

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ
Экспериментальные исследования

ORIGINAL ARTICLES
Experimental investigations

© О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Г.Т. Иванова, А.Н. Иванова, О.Г. Огнев, А.Г. Кучер, 2024
УДК 616.61 :616.1]-092.4

doi: 10.36485/1561-6274-2024-28-1-96-104
EDN: SLDTYV

**СОСТОЯНИЕ СЕРДЕЧНО-СОСУДИСТОЙ СИСТЕМЫ У КРЫС
ЛИНИИ WISTAR С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ ПОЧЕК**

*Ольга Николаевна Береснева^{1✉}, Марина Магрезовна Парастаева²,
Галина Тажимовна Иванова³, Александра Николаевна Иванова⁴,
Олег Геннадьевич Огнев⁵, Анатолий Григорьевич Кучер⁶*

^{1,2,6} Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия;

³ Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия;

⁴ Санкт-Петербургский государственный университет, Санкт-Петербург, Россия;

⁵ Санкт-Петербургский государственный аграрный университет, Санкт-Петербург, Россия

¹ beresnevaolga@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7532-2405>

² marina_parastaeva@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4526-8671>

³ ivanovagt@infran.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0188-5173>

⁴ alyx@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7034-0962>

⁵ ognew.og@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0004-0843-7597>

⁶ prof.kucher@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5616-3488>

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ: оценить функциональные и структурные изменения сосудов и миокарда у крыс стока Wistar на разных сроках формирования экспериментальной дисфункции почек. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Исследовано четыре группы животных. Первые две группы составили крысы, подвергнутые 5/6 нефрэктомии (НЭ). Срок после НЭ – 2 или 4 мес. В третью и четвертую группу вошли ложнооперированные (ЛО) животные аналогичного срока наблюдения. После окончания эксперимента у крыс измеряли артериальное давление, рассчитывали индекс массы левого желудочка (ИМЛЖ), выполняли биохимический анализ крови, гистологическое, иммуногистохимическое и электронно-микроскопическое исследование миокарда, на сроке 2 мес регистрировали сократительную активность воротной вены (in vitro). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Через 2 мес после НЭ у крыс выявлены рост АД, ИМЛЖ, снижение авторитмической сократительной активности воротной вены. На гистологическом уровне отмечены утолщение кардиомиоцитов и стенок артериальных сосудов, наличие периваскулярного фиброза. Через 4 мес у крыс с НЭ отмечали рост АД, гипертрофия кардиомиоцитов и периваскулярный фиброз прогрессировали. Толщина кардиомиоцитов составляла $14,1 \pm 3,11$ мкм, что было значимо больше, чем в группе с НЭ 2 мес ($12,5 \pm 1,5$ мкм; $p=0,008$). На данном сроке наблюдения электронно-микроскопическое исследование выявило дезинтеграцию миофибрилл, нарушение укладки миофибрилл и структуры Z-дисков, изменение формы митохондрий. Через 2 мес после НЭ у крыс выявлено увеличение площади открытых капилляров ($1902,8 \pm 202,9$ мкм²) по сравнению с соответствующими ЛО животными ($730,4 \pm 58,2$ мкм²; $p=0,0001$). По мере развития дисфункции почек, возможно, возникла тенденция к увеличению площади капилляров ($2139,1 \pm 396,5$ мкм²; $p=0,120$). **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** У крыс линии Wistar с дисфункцией почек выявлено изменение не только АД, но и функциональной активности ВВ, а также структурных компонентов миокарда – кардиомиоцитов, стромы, сосудов. Рост массы миокарда на гистологическом уровне проявлялся достоверным увеличением толщины кардиомиоцитов, объема соединительной ткани, толщины стенки сосудов артериального типа с достижением максимального значения на более длительном сроке после НЭ.

Ключевые слова: дисфункция почек, миокард, сосуды, артериальное давление, эксперимент

Для цитирования: Для цитирования: Береснева О.Н., Парастаева М.М., Иванова Г.Т., Иванова А.Н., Кучер А.Г. Состояние сердечно-сосудистой системы у крыс линии Wistar с экспериментальной дисфункцией почек. *Нефрология* 2024;28 (1):96-104. doi: 10.36485/1561-6274-2024-28-1-96-104. EDN: SLDTYV

**CONDITION OF THE CARDIOVASCULAR SYSTEM IN WISTAR RATS WITH
EXPERIMENTAL RENAL DYSFUNCTION**

*Olga N. Beresneva^{1✉}, Marina M. Parastaeva², Galina T. Ivanova³,
Alexandra N. Ivanova⁴, Oleg G. Ognev⁵, Anatoly G. Kucher⁶*

^{1,2,6} First Pavlov St.-Petersburg State Medical University, Saint Petersburg, Russia;

³ Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, Saint Petersburg, Russia;

⁴ St. Petersburg State University, Saint Petersburg, Russia

⁵ St. Petersburg State Agrarian University, Saint Petersburg, Russia

¹ beresnevaolga@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7532-2405>

² marina_parastaeva@list.ru; <https://orcid.org/0000-0002-4526-8671>

³ ivanovagt@infran.ru; <https://orcid.org/0000-0003-0188-5173>

⁴ alyx@bk.ru; <https://orcid.org/0000-0002-7034-0962>

⁵ ognew.og@mail.ru; <https://orcid.org/0009-0004-0843-7597>

⁶ prof.kucher@yandex.ru; <https://orcid.org/0000-0002-5616-3488>

ABSTRACT

THE AIM: to evaluate functional and structural changes in blood vessels and myocardium in Wistar rats at different stages of the formation of experimental kidney dysfunction. **MATERIAL AND METHODS.** Four groups of animals were studied. The first two groups consisted of rats subjected to 5/6 nephrectomy (NE). The period after NE is 2 or 4 months. The third and fourth groups included sham-operated (SO) animals of a similar observation period. After the end of the experiment, blood pressure was measured in rats, the left ventricular mass index (LVMI) was calculated, a biochemical blood test, histological, immunohistochemical and electron microscopic examination of the myocardium were performed, and the contractile activity of the portal vein was recorded for a period of 2 months (in vitro). **RESULTS.** 2 months after NE, an increase in blood pressure, LVMI, and a decrease in the autorhythmic contractile activity of the portal vein were detected in rats. At the histological level, thickening of cardiomyocytes and arterial vessel walls and the presence of perivascular fibrosis were noted. After 4 months, in rats with NE, the increase in blood pressure, cardiomyocyte hypertrophy and perivascular fibrosis progressed. The thickness of cardiomyocytes was $14.1 \pm 3.11 \mu\text{m}$, which was significantly greater than in the group with NE for 2 months ($12.5 \pm 1.5 \mu\text{m}$; $p=0.008$). At this period of observation, electron microscopic examination revealed deintegration of myofibrils, disruption of myofibril stacking and z-disk structure, and changes in the shape of mitochondria. 2 months after NE, an increase in the area of open capillaries was detected in rats ($1902.8 \pm 202.9 \mu\text{m}^2$) compared to the corresponding LO animals ($730.4 \pm 58.2 \mu\text{m}^2$; $p=0.000$). As renal dysfunction develops, the capillary area tends to increase ($2139.1 \pm 396.5 \mu\text{m}^2$; $p=0.120$). **CONCLUSION.** In Wistar rats with renal dysfunction, changes were detected not only in the level of blood pressure, but also in the functional activity of the intravenous fluid, as well as in the structural components of the myocardium – cardiomyocytes, stroma and blood vessels. The increase in myocardial mass at the histological level was manifested by a significant increase in the thickness of cardiomyocytes, the volume of connective tissue, and the thickness of the wall of arterial vessels, reaching a maximum value at a longer period after NE.

Keywords: renal dysfunction, myocardium, blood vessels, blood pressure, experiment

For citation: Beresneva O.N., Parastaeva M.M., Ivanova G.T., Ivanova A.N., Kucher A.G. The state of the cardiovascular system in Chris Wistar with an experimental disjunction point. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2024;28(1):96-104. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2024-28-1-96-104. EDN: SLDTYV

ВВЕДЕНИЕ

Кардиоваскулярные нарушения являются осложнениями хронической болезни почек (ХБП), которые проявляются на ранней стадии ХБП и прогрессируют по мере развития почечной дисфункции [1]. Установлена обратно пропорциональная зависимость между снижением скорости клубочковой фильтрации и сердечно-сосудистой заболеваемостью [2]. У людей с хронической дисфункцией почек ремоделирование сосудистого русла и миокарда могут приводить к снижению эластичности стенок сосудов, нарушению коронарного кровообращения и расслабления левого желудочка [3]. При ХБП повреждению миокарда и сосудов способствуют различные факторы, среди которых выделяют артериальную гипертензию, гиперлипидемию, нарушение гомеостаза фосфора и кальция, анемию, уремические токсины [4–6]. Следует отметить, что даже после достижения целевых показателей АД, которые до сих пор обсуждаются при ХБП, сердечно-сосудистый риск остается высоким [7]. Существенную роль в формировании кардиоваскулярных осложнений при патологии почек может играть и нарушение

метаболизма NO [8]. Подтверждение этого факта мы нашли и в своих ранее проведенных экспериментальных исследованиях [9]. Сосудистая кальцификация также часто встречается у пациентов с дисфункцией почек [10]. Она выявляется даже у молодых людей с терминальной стадией ХБП при отсутствии типичных сердечно-сосудистых факторов риска, таких как гипертония или дислипидемия [11, 12]. Крупные метаанализы показали, что у пациентов с нарушением функции почек риск развития ишемической болезни сердца на 40–50 % выше, чем у людей с нормальной функцией почек [13].

Патофизиологические механизмы, лежащие в основе сердечно-сосудистых нарушений, связанных с ХБП, в настоящее время до конца не изучены и поэтому являются предметом продолжающихся исследований [14]. Остается не выясненным и конкретный вклад в ремоделирование миокарда факторов риска, ассоциированных с ХБП. Однако найти ответ на данный вопрос в рамках только клинических исследований практически невозможно. В этом случае прояснить картину могут результаты исследований, выполненных на

моделях экспериментальной дисфункции почек. Подобные модели позволяют получить данные о патофизиологических изменениях в миокарде не только на ранних стадиях ХБП, но и проследить развитие патологического процесса по мере прогрессирования дисфункции почек. В связи этим мы сочли целесообразным оценить функциональные и структурные изменения сосудов и миокарда у крыс стока Wistar на разных сроках формирования экспериментальной дисфункции почек.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использованы взрослые (возраст в начале эксперимента – 2,5–3 мес) самцы крыс стока Wistar, полученные из Центра коллективного пользования «Биоколлекция» Института физиологии им. И.П. Павлова РАН. Все манипуляции на крысах выполнены в соответствии с принципами Базельской декларации при одобрении этическим комитетом ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

В исследование включено 4 группы животных. В первые две группы вошли крысы, у которых с целью создания модели дисфункции почек выполняли резекцию 5/6 почечной паренхимы (срок эксперимента 2 или 4 мес). В качестве анестезии использовали тилетамин/золазепам (10 мг/кг, Золетил 100, «Virbac Sante Animale», Франция) в сочетании с ксилазином гидрохлоридом (5 мг/кг, Рометар, «Bioveta», Чехия). Подробно методика оперативного вмешательства была описана нами ранее [15]. Третью и четвертую группы составили ложнооперированные животные (ЛО) с аналогичными сроками наблюдения. Следует отметить, что резекция 5/6 массы почечной паренхимы является моделью хронического повреждения почек (ХБП), поскольку дисфункция почек формируется не одномоментно, а, как правило, с недельным интервалом, что соответствует, примерно, полугоду жизни человека. Кроме того, дальнейшее существование животных в условиях сокращения массы действующих нефронов сопровождается развитием гемодинамических и метаболических нарушений (в частности, системной и гломерулярной гипертензией, изменением липидного обмена, кальций-фосфорного гомеостаза), аналогичным выявленным у пациентов при ХБП.

В период эксперимента крысы ежедневно получали 28–30 г сбалансированного лабораторного корма (ПК-120-2 по ГОСТу Р34566-2019, АО «Гатчинский ККЗ», РФ). Доступ к воде и пище был свободным. Световой режим в помещении поддерживали в пределах – 12 ч свет/12 ч темнота, температура воздуха в помещении составляла 20–22 °С.

В конце эксперимента у бодрствующих животных измеряли систолическое артериальное давление (АД) манжеточным методом на хвосте с помощью электроманометра («ELEMA», Швеция) [15].

Во время выведения из эксперимента у крыс собирали кровь для определения уровней мочевины и креатинина унифицированными методами (автоанализатор «Cobas E Mira»). После эвтаназии извлекали сердце, рассчитывали индекс массы миокарда левого желудочка (ИМЛЖ, мг/г) как отношение массы миокарда ЛЖ (мг) к массе животного (г).

Для проведения электронно-микроскопических исследований фрагменты миокарда фиксировали в течение 4 ч в смеси 2,5% глutarового альдегида, 2% параформальдегида на 0,1М фосфатном буфере, pH 7,4. После этого отмывали 0,1М фосфатным буфером и фиксировали в 1% растворе тетраоксида осмия на том же буфере (1 ч), затем отмывали водой. Обработку фрагментов 2% ацетатом урана, обезвоживание в серии спиртов и ацетоне, пропитку эпоксидной смолой «Epon Embed» (EMS) проводили в микроволновом процессоре «Leica EM AMW». Срезы толщиной 60–70 нм изготавливали на ультрамикротоме «Leica EM UC6» и «Leica EM UC7» и контрастировали последовательно 2% раствором ацетата урана (SPI) и 3% раствором цитрата свинца (EMS). Срезы изучали с помощью просвечивающего электронного микроскопа «Jeol Jem 1400», оснащенного камерой «Olympus-SIS Veleta».

Для гистологического анализа фрагменты миокарда 24 ч фиксировали в 10% забуференном растворе формалина (pH 7,0) при комнатной температуре. После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезвоживание и пропитка) из парафиновых блоков изготавливали срезы толщиной 2–4 мкм, которые окрашивали гематоксилином-эозином или пикрофуксином по Ван-Гизону. Морфологическое исследование выполняли с помощью цифровой фотокамеры «Nicon» и гистологического сканера («Leica Aperio AT2») в программе «VideoTest 5.2». Морфометрию проводили в 10 произвольно выбранных полях зрения. Оценку микроциркуляторного русла миокарда осуществляли иммуногистохимическим (ИГХ) методом с антителами к белкам эндотелиальных клеток капилляров CD31. Выявление пролиферативной активности в сосудах миокарда проводили с помощью маркера пролиферации «MKI67» (Ki-67).

Исследование авторитмической сократительной активности воротной вены (ВВ) осуществляли через 2 мес после НЭ *in vitro*. После эвтаназии у крыс выделяли фрагмент ВВ. Длина сегмента

составляла 4–5 мм. Препарат помещали в ванночку рабочей камеры, перфузируемую оксигенированным (95% O₂ и 5% CO₂) раствором Кребса. Регистрацию сократительной активности сосуда осуществляли в изометрическом режиме с помощью механотрона 6МХТС. Запись и обработку результатов выполняли на компьютере по специально разработанной программе. В данных экспериментах анализировали: частоту спонтанных сокращений за 1 мин, общую амплитуду фазно-тонических сокращений – A(F+T), максимальную амплитуду сокращений – Амакс, площадь под кривой сокращений за 1 мин (характеризует выполняемую веной работу) – S(F+T).

Результаты представлены в виде средних значений со стандартной ошибкой средней ($M \pm m$). При проведении статистического анализа применяли t-критерий Стьюдента и критерий Манна–Уитни. Расчеты проводили в пакете прикладных компьютерных программ STATISTICA 10.0. Различия между группами считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследование показало существенное повышение систолического АД, ИМЛЖ, уровней мочевины и креатинина в сыворотке крови крыс через 2 мес после резекции 5/6 почечной паренхимы относительно показателей соответствующих контрольных ЛО животных. По мере прогрессирования дисфункции почек (4 мес после НЭ, что соответствует примерно 10 годам жизни человека) эти изменения становились более выраженными (табл. 1).

На сроке 2 мес после НЭ у крыс было выявлено снижение авторитмической сократительной активности воротной вены, выражающееся в снижении общей амплитуды фазно-тонических сокращений, максимальной амплитуды сокращений

Таблица 1 / Table 1

Артериальное давление, индекс массы левого желудочка и биохимические показатели сыворотки крови крыс
Blood pressure, left ventricular mass index and biochemical parameters of rat blood serum

Группа крыс	АД	ИМЛЖ	Мочевина, ммоль/л	Креатинин, мкмоль/л
Контроль, 2 мес	120,0±5,0	2,23±0,05	4,88±0,64	0,04±0,001
НЭ, 2 мес	150,0±5,0 $p=0,000$	2,75±0,08 $p=0,009$	16,2±0,36 $p=0,000$	0,07±0,03 $p=0,047$
Контроль, 4 мес	130,0±5,0	2,35±0,09	5,4±0,8	0,030±0,004
НЭ, 4 мес	165,0±5,0 $p=0,0001$	2,72±0,11 $p=0,046$	17,8±2,0 $p=0,0001$	0,082±0,009 $p=0,0001$

Таблица 2 / Table 2

Параметры авторитмической сократительной активности воротной вены крыс через 2 мес после нефрэктомии ($M \pm m$)

Parameters of autorhythmic contractile activity of the portal vein of rats 2 months after nephrectomy ($M \pm m$)

Группа крыс	Частота сокр. (в 1 мин)	A(F+T) (мг)	Амакс (мг)	S(F+T) (усл.ед.)
Контроль	15,4±0,8	36,73±1,51	65,42±2,15	22,45±0,85
Нефрэктомия	20,4±1,3 $p=0,008$	23,11±1,12 $p=0,0001$	39,76±2,08 $p=0,0001$	14,56±0,49 $p=0,0001$

и площади под кривой сокращений, характеризующей выполняемую веной работу (табл. 2).

На рис. 1 в качестве примера представлена компьютерная запись сократительной активности ВВ контрольной крысы и крысы с экспериментальной дисфункцией почек.

Гистологическое исследование показало, что через 2 мес после НЭ (параллельно со снижением сократительной активности ВВ) в миокарде животных происходят существенные изменения. У крыс данной группы выявлено утолщение волокон кардиомиоцитов, увеличение стенок артерий за счет гипертрофии гладкомышечных клеток (ГМК), вакуолизация ГМК (см. рис. 2Б, рис. 3). Со стороны эндотелиальной выстилки отмечены набухание эндотелиальных клеток и слущивание эндотелиоцитов в просвет сосудов. ИГХ-реакция с антителами маркера пролиферации МК167 выявила пролиферативную реакцию в ядрах ГМК артерий миокарда крыс с дисфункцией почек (см. рис. 3В). Эти отмеченные уже на раннем сроке после НЭ изменения сосудов по мере развития патологии могут способствовать нарушению микроциркуляции в миокарде. На сроке 4 мес после НЭ у крыс прогрессировали гипертрофия кардиомиоцитов

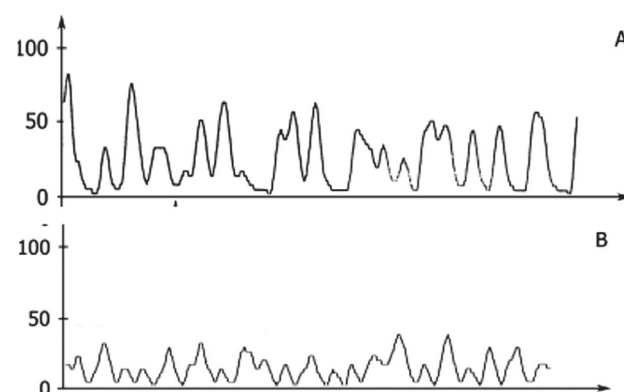


Рисунок 1. Запись спонтанной сократительной активности воротной вены крыс. А – контрольная крыса, В – крыса с нефрэктомией (2 мес).

Figure 1. Recording of spontaneous contractile activity of the rat portal vein. A – control rat, B – rat with nephrectomy (2 months).

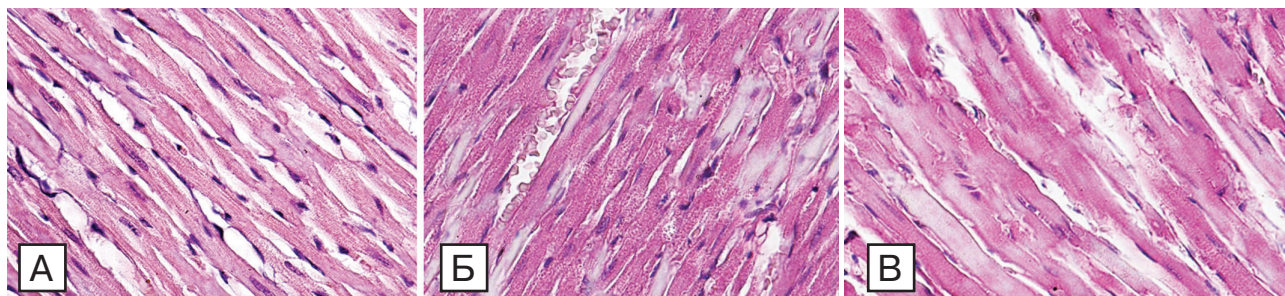


Рисунок 2. Микрофотография миокарда крыс. А – контрольная крыса, Б – нефрэктомия 2 мес; утолщенные волокна кардиомиоцитов с участками гомогенизации цитоплазмы. В – нефрэктомия 4 мес; выраженная гипертрофия кардиомиоцитов (гематоксилин-эозин, ув. 400).

Figure 2. Microphotograph of rat myocardium. А – control rat, В – nephrectomy 2 months; thickened fibers of cardiomyocytes with areas of homogenization of the cytoplasm. В – nephrectomy 4 months; pronounced hypertrophy of cardiomyocytes (hematoxylin-eosin, x400).

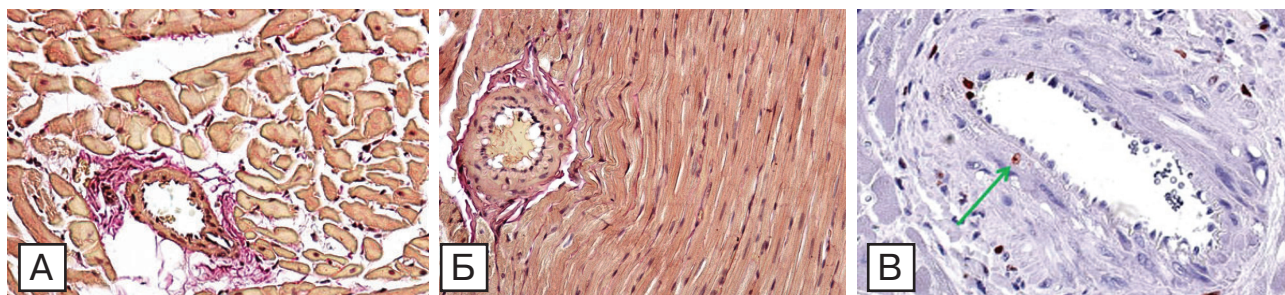


Рисунок 3. Микрофотография сосудов миокарда контрольной крысы (А) и крысы через 2 мес после нефрэктомии (Б). Пикрофуксин по Ван-Гизону, ув. 200. В – Проллиферативная активность в ядрах гладкомышечных клеток артерий миокарда крыс через 2 мес после нефрэктомии. ИГХ-реакция с антителами маркера пролиферации MKI67 (ув. 400).

Figure 3. Microphotograph of myocardial vessels of a control rat (А) and a rat 2 months after nephrectomy (В). Picrofuchsin staining to van Gieson, x200. В – Proliferative activity in the nuclei of smooth muscle cells of rat myocardial arteries 2 months after nephrectomy. IHC reaction with antibodies of proliferation marker MKI67 (x400).

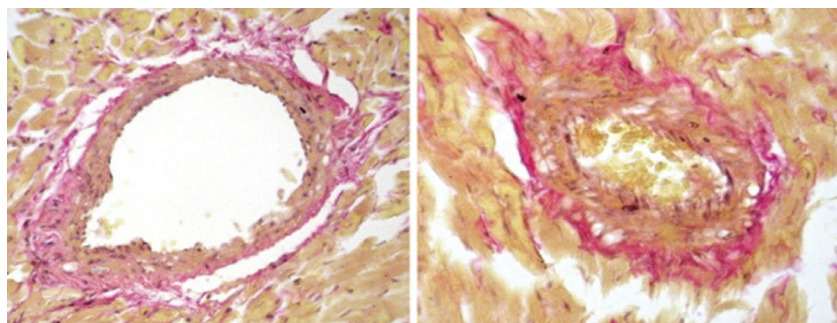


Рисунок 4. Микрофотография сосудов миокарда крыс через 4 мес после нефрэктомии. Разрастание соединительной ткани в периваскулярном пространстве. Пикрофуксин по Ван-Гизону, ув. 400.

Figure 4. Microphotograph of rat myocardial vessels 4 months after nephrectomy. Proliferation of connective tissue in the perivascular space. Picrofuchsin staining to van Gieson, x400.

и дистрофические изменения в них (см. рис. 2В). Толщина кардиомиоцитов составляла $14,1 \pm 3,11$ мкм, что значимо больше, чем в группе с НЭ 2 мес ($12,5 \pm 1,5$ мкм; $p=0,008$) и у животных соответствующей (ЛО 4 мес) контрольной группы ($12,3 \pm 2,9$ мкм; $p=0,000$).

На сроке 2 мес после НЭ фиброз в миокарде определялся преимущественно в периваскулярной области. Через 4 мес эксперимента периваскулярный фиброз нарастал (рис. 4). У крыс данной группы площадь, занятая соединительной тканью, составляла $4001,1 \pm 1115,7$ мкм², что значимо больше, чем у животных с НЭ 2 мес ($2005,3 \pm 1075,5$ мкм²; $p=0,000$) и соответствующей

группы ЛО-крыс ($2507,7 \pm 912,8$ мкм²; $p=0,02$).

Электронно-микроскопическое исследование миокарда крыс с дисфункцией почек на сроке 4 мес выявило дезинтеграцию миофибрилл (чередование тонких и толстых участков), нарушение их укладки (см. рис. 5. Б1–2). В миокарде крыс контрольной группы миофибриллы лежат параллельно (см. рис. 5. А1–2). В миокарде животных с патологией почек они располагаются рыхло и волнообразно. Выявлены также изменения структуры Z-дисков, формы митохондрий, фистончатость цитоплазматической мембраны (см. рис. 5. Б3–4), которая может являться признаком отека.

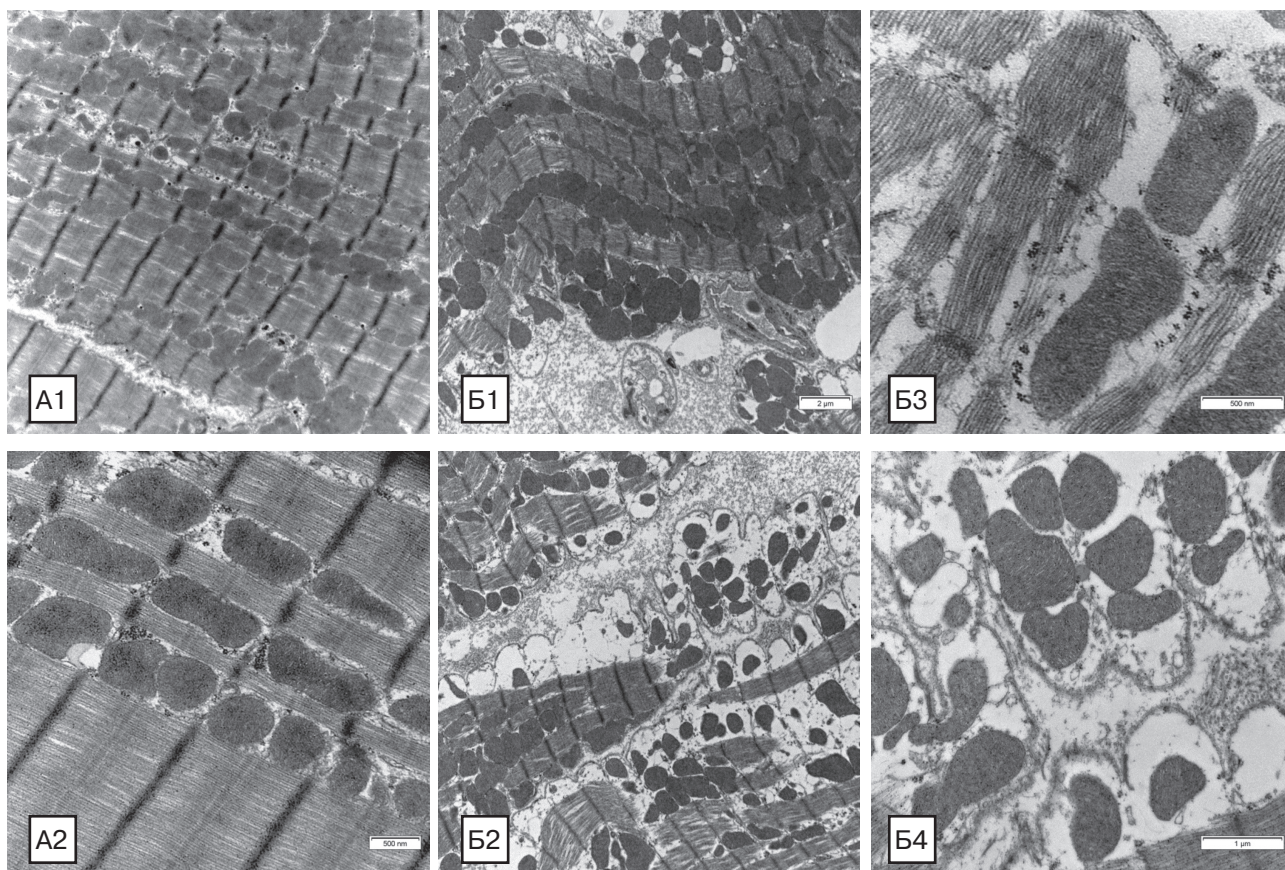


Рисунок 5. Ультраструктурные изменения миокарда крыс Wistar через 4 мес после нефрэктомии. А1–2. Миокард контрольной крысы. Б1. 5/6 НЭ. Нарушение укладки миофибрилл. Б2–Б3. 5/6 НЭ. Дезинтеграция миофибрилл и изменение формы митохондрий. Нарушение структуры дисков. Б4. 5/6 НЭ. Фистончатость цитоплазматической мембраны (электронная микроскопия, ув. 3600).

Figure 5. Ultrastructural changes in the myocardium of Wistar rats 4 months after nephrectomy. A1-2. Myocardium of a control rat. B1. 5/6 NE. Disturbance of myofibril packing. B2-B3. 5/6 NE. Disintegration of myofibrils and changes in the shape of mitochondria. Violation of the disk structure. B4. 5/6 NE. Fisticity of the cytoplasmic membrane (electron microscopy, x3600).

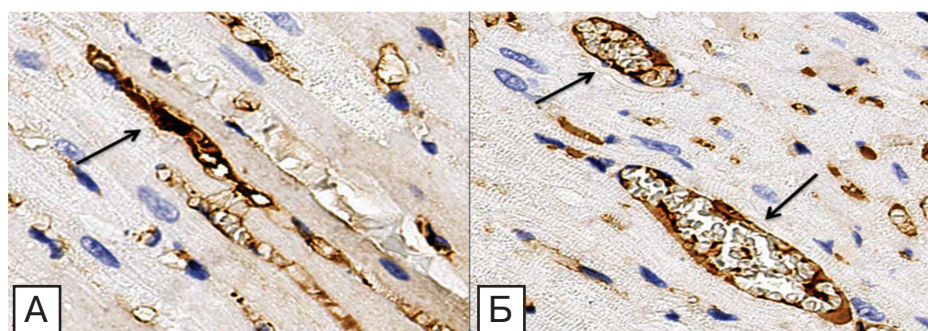


Рисунок 6. Микрофотография миокарда крысы через 4 мес после нефрэктомии. А – нефункционирующий капилляр; Б – функционирующие капилляры. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD31. Ув. 400.

Figure 6. Micrograph of rat myocardium 4 months after nephrectomy. A – non-functioning capillary; B – functioning capillaries. Immunohistochemical reaction with antibodies to CD31. x400.

Морфометрический анализ показал также наличие гипертрофии стенок артерий у крыс с НЭ, нарастающей по мере прогрессирования патологии почек (НЭ 2 мес – $22,4 \pm 6,5$ мкм; НЭ 4 мес – $26,9 \pm 5,2$ мкм). Толщина стенок сосудов артериального типа у крыс контрольных ЛО-групп составляла $18,5 \pm 9,54$ мкм и $17,58 \pm 5,42$ мкм соответственно ($p < 0,01$ в обоих случаях). Диаметр просвета сосудов у крыс с нарушением функции почек уменьшался. Через 2 мес этот показатель у

животных с НЭ составлял – $36,97 \pm 16,9$ мкм (в контроле – $62,65 \pm 14,57$ мкм, $p = 0,000$), через 4 мес – $60,69 \pm 22,94$ мкм (в контроле – $82,16 \pm 14,5$ мкм).

В микрофотографиях поперечных срезов кардиомиоцитов измеряли площадь функционирующих («открытых») капилляров (в них определялся просвет). Нефункционирующими капиллярами считали те, в которых при ИГХ-реакции с антителами к CD31 просвет капилляра не определялся (рис. 6).

Через 2 мес после НЭ у крыс было выявлено увеличение площади открытых капилляров ($1902,8 \pm 202,9$ мкм²) по сравнению с соответствующими ЛО-животными ($730,4 \pm 58,2$ мкм²; $p=0,000$). При этом количество открытых капилляров уменьшалось (НЭ 2 мес – $n=247$, контроль – $n=412$). На более длительном сроке эксперимента сохранялась тенденция к увеличению площади капилляров в сравнении с группой крыс на сроке НЭ 2 мес ($2139,1 \pm 396,5$ мкм²; $p=0,120$).

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведенное исследование показало, что кардиоваскулярные нарушения у крыс проявляются на ранних сроках формирования дисфункции почек и прогрессируют по мере развития почечной патологии. Так, через 2 мес после НЭ у животных значимо возрастают уровень АД, ИММ по сравнению с показателями соответствующей контрольной группы, снижается сократительная активность ВВ. Снижение сократительной активности ВВ может быть связано, прежде всего, с нарушением метаболизма кальция и фосфора, развитием вторичного гиперпаратиреоза. В наших предыдущих исследованиях было показано существенное увеличение неорганического фосфора в сыворотке крови у животных, подвергнутых НЭ [16]. Гиперфосфатемия способствует увеличению продукции фактора роста фибробластов-23 (FGF-23). Это особенно важно, так как концентрация FGF-23 в крови является независимым предиктором негативных сердечно-сосудистых событий. Поддержание нормального уровня сывороточного фосфора способствует снижению содержания в крови паратиреоидного гормона, участвующего в механизмах развития артериальной гипертензии, гипертрофии миокарда, кальцификации тканей [17], в том числе, и в перегрузке кальцием ГМК сосудов. Следует отметить, что кальцификация сосудов представляет собой сложный и многофакторный биологический процесс, в инициацию которого вовлечены различные молекулы. Так, полагают, что IL-1 β способствует кальцификации ГМК сосудов через сигнальный путь NF- κ B/p53/p21, а продукты оксидативного стресса – путем активации TGF- β и Wnt/ β -катенин [12].

Гистологическое исследование показало, что ремоделирование миокарда в ответ на уменьшение массы функционирующих нефронов, как и следовало ожидать, проявляется в гипертрофии кардиомиоцитов и сосудов миокарда. Пролиферативная активность с маркером пролиферации MKI67 (белок Ki-67) была выявлена в кардиомиоцитах и ядрах ГМК артерий миокарда крыс

с НЭ уже через 2 мес после резекции почечной ткани. Белок Ki-67 экспрессируется в ядре клеток во всех активных фазах жизненного цикла клетки (G_1 , S, G_2 , митоз), его экспрессия не определяется в клетках в фазе G_0 (покоящихся клетках) [18]. На сроке 2 мес после НЭ в миокарде также начинается формироваться фиброз (прежде всего периваскулярный), прогрессирующий по мере развития дисфункции почек. Имеются данные литературы, свидетельствующие о том, что выраженность фиброза миокарда коррелирует со снижением фракции выброса [19]. Помимо развития фиброза, сердечная дисфункция при ХБП сопровождается и изменением функции митохондрий, что приводит к нарушению энергетики и метаболических процессов в миокарде. В наших экспериментах мы отчетливо наблюдали изменение формы и размеров митохондрий. За повреждение митохондрий, нарушение окислительного фосфорилирования и синтеза АТФ как в кардиомиоцитах, так и ГМК сосудов, могут быть частично ответственны уремические токсины [20]. Сокращение запасов энергии может влиять на кальциевый обмен, способствовать перегрузке кальцием кардиомиоцитов и ГМК сосудов и изменять их сократительную активность.

Не исключено, что в развитии структурных нарушений в миокарде крыс с дисфункцией почек существенную роль играют эпигенетические факторы. Наши предыдущие исследования выявили рост уровней экспрессии NF- κ B и микроРНК-21 в миокарде животных, получающих стандартную диету в течение 4 мес после НЭ [15, 21]. Известно, что микроРНК играют важную роль в патологических процессах, в том числе, модулируют развитие фиброза в различных тканях. В частности, микроРНК-21 участвует в инициации и прогрессировании фиброза в почках [22]. Можно полагать, что в условиях экспериментальной дисфункции почек микроРНК-21 принимает участие в ремоделировании миокарда, модулируя как сигнальный путь TGF- β 1/Smad [23], так и активируя пролиферацию рецепторов пероксисом альфа (peroxisome proliferator-activated alpha – PPAR α) или пролиферацию фибробластов через CADM1/STAT3 путь [24, 25]. Кроме того, ингибирование экспрессии ядерного фактора Nrf2 (частично за счет снижения регуляции Nrf2/ARE-пути) и некоторых микроРНК при ХБП, например микроРНК-203, может способствовать прогрессированию сердечной дисфункции, сопровождаться повышением уровней TGF- β 1, фибронектина, развитием фиброза [26, 27]. Снижение экспрессии микроРНК-203 может также способствовать акти-

вазии гена рецептора эндотелина А (приводит к вазоконстрикции, клеточной пролиферации и гипертрофии стенки сосудов) и гена фактора роста соединительной ткани (участвует в ангиогенезе). МикроРНК могут быть ответственны и за ремоделирование сосудов при ХБП. В частности, снижение уровня экспрессии микроРНК-155 связано с усилением кальцификации стенки аорты, а увеличение ее экспрессии ингибирует пролиферацию ГМК сосудов. Кроме того, у крыс с ХБП выявлено снижение экспрессии микроРНК-143 и -145, специфичных для ГМК сосудов, с одновременным увеличением пролифератора миокардина и повышением уровней экспрессии микроРНК-223 и -126, вовлеченных в процесс воспаления сосудистой стенки [28, 29]. Однако, несмотря на то, что количество данных о влиянии микроРНК на функцию и структуру сосудов и миокарда существенно возросло за последние 10 лет, комбинаторные эффекты различных микроРНК не ясны. Дальнейшее понимание молекулярных механизмов и генетических мишеней, участвующих в сложном процессе ремоделирования миокарда и сосудов, имеет решающее значение для разработки новых терапевтических стратегий при ХБП.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное исследование на модели резекции 5/6 почечной паренхимы у крыс Wistar выявило изменение не только уровня АД, но и функциональной активности ВВ, а также всех структурных компонентов миокарда – кардиомиоцитов, стромы и сосудов. Рост массы миокарда на гистологическом уровне проявлялся достоверным увеличением толщины кардиомиоцитов, объема соединительной ткани, толщины стенки сосудов артериального типа с достижением максимального значения на сроке 4 мес после НЭ.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ REFERENCES

1. Matsushita K, Ballew SH, Wang AY et al. Epidemiology and risk of cardiovascular disease in populations with chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2022; 18(11):696–707. doi: 10.1038/s41581-022-00616-6
2. Ozdemir M, Asoglu R, Dogan Z et al. The association of glomerular filtration rate with echocardiographic parameters in chronic kidney disease. *J Clin Med Res* 2021; 13(2):121–129. doi: 10.14740/jocmr4439
3. Nitta K, Iimuro S, Enyu Imai E et al. Risk factors for increased left ventricular hypertrophy in patients with chronic kidney disease: findings from the CKD-JAC study. *Clin Exp Nephrol* 2019; 23(1): 85–98. doi: 10.1007/s10157-018-1605-z
4. Law JP, Pickup L, Pavlovic D et al. Hypertension and cardiomyopathy associated with chronic kidney disease: epidemiology, pathogenesis and treatment considerations. *J Hum Hypertens* 2023; 37(1): 1–19. doi:10.1038/s41371-022-00751-4
5. Thobani A, Jacobson TA. Dyslipidemia in patients with kidney disease. *Cardiol Clin* 2021; 39(3):353–363. doi: 10.1016/j.ccl.2021.04.008
6. Taguchi K, Elias BC, Brooks CR et al. Uremic Toxin-Targeting as a Therapeutic Strategy for Preventing Cardiorenal Syndrome. *Circ J* 2019; 84(1):2–8. doi: 10.1253/circj.CJ-19-0872
7. Burnier M, Damianaki A. Hypertension as Cardiovascular Risk Factor in Chronic Kidney Disease. *Circ Res* 2023; 132(8):1050–1063. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.122.321762
8. Oe Y, Mitsui S, Sato E et al. Lack of Endothelial Nitric Oxide Synthase Accelerates Ectopic Calcification in Uremic Mice Fed an Adenine and High Phosphorus Diet. *Am J Pathol* 2021; 191(2): 283–293. doi: 10.1016/j.ajpath.2020.10.012
9. Иванова ГТ, Лобов ГИ, Береснева ОН, Парастаева ММ. Изменение реактивности сосудов крыс с экспериментальным уменьшением массы функционирующих нефронов. *Нефрология* 2019; 23(4): 88–95. doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-4-88-95
10. Ivanova GT, Lobov GI, Beresneva ON, Parastaeva MM. Changes in the reactivity of vessels of rats with an experimental decrease in the mass of functioning nephrons. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019; 23(4): 88–95 (in Russ.) doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-4-88-95
11. Goodman WG, Goldin J, Kuizon BD et al. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000; 342(20):1478–1483. doi: 10.1056/NEJM200005183422003
12. Hutcheson JD, Goettsch C. Cardiovascular Calcification Heterogeneity in Chronic Kidney Disease. *Circ Res* 2023; 132(8):993–1012. doi: 10.1161/CIRCRESAHA.123.321760
13. Ren S-C, Mao N, Yi S et al. Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease: An Update and Perspective. *Aging Dis* 2022; 13(3):673–697. doi: 10.14336/AD.2021.1024
14. Perkovic V, Verdon C, Ninomiya T et al. The relationship between proteinuria and coronary risk: a systematic review and meta-analysis. *PLoS Med* 2008; 5:e207. doi: 10.1371/journal.pmed.0050207
15. Dusing P, Zietzer A, Goody PR et al. Vascular pathologies in chronic kidney disease: pathophysiological mechanisms and novel therapeutic approaches. *J Mol Med (Berl)* 2021; 99: 335–348. doi: 10.1007/s00109-021-02037-7
16. Береснева ОН, Зарайский МИ, Куликов АН и др. МикроРНК-21 и ремоделирование миокарда при сокращении массы действующих нефронов. *Артериальная гипертензия* 2019; 25(2): 191–199. doi: 10.18705/1607-419X-2019-25-2
17. Beresneva ON, Zaisky MI, Kulikov AN et al. MicroRNA-21 and myocardial remodeling with a reduction in the mass of active nephrons. *Arterial hypertension* 2019; 25(2): 191–199 (in Russ.) doi: 10.18705/1607-419X-2019-25-2
18. Иванова ГТ, Кучер АГ, Береснева ОН и др. Оценка в эксперименте нефропротективного и кардиопротективного эффектов длительного применения малобелковой диеты, включающей кетостерил. *Нефрология* 2011; 15(4):45–50. doi: 10.24884/1561-6274-2011-15-4-45-50
19. Ivanova GT, Kucher AG, Beresneva ON et al. Experimental evaluation of the nephroprotective and cardioprotective effects of long-term use of a low-protein diet including ketosteril. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2011; 15(4): 45–50 (In Russ.). doi: 10.24884/1561-6274-2011-15-4-45-50
20. Martinez-Arias L, Panizo-Garcia S, Martin-Virgala J et al. Contribution of phosphorus and PTH to the development of cardiac hypertrophy and fibrosis in an experimental model of chronic renal failure. *Nefrologia (Engl Ed)* 2021; 41(6): 640–651. doi: 10.1016/j.nefro.2021.12.004
21. Gerdes J, Lemke H, Baisch H et al. Cell cycle analysis of a cell proliferation-associated human nuclear antigen defined by the monoclonal antibody Ki-67. *J Immunol* 1984; 133(4):1710–1715
22. Wang AY, Wang M, Lam C et al. Left ventricular filling pressure by Doppler echocardiography in patients with end-stage renal disease. *Hypertension* 2008; 52(1):107–114. doi: 10.1161/HYPERTENSIONAHA.108.112334
23. Patel N, Yaqoob MM, Aksentijevic D. Cardiac metabolic remodelling in chronic kidney disease. *Nat Rev Nephrol* 2022; 18(8): 524–537. https://doi.org/10.1038/s41581-022-00576-x

21. Береснева ОН, Парастаева ММ, Иванова ГТ и др. Миокардиальные эффекты малобелковой диеты при экспериментальной дисфункции почек. *Нефрология* 2022; 26(4): 110–118. doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-4-110-118

Beresneva ON, Parastaeva MM, Ivanova GT et al. Myocardial effects of a low-protein diet in experimental kidney dysfunction. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2022; 26(4):110–118 (In Russ.). doi: 10.36485/1561-6274-2022-26-4-110-118

22. Loboda A, Sobczak M, Jozkowicz A, Dulak J. TGF- β 1/Smads and miR-21 in Renal Fibrosis and Inflammation. *Mediators Inflamm* 2016; 2016:8319283. doi: 10.1155/2016/8319283

23. Yuan J, Chen H, Ge D et al. Mir-21 Promotes Cardiac Fibrosis After Myocardial Infarction Via Targeting Smad7. *Cell Physiol Biochem* 2017; 42(6): 2207–2219. doi: 10.1159/000479995

24. Chuppa S, Liang M, Liu P et al. MicroRNA-21 regulates peroxisome proliferator-activated receptor alpha, a molecular mechanism of cardiac pathology in cardiorenal syndrome type 4. *Kidney Int* 2018; 93(2): 375–389. doi: 10.1016/j.kint.2017.05.014

25. Cao W, Shi P, Ge JJ. miR-21 enhances cardiac fibrotic remodeling and fibroblast proliferation via CADM1/STAT3 pathway. *BMC Cardiovasc Disord* 2017; 17(1): 88. doi: 10.1186/s12872-017-0520-7

26. Xu L, Han S, Chen Z. Increase of Oxidative Stress by Deficiency of The ALDH2/UCP2/Nrf2 Axis Exacerbates Cardiac Dysfunction in Chronic Kidney Disease. *Rev. Cardiovasc Med* 2022; 23(4): 127. <https://doi.org/10.31083/j.rcm2304127>

27. He Q, Wang C, Qin J et al. Effect of miR-203 expression on myocardial fibrosis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2017; 21:837–842

28. Taïbi F, Metzinger-Le Meuth V, M'Baya-Moutoula E et al. Possible involvement of microRNAs in vascular damage in experimental chronic kidney disease. *Biochim Biophys Acta* 2014; 1842(1): 88–98. <https://doi.org/10.1016/j.bbadis.2013.10.005>

29. Piko N, Bevc S, Hojs R, Ekart R. Atherosclerosis and epigenetic modifications in chronic kidney disease. *Nephron* 2023; 147 (11): 655–659. <https://doi.org/10.1159/000531292>

Сведения об авторах:

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

Парастаева Марина Магрезовна, канд. биол. наук
197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Л. Толстого, д. 17, корп. 54. Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И.П. Павлова, Научно-исследовательский институт нефрологии, лаборатория клинической физиологии почек, старший научный сотрудник. Тел.: (812) 346-39-26, E-mail: marina_parastaeva@list.ru. ORCID: 0000-0002-4526-8671

Иванова Галина Тажимовна, канд. биол. наук
199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, д. 6. Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, лаборатория физиологии сердечно-сосудистой и лимфатической систем, старший научный сотрудник. Тел.: 8 (812) 328-07-01, E-mail: ivanovagt@infran.ru. ORCID: 0000-0003-0188-5173

Иванова Александра Николаевна
199034, Россия, Санкт-Петербург, Университетская набережная, д. 7-9. Санкт-Петербургский государственный университет, ресурсный центр «Развитие молекулярных и клеточных

технологий» научного парка, специалист. Тел.: 8(921)-955-89-86. E-mail: alyx@bk.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7034-0962>

Проф. Кучер Анатолий Григорьевич, 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, научно-клинический исследовательский центр, заместитель директора. Тел.: +7(921)421-18-17; e-mail: prof.kucher@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5616-3488

About the authors:

Olga N. Beresneva, PhD

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

Marina M. Parastaeva, PhD

Affiliations: 197022, Russia, St-Petersburg, L.Tolstoy st., 17, build. 54. Pavlov University Institute of Nephrology Laboratory of Clinical Physiology of the Kidney Senior researcher. Phone (812)346-39-26, E-mail: marina_parastaeva@list.ru. ORCID:0000-0002-4526-8671

Galina T. Ivanova, PhD

Affiliations: 199034, Russia. St-Petersburg, Makarova Emb., 6, I. P. Pavlov Institute of Physiology, Russian Academy of Sciences, laboratory of physiology of the cardiovascular and lymphatic systems. Senior researcher. Phone: 8 (812) 328-07-01, E-mail: ivanovagt@infran.ru. ORCID: 0000-0003-0188-5173

Alexandra N. Ivanova

Affiliations:199034, Russia, St-Petersburg, Universitetskaya embankment, 7-9. St. Petersburg State University, resource center “Development of molecular and cellular technologies” of the science park, specialist. Phone: 8(921)-955-89-86. E-mail: alyx@bk.ru. <https://orcid.org/0000-0002-7034-0962>

Prof. Anatoly G. Kucher, MD, PhD, DMedSci

Affiliations: 197022, Russia, St-Petersburg, L. Tolstoy st., 17, build 54. Pavlov University, Research Institute of Nephrology, Research and Clinical Research Center, Vice-Director. Phone: +7(921)421-18-17; e-mail: prof.kucher@yandex.ru. ORCID: 0000-0002-5616-3488

Благодарности. В работе было использовано оборудование РЦ «Развитие молекулярных и клеточных технологий» СПбГУ.

Вклад авторов: все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: all authors made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

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

Статья поступила в редакцию 27.11.2023;
одобрена после рецензирования 28.12.2023;
принята к публикации 19.01.2024
The article was submitted 27.11.2023;
approved after reviewing 28.12.2023;
accepted for publication 19.01.2024