 0.005$ .

роль в координации процессов оссификации [9, 27, 28]. Уменьшение количества остеоцитов и площади трабекулярной кости характеризуют смещение баланса между формированием и резорбцией к сниженному костному формированию в ответ на хроническую дисфункцию почек.

Достоверное снижение количества активных остеобластов в НЭ2 и НЭ6 отражают следующие этапы прогрессирования МКН-ХБП в направлении фенотипа со сниженным костным формированием [8, 12, 29]. На более поздней стадии (НЭ6) угнетение костеобразования сопровождается снижением резорбтивной активности, что оценивалось по уменьшению эродированного периметра, это свидетельствует о переходе к состоянию с еще более низким костным обменом (см. рис. 1).

Изменения фенотипа скелета при МКН-ХБП ранее были описаны в условиях повышения концентраций  $Pi$  и/или ПТГ, FGF23 в сыворотке крови, являющихся важными факторами регуляции костного метаболизма [2, 9, 28, 30]. В отличие от прочих, наш экспериментальный подход позволил оценить костный ответ при ХБП до системного повышения классических  $Pi$ -регулирующих факторов. В примененных моделях ранней ХБП, когда уровни сывороточного ПТГ и FGF23 еще не отличаются от контрольной группы, гистологические изменения костей уже происходят и нарастают параллельно степени хронического повреждения почек и почечной ретенцией  $Pi$  (см. рис. 1, табл. 2). Полученные данные демонстрируют роль индуцированных ХБП механизмов изменения костного обмена, не связанных с FGF23 и гиперпаратиреозом.

Для выявления ранних молекулярных событий в формировании и прогрессировании костных нарушений при МКН-ХБП мы исследовали экспрессию ключевых генов внутриклеточных сигнальных путей, ассоциированных с дифференцировкой остеобластов и остеокластов, организацией и минерализацией костного матрикса, оссификацией, гомеостазом и транспортом  $Pi$ , регуляцией этих биологических процессов (см. рис. 2б). Параллельно с гистологическими изменениями кости в группах НЭ2 и НЭ6, было обнаружено снижение экспрессии генов *Slc20a1*, *Slc20a2*, *Xpr1*, *Ankh* регулирующих внутриклеточный транспорт и чувствительность кости к  $Pi$  и  $PPi$ , минерализацию костного матрикса и дифференцировку остеобластов [31, 32]. Более низкое количество остеобластов и уменьшение площади трабекулярной кости в группах НЭ2 и НЭ6, вероятно, связано со снижением профиля генов, регулирующих остеобластогенез и формирование кости – *Sp7*, *Ctnnb1*, *Bmp4*, *Fgfr2*, *Mapk1*, *Mapk3* [33–35]. Напротив, не было выявлено изменений в экспрессии генов, регулирующих остеокластогенез, – *Tnfrsf11b*, *Tnfsf11* и *Lgr4* [9], что согласуется с отсутствием различий в относительном количестве остеокластов (см. рис. 1).

В модели ЛОБ уменьшение популяции остеоцитов происходило на фоне неизменного профиля экспрессии исследуемых генов и количества остеобластов. Данное наблюдение позволяет предположить, что в основе этого феномена лежит не нарушение пролиферации остеобластов, а расстройство их созревания либо усиленный апоптоз зрелых остеоцитов [8, 26, 27]. В литературе в качестве возможных причин подобных нарушений описано снижение экспрессии рецепторов ПТГ/ПТГрП [12, 29, 36] и DMP1 [23, 37], однако эти механизмы были характерны для поздних стадий ХБП. Поскольку на ранних стадиях экспериментальной МКН-ХБП мы не выявили достоверных изменений в экспрессии *Dmp1*, ключевые механизмы, регулирующие пул остеоцитов на начальных этапах почечной

дисфункции, по-видимому, отличаются от таковых при развернутой ХБП и требуют дальнейшего изучения.

Системы транспорта  $Pi$  играют важную роль как в поддержании его клеточного гомеостаза, так и для регуляции костеобразования – дифференцировки остеокластов и остеобластов, минерализации костного матрикса, клеточной выживаемости [37–40]. Согласно полученным данным, снижение экспрессии генов *Slc20a1*, *Slc20a2*, *Xpr1* и *Ankh* и  $Pi$ -зависимых сигнальных путей – *Mapk1/3*, *Fgfr2*, *Cttnb1* и *Bmp4* (см. рис. 2б, в), по-видимому, характеризует ранний костный ответ на ретенцию  $Pi$  в условиях сниженной функции почек в группах НЭ2/НЭ6.

Экспрессия транспортеров  $PiT1$  (*Slc20a1*) и  $PiT2$  (*Slc20a2*) зависит от внеклеточной концентрации  $Pi$  и, как полагают, опосредует его клеточные эффекты как за счет изменения внутриклеточного пула  $Pi$ , так и благодаря функции прямого «сенсинга» (рецепции) [31, 32]. Согласно данным литературы, эффекты  $Pi$  на экспрессию генов *in vitro* определяются его концентрацией и длительностью воздействия [40–42] и, предположительно, реализуются через сигнальные пути MAPK и WNT [8, 31, 40]. В соответствии с этими данными, в группе НЭ6 с повышенным  $Pi$  мы обнаружили сонаправленное подавление экспрессии генов, ответственных за внутриклеточный транспорт и экспорт  $Pi$  (*Slc20a1/2*, *Xpr1*) и ключевых киназ MAPK-пути (*Mapk1/3*). Важно отметить, что в группе НЭ2 наблюдали сходный профиль подавления экспрессии генов, несмотря на отсутствие значимого повышения уровня  $Pi$  в сыворотке крови натошак. Совокупность этих результатов позволяет выдвинуть гипотезу о том, что на ранних этапах ХБП даже транзиторная, например постпрандиальная, нагрузка  $Pi$  в условиях сниженной почечной функции может оказывать регуляторное воздействие на костную ткань, что проявляется на молекулярном уровне еще до развития устойчивой гиперфосфатемии.

Наряду с нарушением передачи сигналов MAPK пути, связанных с метаболизмом  $Pi$ , важную роль в снижении костного обмена на ранних стадиях ХБП может играть подавление WNT-пути. Оно проявлялось как снижением экспрессии гена ключевого внутриклеточного мессенджера канонического WNT –  $\beta$ -катенина (*Cttnb1*), так и преобладанием ингибирующих влияний со стороны Dickkopf-1 и склеростина, синтезируемых остеоцитами. Мы предполагаем, что этот дисбаланс представляет собой один из ранних путей подавления костного формирования при МКН-ХБП. В дальнейшем данные факторы могут опосредовать свое действие через формирование резистентности костной ткани к ПТГ и подавление канонического Wnt-пути – механизмы, ранее показанные для развернутых стадий ХБП [8, 13, 30, 36].

Таким образом, фенотип скелета на ранних стадиях хронического повреждения почек характеризуется гистологическими и молекулярными признаками сниженного костного обмена, в основе которых могут лежать нарушения внутриклеточного транспорта  $Pi$  и подавление сигнальных путей остеобластогенеза и оксификации. Наши результаты согласуются с клиническими данными о том, что на ранних стадиях ХБП у значительной части пациентов развивается динамическое поражение кости, характеризующееся низким костным ремоделированием [18–20]. Выявленные молекулярные и клеточные изменения, происходящие на начальных этапах дисфункции почек, важны для планирования дальнейших исследований, направленных на разработку стратегий своевременного предотвращения необратимых клинических последствий МКН-ХБП.

Наше исследование имеет ряд ограничений. Во-первых, не был выполнен анализ минерализации кости и динамических параметров костного обмена. Несмотря на это, мы обнаружили достоверные различия между группами, используя статические параметры гистоморфометрии кости и профилей экспрессии генов, тесно ассоциированных с костным ремоделированием и транспортом  $P_i$ . Во-вторых, уровни сывороточного  $P_i$ , его экскреция и регуляторные факторы оценивали только в состоянии натощак. Мы не оценивали влияние суточных колебания  $P_i$  и его постпрандиальную нагрузку на профили экспрессии генов и гистологические особенности костной ткани. Для выяснения роли пищевой нагрузки  $P_i$  кажется целесообразным включить в исследование группы, получающие диету с высоким содержанием фосфора. Но на данном этапе такие группы были намеренно исключены, чтобы избежать формирования гиперфосфатемии и вторичного гиперпаратиреоза, которые оказывают известное влияние на костную ткань [2, 9].

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Hruska K.A., Mathew S., Lund R.J. et al. Hyperphosphatemia of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008;**74**(2):148–157. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.130>
2. Drüeke T.B., Massy Z.A. Changing bone patterns with progression of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2016;**89**(2):289–302. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2015.12.004>
3. Li J.W., Xu C., Fan Y. et al. Can serum levels of alkaline phosphatase and phosphate predict cardiovascular diseases and total mortality in individuals with preserved renal function? A systematic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014;**9**(7):e102276. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102276>
4. Bricker N.S., Morrin P.A., Kime S.W. Jr. The pathologic physiology of chronic Bright's disease. An exposition of the "intact nephron hypothesis". *Am. J. Med.* 1960;**28**:77–98. [https://doi.org/10.1016/0002-9343\(60\)90225-4](https://doi.org/10.1016/0002-9343(60)90225-4)
5. Isakova T., Wolf M.S. FGF23 or PTH: which comes first in CKD? *Kidney Int.* 2010;**78**(10):947–949. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.281>
6. Sabbagh Y., Gracioli F.G., O'Brien S. et al. Repression of osteocyte Wnt/ $\beta$ -catenin signaling is an early event in the progression of renal osteodystrophy. *J. Bone Miner. Res.* 2012;**27**(8):1757–1772. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1630>
7. Stubbs J.R., He N., Idiculla A. et al. Longitudinal evaluation of FGF23 changes and mineral metabolism abnormalities in a mouse model of chronic kidney disease. *J. Bone Miner. Res.* 2012;**27**(1):38–46. <https://doi.org/10.1002/jbmr.516>
8. Ferreira J.C., Ferrari G.O., Neves K.R. et al. Effects of dietary phosphate on dynamic bone disease in rats with chronic kidney disease—role of sclerostin? *PLoS One.* 2013;**8**(11):e79721. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0079721>
9. Carrillo-López N., Martínez-Arias L., Fernández-Villabrille S. et al. Role of the RANK/RANKL/OPG and Wnt/ $\beta$ -Catenin systems in CKD bone and cardiovascular disorders. *Calcif. Tissue Int.* 2021;**108**(4):439–451. <https://doi.org/10.1007/s00223-020-00803-2>

10. Moe S.M., Radcliffe J.S., White K.E. et al. The pathophysiology of early-stage chronic kidney disease-mineral bone disorder (CKD-MBD) and response to phosphate binders in the rat. *J. Bone Miner. Res.* 2011;**26**(11):2672–2681. <https://doi.org/10.1002/jbmr.485>
11. Mathew S., Lund R.J., Strebeck F. et al. Reversal of the adynamic bone disorder and decreased vascular calcification in chronic kidney disease by sevelamer carbonate therapy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007;**18**(1):122–130. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006050490>
12. Iwasaki-Ishizuka Y., Yamato H., Nii-Kono T. et al. Downregulation of parathyroid hormone receptor gene expression and osteoblastic dysfunction associated with skeletal resistance to parathyroid hormone in a rat model of renal failure with low turnover bone. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2005;**20**(9):1904–1911. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfh876>
13. Fang Y., Ginsberg C., Seifert M. et al. CKD-induced wingless/integration1 inhibitors and phosphorus cause the CKD-mineral and bone disorder. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2014;**25**(8):1760–1773. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013080818>
14. Magnusson P., Sharp C.A., Magnusson M. et al. Effect of chronic renal failure on bone turnover and bone alkaline phosphatase isoforms. *Kidney Int.* 2001;**60**(1):257–265. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2001.00794.x>
15. Nickolas T.L., Stein E.M., Dworakowski E. et al. Rapid cortical bone loss in patients with chronic kidney disease. *J. Bone Miner. Res.* 2013;**28**(8):1811–1820. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1916>
16. Tasnim N., Dutta P., Nayeem J. et al. Osteoporosis, an inevitable circumstance of chronic kidney disease: a systematic review. *Cureus.* 2021;**13**(10):e18488. <https://doi.org/10.7759/cureus.18488>
17. Malluche H.H., Ritz E., Lange H.P. et al. Bone histology in incipient and advanced renal failure. *Kidney Int.* 1976;**9**(4):355–362. <https://doi.org/10.1038/ki.1976.42>
18. Coen G., Mazzaferro S., Ballanti P. et al. Renal bone disease in 76 patients with varying degrees of predialysis chronic renal failure: a cross-sectional study. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1996;**11**(5):813–819. <https://doi.org/10.1093/oxfordjournals.ndt.a027404>
19. Barreto F.C., Barreto D.V., Canziani M.E. et al. Association between indoxyl sulfate and bone histomorphometry in pre-dialysis chronic kidney disease patients. *J. Bras. Nefrol.* 2014;**36**(3):289–296. <https://doi.org/10.5935/0101-2800.20140042>
20. Gracioli F.G., Neves K.R., Barreto F. et al. The complexity of chronic kidney disease-mineral and bone disorder across stages of chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2017;**91**(6):1436–1446. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.12.029>
21. Ureña P., Mannstadt M., Hruby M. et al. Parathyroidectomy does not prevent the renal PTH/PTHrP receptor down-regulation in uremic rats. *Kidney Int.* 1995;**47**(6):1797–1805. <https://doi.org/10.1038/ki.1995.248>

22. Picton M.L., Moore P.R., Mawer E.B. et al. Down-regulation of human osteoblast PTH/PTHrP receptor mRNA in end-stage renal failure. *Kidney Int.* 2000;**58**(4):1440–1449. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00306.x>
23. Fleischer H., Vorberg E., Thurow K. et al. Determination of calcium and phosphorus in bones using microwave digestion and ICP-MS. In: *5th IMEKO TC19 Symposium on Environmental Instrumentation and Measurements 2014. Proceedings.* Budapest: IMEKO; 2014, pp. 94–99.
24. Bogdanova E., Sadykov A., Ivanova G. et al. Mild chronic kidney disease associated with low bone formation and decrease in phosphate transporters and signaling pathways gene expression. *Int. J. Mol. Sci.* 2023;**24**(8):7270. <https://doi.org/10.3390/ijms24087270>
25. Erben R.G., Glösmann M. Histomorphometry in rodents. *Methods Mol. Biol.* 2019;**1914**:411–435. [https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8997-3\\_24](https://doi.org/10.1007/978-1-4939-8997-3_24)
26. Dempster D.W., Compston J.E., Drezner M.K. et al. Standardized nomenclature, symbols, and units for bone histomorphometry: a 2012 update of the report of the ASBMR Histomorphometry Nomenclature Committee. *J. Bone Miner. Res.* 2013;**28**(1):2–17. <https://doi.org/10.1002/jbmr.1805>
27. Metzger C.E., Swallow E.A., Stacy A.J. et al. Strain-specific alterations in the skeletal response to adenine-induced chronic kidney disease are associated with differences in parathyroid hormone levels. *Bone.* 2021;**148**:115963. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.115963>
28. Dussold C., Gerber C., White S. et al. DMP1 prevents osteocyte alterations, FGF23 elevation and left ventricular hypertrophy in mice with chronic kidney disease. *Bone Res.* 2019;**7**:12. <https://doi.org/10.1038/s41413-019-0051-1>
29. Jørgensen H.S., Behets G., Viaene L. et al. Static histomorphometry allows for a diagnosis of bone turnover in renal osteodystrophy in the absence of tetracycline labels. *Bone.* 2021;**152**:116066. <https://doi.org/10.1016/j.bone.2021.116066>
30. O'Brien C.A., Plotkin L.I., Galli C. et al. Control of bone mass and remodeling by PTH receptor signaling in osteocytes. *PLoS One.* 2008;**3**(8):e2942. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0002942>
31. Ha S.W., Park J., Habib M.M. et al. Nano-Hydroxyapatite stimulation of gene expression requires Fgf receptor, phosphate transporter, and Erk1/2 signaling. *ACS Appl. Mater. Interfaces.* 2017;**9**(45):39185–39196. <https://doi.org/10.1021/acsami.7b12029>
32. Bon N., Couasnay G., Bourguine A. et al. Phosphate (Pi)-regulated heterodimerization of the high-affinity sodium-dependent Pi transporters PiT1/Slc20a1 and PiT2/Slc20a2 underlies extracellular Pi sensing independently of Pi uptake. *J. Biol. Chem.* 2018;**293**(6):2102–2114. <https://doi.org/10.1074/jbc.M117.807339>
33. Hoshikawa S., Shimizu K., Watahiki A. et al. Phosphorylation-dependent osteoclast degradation negatively regulates osteoblast differentiation. *FASEB J.* 2020;**34**(11):14930–14945. <https://doi.org/10.1096/fj.202001340R>

34. Iezaki T., Onishi Y., Ozaki K. et al. The transcriptional modulator interferon-related developmental regulator 1 in osteoblasts suppresses bone formation and promotes bone resorption. *J. Bone Miner. Res.* 2016;**31**(3):573–584.  
<https://doi.org/10.1002/jbmr.2720>
35. Kubota K., Sakikawa C., Katsumata M. et al. Platelet-derived growth factor BB secreted from osteoclasts acts as an osteoblastogenesis inhibitory factor. *J. Bone Miner. Res.* 2002;**17**(2):257–265. <https://doi.org/10.1359/jbmr.2002.17.2.257>
36. Rhee Y., Allen M.R., Condon K. et al. PTH receptor signaling in osteocytes governs periosteal bone formation and intracortical remodeling. *J. Bone Miner. Res.* 2011;**26**(5):1035–1046. <https://doi.org/10.1002/jbmr.304>
37. Yamada S., Wallingford M.C., Borgeia S. et al. Loss of PiT-2 results in abnormal bone development and decreased bone mineral density and length in mice. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2018;**495**(1):553–559.  
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2017.11.071>
38. Albano G., Moor M., Dolder S. et al. Sodium-dependent phosphate transporters in osteoclast differentiation and function. *PLoS One.* 2015;**10**(4):e0125104.  
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0125104>
39. Giovannini D., Touhami J., Charnet P. et al. Inorganic phosphate export by the retrovirus receptor XPR1 in metazoans. *Cell Rep.* 2013;**3**(6):1866–1873.  
<https://doi.org/10.1016/j.celrep.2013.05.035>
40. Szeri F., Niaziorimi F., Donnelly S. et al. The mineralization regulator ANKH mediates cellular efflux of ATP, not pyrophosphate. *J. Bone Miner. Res.* 2022;**37**(5):1024–1031.  
<https://doi.org/10.1002/jbmr.4528>
41. Beck L., Beck-Cormier S. Extracellular phosphate sensing in mammals: what do we know? *J. Mol. Endocrinol.* 2020;**65**(3):R53–R63.  
<https://doi.org/10.1530/JME-20-0121>
42. Hsu S.N., Stephen L.A., Dillon S. et al. Increased PHOSPHO1 expression mediates cortical bone mineral density in renal osteodystrophy. *J. Endocrinol.* 2022;**254**(3):153–167. <https://doi.org/10.1530/JOE-22-0097>

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Богданова Евдокия Олеговна – канд. биол. наук; науч. сотр.,  
НИИ нефрологии НКЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1969-1959>

Садыков Айрат Маратович – биолог, Научно-исследовательский институт детской онкологии, гематологии и трансплантологии им. Р.М. Горбачевой,  
Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: bmt-director@lspbmgmu.ru  
<https://orcid.org/0009-0006-8516-9666>

Иванова Галина Тажимовна – канд. биол. наук; вед. науч. сотр.,  
Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: ivanovagt@infran.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-0188-5173>

Зубина Ирина Михайловна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр.,  
НИИ нефрологии НКЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: zubina@list.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-8491-7016>

Береснева Ольга Николаевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр.,  
НИИ нефрологии НКЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: beresnevaolga@list.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7532-2405>

Галкина Ольга Владимировна – канд. биол. наук; зав. лабораторией,  
НИИ нефрологии НКЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: ovgalkina@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7265-7392>

Семенова Наталья Юрьевна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр.,  
Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова,  
Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: semenova@mlc-lab.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

Шаройко Владимир Владимирович – д-р. биол. наук; проф. кафедры общей  
и биоорганической химии, Первый Санкт-Петербургский государственный  
медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург,  
Российская Федерация  
E-mail: kafedrachemistry@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-3717-0471>

Парастаева Марина Магрезовна – канд. биол. наук; ст. науч. сотр.,  
НИИ нефрологии НКЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: marina\_parastaeva@list.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-4526-8671>

Добронравов Владимир Александрович – д-р. мед. наук; проф.; дир.  
НИИ нефрологии НКЦ, Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский  
университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Российская Федерация  
E-mail: dobronravov@nephrolog.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7179-5520>

Поступила в редакцию 20.10.2025  
После доработки 21.11.2025  
Принята к публикации 22.11.2025

## ABOUT THE AUTHORS

Bogdanova, Evdokia O. – Cand. Sc. (Biology); Research Officer, Research Institute of Nephrology, National Medical Research Center, St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: evdokia.bogdanova@gmail.com  
<https://orcid.org/0000-0003-1969-1959>

Sadykov, Ayrat M. – Biologist, Research Institute of Pediatric Oncology, Hematology and Transplantology named after R.M. Gorbacheva, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: bmt-director@lspbmgmu.ru  
<https://orcid.org/0009-0006-8516-9666>

Ivanova, Galina T. – Cand. Sc. (Biology); Head Scientist Researcher, I.P. Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: ivanovagt@infran.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-0188-5173>

Zubina, Irina M. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Research Institute of Nephrology, National Medical Research Center, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: zubina@list.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-8491-7016>

Beresneva, Olga N. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Research Institute of Nephrology, National Medical Research Center, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: beresnevaolga@list.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-7532-2405>

Galkina, Olga V. – Cand. Sc. (Biology); Head of Laboratory, Research Institute of Nephrology, National Medical Research Center, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: ovgalkina@mail.ru  
<https://orcid.org/0000-0001-7265-7392>

Semenova, Natalya Y. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Almazov National Medical Research Centre, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: semenova@mlc-lab.ru  
<https://orcid.org/0000-0003-4069-0678>

Sharoiko, Vladimir V. – Ph.D. (Biology); Full Professor at the Department of General and Bioorganic Chemistry, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: kafedrachimistry@yandex.ru  
<https://orcid.org/0000-0002-3717-0471>

Parastaeva, Marina M. – Cand. Sc. (Biology); Senior Research Officer, Research Institute of Nephrology of the National Clinical Research Center, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: [marina\\_parastaeva@list.ru](mailto:marina_parastaeva@list.ru)  
<https://orcid.org/0000-0002-4526-8671>

Dobronravov, Vladimir A. – Ph.D. (Medicine); Full Professor; Director, Research Institute of Nephrology of the National Clinical Research Center, First St. Petersburg State Medical University named after academician I.P. Pavlov, St. Petersburg, Russian Federation  
E-mail: [dobronravov@nephrolog.ru](mailto:dobronravov@nephrolog.ru)  
<https://orcid.org/0000-0002-7179-5520>

Received October 20, 2025  
Revised November 21, 2025  
Accepted November 22, 2025