

ШВЕД
Нина Викторовна

**ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ
МИОКАРДА ПРИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ**

Специальность
14.03.02 – «Патологическая анатомия»

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург

2020

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский медицинский университет им. академика И.П. Павлова» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Научный руководитель: доктор медицинских наук, доцент
БАЙКОВ Вадим Валентинович

Официальные оппоненты: **КАКТУРСКИЙ Лев Владимирович**
доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, Федеральное государственное бюджетное научное учреждение высшего образования «Научно-исследовательский институт морфологии человека», научный руководитель.

МИТРОФАНОВА Любовь Борисовна доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное учреждение «Национальный медицинский исследовательский центр имени В.А. Алмазова» Министерства здравоохранения Российской Федерации, главный научный сотрудник научно-исследовательской лаборатории патоморфологии.

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования "Смоленский государственный медицинский университет" Министерства здравоохранения Российской Федерации

Защита диссертации состоится 15 июня 2020 г. в 14.00 часов на заседании диссертационного совета Д 215.002.02 на базе ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ (194044, г. Санкт-Петербург, ул. Академика Лебедева, д. 6).

С диссертацией можно ознакомиться в фундаментальной библиотеке ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ и на официальном сайте ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» МО РФ.

Автореферат разослан 28 » 01 2020 г.

Ученый секретарь диссертационного совета

доктор медицинских наук, профессор

Чирский Вадим Семенович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Несмотря на тенденцию снижения смертности пациентов от сердечно-сосудистых заболеваний за последние десятилетия, сердечно-сосудистые заболевания продолжают занимать лидирующее место в заболеваемости, смертности и инвалидизации независимо от уровня экономики и медицинской помощи в разных странах. При наличии хронического заболевания почек частота осложнений со стороны сердечно-сосудистой системы, являющихся причиной смерти, увеличивается в 10-20 раз (Шулутко Б.И., 2002; Middleton R.J. et al., 2005; Segura J. et al., 2006). Отмечено возрастание риска развития сердечно-сосудистых заболеваний и их смертельных осложнений, таких как инфаркт миокарда, у пациентов, начавших получать заместительную почечную терапию. Частота встречаемости инфаркта миокарда и инсульта у пациентов нефрологического профиля с хронической сердечной недостаточностью остается высокой (McCullough P.A. et al., 2008). По современным представлениям, пациентов с хронической патологией почек относят к группам с высоким и очень высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений. Таким образом, существует необходимость всестороннего изучения механизмов структурных изменений миокарда у пациентов с хронической болезнью почек, которые определяют развитие сердечно-сосудистых катастроф.

На клеточном уровне гипертрофия левого желудочка проявляется увеличением размера кардиомиоцитов. Предпосылкой для этого является нарушение гемодинамики, что создаёт условия для избыточного натяжения сарколеммы кардиомиоцита и по принципу обратной связи сопровождается активацией генов сократительных белков саркомеров (Herman D.S. et al., 2012). Концентрическая гипертрофия является результатом хронической перегрузки давлением (увеличение постнагрузки) и на макроскопическом уровне проявляется увеличением толщины стенки левого желудочка миокарда. Также у пациентов с ХБП могут определяться выраженные структурные изменения стромы. В отдельных исследованиях было показано, что фиброз миокарда развивается достоверно чаще у больных с хронической болезнью почек и АГ, чем у больных с АГ без признаков почечной недостаточности, что сопровождается развитием ригидности стромы миокарда и развитием диастолической дисфункции. Применение 2D-эхокардиографии позволяет выявить наличие диастолической дисфункции у 62% больных с пятой стадией хронической болезни почек (Lopez B. et al., 2008). При этом выраженность фиброза миокарда значимо коррелирует с нарушением силы сокращения левого желудочка, снижением фракции выброса и функциональным классом сердечной недостаточности (Wang A.Y. et al., 2008). Таким образом, клинические исследования в совокупности с экспериментальными данными позволяют выделить ключевые компоненты патогенеза структурных изменений миокарда, которые требуют дальнейшего уточнения с применением современных методов исследования.

Впервые ограничение потребления белка в качестве терапевтического подхода было использовано у больных с хронической болезнью почек доктором Lionel Beale в 1869 г (Beale L.S., 1869). Применение малобелковой диеты как направления терапии хронической болезни почек было предложено Giovannetti и Maggiore в 60-х гг. 20-го века (Giovannetti S., Maggiore Q., 1964). В это время использование гемодиализа находилось на экспериментальном этапе, метод обеспечивал улучшение состояния лишь небольшой части больных. В то же время ограничение потребления белка с сохранением достаточного количества аминокислот и энергии рассматривалось в качестве единственного средства коррекции уремии, снижения выраженности её проявлений и увеличения продолжительности жизни. Важно отметить, что снижение уровня уремии является не единственной задачей, которая стоит перед малобелковой диетой (МБД).

В начале 1980-х Maschio и Barsotti показали, что ограничение потребления белка обеспечивает снижение обратного захвата фосфора и его концентрации в крови (Maschio G. et al., 1982). Этот аспект патогенеза хронической болезни почек оставался без должного внимания долгое время и лишь в течение последних десяти лет появляются подтверждения важной роли нарушения обмена фосфора в прогрессировании почечной недостаточности (Isakova T., 2010). Одним из важных аспектов успешного применения МБД является понимание того, что положительный эффект достигается не столько жёстким ограничением количества белка, сколько достижением баланса между количеством и качеством потребляемого белка, сохранением высокого уровня энергетического обмена (Tom K. et al., 1995). Важным компонентом в развитии диетарного подхода к терапии больных с хронической болезнью почек стало появление продуктов питания, не содержащих белок («protein-free foods») (D'Alessandro C. et al., 2013). Такие продукты питания обеспечили эффективную модификацию привычного рациона, что позволило снизить потребление протеина низкой биологической ценности, и, таким образом, обеспечило адекватный баланс между качеством потребляемого белка и его энергетической ценностью. Когда умеренного ограничения потребления белка и фосфора недостаточно, как, например, в случае выраженной почечной недостаточности, может быть применена диета с низким содержанием белка (0,3 г/кг/сутки) и фосфора с сохранением количества кальция, фолатов, витаминов группы В и смеси незаменимых аминокислот (Aparicio M. et al., 2012).

Степень разработанности темы исследования

Морфологические изменения в кардиомиоцитах, строме миокарда (интерстиции и капиллярном русле), сосудистой стенке сердечных артерий крупного и среднего калибра описаны в многочисленных исследованиях, но результаты этих исследований часто противоречивы (Непомнящих, Л. М., 2001; Swynghedauw, B., 2001; Hruska K.A., Saab G., 2007; Arcasoy M. O., 2008; Agarwal R., 2009; Rostand S.G. et al., 2010; Yau-Huei Lai et al., 2013). Это объясняется множеством сопутствующих факторов, влияющих на перестройку миокарда у пациентов с ХПН (Пушкарева, Т. А., 2008; Шурыгин, М. Г., 2013). К таким факторам можно отнести: возраст пациентов, заместительную почечную терапию,

сопутствующие системные заболевания (васкулиты, наследственные генетические заболевания с поражением сердечно-сосудистой системы и почек), врожденные дефекты развития сердца и других органов, сосудов, онкологические заболевания, воспалительные заболевания на различных стадиях, интоксикации хронического генеза и др. (Yilmaz M.I. et al., 2010; Craver L. et al., 2007; Шурыгина И. А., 2012). В сочетании или по отдельности, сопутствующие заболевания или патологические состояния оказывают влияние на патогенез сердечно-сосудистых заболеваний у пациентов с ХПН, и «истинная» патогистологическая картина остается скрыта от глаз исследователя. Таким образом, для выявления особенностей изменения морфологии миокарда при ХПН остается использование лабораторных животных и проведение эксперимента (Gagnon R.F., Duguid W.P., 1983; Gagnon R.F., Gallimore B., 1998; Ma L.J., Fogo A.B., 2003; Fujihara C.K., Malheiros D.M., 2007).

На экспериментальных моделях с использованием лабораторных крыс можно оценить морфологические изменения в миокарде при ХПН различных сроков длительности, а также оценить влияние малобелковой диеты (МБД) (Bantle J.P., Wylie-Rosett J.J., 2008; Lacroix M., Gaudichon C. 2004). Подобные исследования невозможно провести на людях. Исследование на крысах стока Wistar рассматривается как адекватная модель хронической недостаточности почек (Bro S., Bollano E., 2008). Использование крыс линии SHR позволяет отдельно отследить влияние артериальной гипертензии на структуру миокарда при ПН.

Таким образом, тщательное и комплексное изучение и сопоставление структурных изменений у экспериментальных животных при ХПН с применением кардионепротеक्टивной терапии является одной из первостепенных задач современной науки и клинической медицины.

Цель исследования – изучение структурных изменений миокарда при моделировании недостаточности почек у крыс с учетом исходной величины артериального давления и при применении малобелковой диеты.

Задачи исследования

1. Изучить морфологические изменения миокарда в экспериментальной модели хронической почечной недостаточности различных сроков длительности.
2. Оценить морфологические изменения миокарда крыс с генетической предрасположенностью к артериальной гипертензии, сопоставить обнаруженные изменения со структурой миокарда нормотензивных крыс.
3. Изучить изменения в миокарде крыс с генетической предрасположенностью к артериальной гипертензии после нефрэктомии.
4. Оценить сопряженность перестройки кардиомиоцитов и стромы при экспериментальной ХПН у крыс с первичной гипертензией и нормотензивных крыс.
5. Оценить влияние малобелковой диеты на морфологическую перестройку миокарда в модели экспериментальной хронической почечной недостаточности.

Научная новизна исследования

Впервые на модели почечной недостаточности, артериальной гипертензии и их сочетания дана структурная характеристика изменений миокарда на различных сроках почечной недостаточности. Проведен комплексный анализ данных морфометрии кардиомиоцитов и элементов стромы. Введение в эксперимент животных с генетически детерминированной артериальной гипертензией впервые позволило выделить и проанализировать роль гипертензии в развитии перестройки миокарда при почечной недостаточности. Выявлена сопряженность изменений в кардиомиоцитах и строме миокарда, определены и в комплексе оценены морфологические изменения стенок интрамиокардиальных артерий. Установлено, что изменения в микроциркуляторном русле в наибольшей мере зависят от темпа развития и степени гипертрофии кардиомиоцитов. Впервые выполнена комплексная морфологическая оценка влияния малобелковой диеты при почечной недостаточности и артериальной гипертензии на структурные изменения миокарда. Впервые на экспериментальном материале выявлены и морфометрически исследованы особенности регенераторных процессов в миокарде при ХПН. Детально описаны характерные для компенсаторно-приспособительных реакций изменения в ядрах кардиомиоцитов, доказаны и обоснованы такие виды внутриклеточной регенерации как эндомитоз и амитоз, описан митоз в ядрах кардиомиоцитов. Впервые в эксперименте дана морфологическая оценка изменений миокарда при ХПН и АГ в условиях применения малобелковой диеты. Доказано положительное влияние малобелковой диеты на миокард, что обусловлено главным образом ее гипотензивным эффектом.

Теоретическая и практическая значимость работы

1. Полученные новые знания об особенностях структурных изменений в миокарде и компенсаторных механизмах его ремоделирования в экспериментальной модели почечной недостаточности, артериальной гипертензии и их сочетания позволили раскрыть механизмы патогенеза повреждения миокарда при ХПН и могут стать основой для последующих клинических исследований в этой области.

2. При комплексном морфологическом анализе миокарда были уточнены характер и степень изменений в кардиомиоцитах и их ядрах, строме, капиллярном русле и интрамуральных артериях миокарда экспериментальных животных с различными сроками длительности ХПН. Результаты исследования значительно расширяют существующие представления о вкладе АГ как в отдельности, так и в сочетании с ХПН на различных ее сроках длительности.

3. Результаты исследования доказывают целесообразность и высокую эффективность применения МБД при ХПН, заключающуюся в снижении степени гипертрофии и склероза, улучшении состояния капилляров и артерий сердца при ХПН. Полученные данные могут быть использованы при разработке новых диетарных подходов в составе комплексного лечения пациентов с ХПН.

4. Выявленные особенности изменений в интрамуральных артериях и микроциркуляторном русле миокарда при ХПН в сочетании с АГ позволили значительно расширить существующие представления о структурном обеспечении кровообращения в сердце и трофике гипертрофированного миокарда.

Методология и методы исследования

Настоящая экспериментальная работа была выполнена с использованием широкого спектра методов морфологического исследования (гистологического, гистохимического и иммуногистохимического) и статистического анализа полученных данных. При формировании цели и задач исследования, выборе алгоритмов его ведения был учтен анализ результатов опубликованных работ отечественных и зарубежных авторов. Было принято решение выполнить экспериментальное исследование на модели, наиболее подходящей для оценки морфологических изменений миокарда при ХПН. При этом была сохранена репрезентативность выборки, её оценка осуществлялась в тесной связи с предметом исследования.

Внедрение результатов исследования в практику

Результаты диссертационной работы внедрены в практику научно-исследовательского и учебного процессов кафедры патологической анатомии с патологоанатомическим отделением ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова.

Положения, выносимые на защиту

1. Используемая модель позволяет оценить ремоделирование миокарда у крыс с ХПН в зависимости от исходной величины артериального давления.
2. Ремоделирование миокарда при ХПН и при артериальной гипертензии имеют общие черты, включающие гипертрофию миокарда, периваскулярный склероз, изменения крупных артерий. При ХПН, кроме того, нарастает площадь капиллярного русла, происходит выраженное утолщение среднего слоя внутримиекардиальных артерий.
3. Прогрессирование ХПН сопровождается увеличением доли ядер с признаками амитоза, что может отражать усиление регенераторных и компенсаторных механизмов в миокарде.
4. Применение малобелковой диеты при ХПН оказывает кардиопротективный эффект за счет снижения степени гипертрофии кардиомиоцитов, уменьшения площади склероза, структурных особенностей и количественных изменений капилляров, увеличения диаметра просветов интрамиоекардиальных артерий.

Степень достоверности и апробация результатов исследования

Достоверность полученных результатов основана на обобщающем теоретическом анализе проблемы, адекватном поставленным задачам выборе методов (общенаучных и специальных), корректном статистическом анализе данных. Основные результаты

диссертационного исследования были доложены и обсуждены на 6 международных и 11 всероссийских научных конференциях, среди которых: LXXII научно-практическая конференция «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины 2011» (20 апреля 2011, Санкт-Петербург), VII семинар последипломного образования «Актуальные вопросы нефрологии и диализа: время диетотерапии» (19-20 сентября 2014, Санкт-Петербург), всероссийская конференция «Профилактическая кардиология 2016» (16 июня 2016, Москва), конференция «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии» (5-6 октября 2017, Рязань). Апробация состоялась на заседании общества патологоанатомов Санкт-Петербурга и Ленинградской области (24 мая 2017, Санкт-Петербург).

Публикации

По теме исследования опубликовано: 14 печатных работ, в том числе 6 – в журналах, включенных в список ВАК Министерства образования и науки Российской Федерации.

Личный вклад автора в проведенное исследование

Автор лично разработала протокол экспериментального исследования по оценке структурных изменений миокарда в модели почечной недостаточности; принимала непосредственное участие в организации и проведении экспериментального исследования на базе ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова Минздрава России. Непосредственно осуществляла организацию и проведение экспериментальных исследований, оперативное вмешательство лабораторным животным, послеоперационное наблюдение, выведение из эксперимента, взятие тканей для последующего морфологического исследования. Изготавливала гистологические препараты и проводила морфологическое исследование тканей животных в экспериментальной модели.

Автор провела качественную и количественную оценку структурных изменений миокарда, включая гистоморфометрический анализ, выполнила статистическую обработку полученных результатов, участвовала в их интерпретации, принимала активное участие в написании тезисов научных работ, научных статей (оригинальные исследования и обзоры).

Объем и структура диссертации

Диссертация включает список сокращений, обзор литературы, описание материалов и методов исследования, изложение собственных данных и их обсуждение, выводы, заключение, список использованной литературы, содержащий 32 отечественных и 137 зарубежных источников. Диссертация изложена на 151-ой странице. Материал проиллюстрирован 43 рисунками и 25 таблицами.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материал и методы исследования

Экспериментальное исследование осуществлялось при строгом соблюдении международных регламентов биоэтики. Протокол по проведению экспериментального исследования был одобрен комиссией по содержанию и использованию животных ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Для эксперимента были взяты клинически здоровые самцы крыс стока Wistar и спонтанно-гипертензивных инбредных крыс (Spontaneously Hypertensive Rat – SHR) массой 190-220 граммов.

Для моделирования почечной недостаточности была выбрана модель 5/6 нефрэктомии. Эта модель не предполагает резкого снижения функции почек и, таким образом, позволяет воспроизвести течение хронической недостаточности почек у пациентов без заместительной терапии гемодиализом или перитонеальным диализом. Оперативное вмешательство осуществлялось в два этапа с интервалом в 1 неделю. В ходе первого этапа выполнялась резекция 2/3 почки слева. Второй этап включал в себя тотальную нефрэктомию справа (рисунок 1). Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 2 и 4 месяца после операции путем передозировки эфирного наркоза.



Рисунок 1. Оперативное вмешательство. Нефрэктомия правой почки.

Пищевые рационы крыс. Для определения влияния малобелковой диеты на структурные изменения миокарда в модели хронической почечной недостаточности были использованы два рациона – стандартный рацион и малобелковая диета (препарат Кетостерил). Стандартный рацион («Информ-корм», Россия) способствовал реализации суточной потребности 3 г белка/ 100 г массы тела животного. Малобелковая диета с использованием препарата 10% Кетостерил («ФрезениусКаби», Германия) обеспечивала поступление в организм 1,5 г белка на 100 г массы. Препарат Кетостерил в своем составе

содержит аминокислоты валин, лейцин, изолейцин и фенилаланин в форме кетокислот. Указанные кислоты в организме трансаминируются в соответствующие L-аминокислоты, при этом осуществляется расщепление мочевины, что способствует снижению концентрации азота в сыворотке крови.

После периода адаптации крысы случайным образом были распределены в 10 групп исследования:

- группа 1 (n=5) – ложнооперированные крысы Wistar, срок выведения из эксперимента – 2 месяца;
- группа 2 (n=11) – крысы Wistar, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии; срок выведения из эксперимента – 2 месяца;
- группа 3 (n=5) – ложнооперированные крысы Wistar, срок выведения из эксперимента – 4 месяца;
- группа 4 (n=7) – крысы Wistar, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии, срок выведения из эксперимента – 4 месяца;
- группа 5 (n=8) – ложнооперированные крысы линии SHR, срок выведения из эксперимента – 2 месяца;
- группа 6 (n=9) – крысы линии SHR, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии, срок выведения из эксперимента – 2 месяца;
- группа 7 (n=4) – ложнооперированные крысы Wistar с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 4 месяца;
- группа 8 (n=7) – крысы Wistar, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 4 месяца;
- группа 9 (n=3) – крысы линии SHR, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 2 месяца;
- группа 10 (n=3) – ложнооперированные крысы линии SHR с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 2 месяца (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных в группах исследования n=62)

	Рацион →	Стандартный рацион		МБД (10% Кетостерил)	
	Возраст →	2 месяца	4 месяца	2 месяца	4 месяца
	Линия/сток ↓	n=	n=	n=	n=
ЛО	Wistar	5	5		4
	SHR	8		3	
НЭ 5/6	Wistar	11	7		7
	SHR	9		3	

Примечание: ЛО – ложнооперированные; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; SHR – Spontaneously Hypertensive Rat

Гистологическое исследование. Фрагменты ткани миокарда животных, отобранные для гистологического исследования, фиксировали в 10% забуференном растворе формалина (продолжительность фиксации составляла 24 часа при pH 7,0). Микропрепараты изготавливались по стандартной методике. Выполнялась окраска срезов гематоксилином и эозином, а также окраска по ван Гизону для оценки изменений компонентов стромы. Гистологические препараты были изучены на микроскопе Zeiss Axio Imager Z2 (Zeiss AG, Германия). Морфологическое и морфометрическое исследование было выполнено с использованием цифровой фотокамеры Nikon и гистологического сканера (Leica Aperio AT2) в морфометрической программе «VideoTest 5.2».

Для оценки микроциркуляторного русла использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к белкам эндотелиальных клеток капилляров platelet/endothelial cell adhesion molecule 1 – PECAM-1 (Santa Cruz, США) и CD34 (Santa Cruz, США). Для оценки пролиферативной активности использовали антитела к Ki-67 (Dako, США).

Морфометрический анализ миокарда. Перед началом измерения указывали калибровку, которая соответствовала изображению микрообъекта, полученному с объектива $\times 40$. Для соблюдения репрезентативности процедура проводилась в 10 произвольно выбранных полях зрения. Производились измерения параметров, которые представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Параметры морфометрического исследования

Объект исследования	Параметр, ед. измерения
Кардиомиоциты	1. Толщина, мкм 2. Площадь, мкм^2 3. Толщина ядра, мкм 4. Площадь ядра, мкм^2 5. Количество ядер, шт 6. Количество многоядерных кардиомиоцитов, шт 7. Индекс отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита (мкм/мкм) 8. Толщина стенки левого желудочка, мкм
Соединительная ткань	1. Площадь, мкм^2 2. Площадь периваскулярной соединительной ткани, мкм^2
Сосуды артериального типа	1. Толщина стенки, мкм 2. Диаметр просвета, мкм 3. Индекс Керногана, (толщина стенки сосуда, мкм/диаметр просвета сосуда, мкм)
Капилляры микроциркуляторного русла	1. Площадь просветов капилляров, мкм^2 2. Количество капилляров, шт 3. Отношение площади просветов капилляров (мкм^2) к площади кардиомиоцитов (мкм^2)

Статистический анализ. Статистическую обработку данных производили на компьютере Dell Inspiron Core™ i7 2.00GHz. с использованием лицензионного софта Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.0. С целью определения значимых различий между средними значениями различных совокупностей сопоставимых групп были использованы методы вариационного статистического анализа с применением t-критерия Стьюдента. Данные считали достоверными при $p < 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Морфологические изменения в миокарде крыс Wistar в модели хронической почечной недостаточности на сроках 2 и 4 месяца. Первая часть эксперимента была направлена на оценку структурных изменений миокарда у экспериментальных животных в модели хронической почечной недостаточности. О развитии почечной недостаточности после проведения операции 5/6 нефрэктомии свидетельствовало повышение уровня креатинина на сроке 2 месяца до $0,7 \pm 0,03$ мкмоль/л и мочевины крови до $16,2 \pm 0,36$ ммоль/л, что было достоверное выше по сравнению с группой ложнооперированных животных ($p=0,050$ и $p=0,010$ соответственно). Это сопровождалось достоверным увеличением АД к концу 2-ого месяца до $151,5 \pm 8,8$ мм рт. ст. (в группе контроля $121,15 \pm 1,8$ мм рт. ст., $p=0,001$), а на 4-ом месяце – $158,7 \pm 11,2$ мм рт. ст. (в группе контроля $124,3 \pm 7,07$ мм рт. ст., $p=0,002$). На сроке 2 месяца отмечалось значимое увеличение массы сердца крыс до $850,6 \pm 52,5$ мг в сравнении с показателями контрольной группы – $719,5 \pm 63,9$ мг, $p=0,000$. Аналогичная тенденция наблюдалась и в отношении показателя толщины миокарда стенки ЛЖ – толщина стенки ЛЖ у животных с НЭ на сроке 4 месяца увеличилась до $2323,8 \pm 382,23$ мкм ($p=0,300$). Таким образом, у животных в модели ХПН определялось достоверное увеличение показателя АД с достижением максимального значения на сроке 4 месяца, что сопровождалось нарастанием массы сердца и гипертрофией стенки левого желудочка.

При гистологическом исследовании на сроке 2 месяца в цитоплазме гипертрофированных кардиомиоцитов наблюдались гистологические признаки повреждения. Определялись кардиомиоциты с зернистостью цитоплазмы, определялись группы разволокненных и фрагментированных кардиомиоцитов. Средняя толщина кардиомиоцита при этом была больше, чем в контрольной группе – $12,5 \pm 1,5$ мкм против $11,9 \pm 2,9$ мкм ($p=0,131$). На сроке 4 месяца отмечалось нарастание степени гипертрофии кардиомиоцитов и дистрофических изменений в них. Чаще очаги миоцитолита регистрировались в кардиомиоцитах периваскулярной зоны. Отмечалось значительное увеличение толщины кардиомиоцитов у животных с ХПН длительностью 4 месяца ($14,1 \pm 3,11$ мкм), что значимо больше, чем у крыс с НЭ 2 месяца ($12,5 \pm 1,5$ мкм; $p=0,008$) и у животных соответствующей контрольной группы ($12,3 \pm 2,9$ мкм; $p=0,000$).

При длительности ХПН 2 месяца отмечалось снижение показателя площади ядер кардиомиоцитов ($31,4 \pm 7,8$ мкм²) в сравнении с соответствующей контрольной группой ($33,9 \pm 7,9$ мкм²; $p=0,257$). Однако при увеличении длительности ХПН до 4 месяцев

регистрировалось нарастание показателя площади ядер КМЦ до $34,1 \pm 8,1 \text{ мкм}^2$, что было больше в сравнении с группой с НЭ 2 месяца ($31,4 \pm 7,8 \text{ мкм}^2$; $p=0,231$) и в сравнении с группой ложнооперированных животных на сроке 4 месяца ($28,0 \pm 10,1 \text{ мкм}^2$; $p=0,017$). При подсчете количества ядер в каждом отдельном кардиомиоците в группе с НЭ 4 месяца регистрировались трехъядерные кардиомиоциты и кардиомиоциты с количеством ядер до шести (рисунок 2). Были отмечены кардиомиоциты с одним крупным расположенным центрально ядром. В единичных кардиомиоцитах выявлено окрашивание ядер в реакции с антителами к Ki-67. Таким образом, мы наблюдали два вида внутриклеточного деления (эндомитоз, амитоз) и митоз. Выявленные морфологические признаки усиления регенеративных процессов в кардиомиоцитах с преобладанием эндомитоза можно представить, как один из компенсаторно-приспособительных механизмов при прогрессировании ХПН. Таким образом, у животных в модели ХПН с увеличением длительности эксперимента определялось нарастание проявлений дистрофии, что сопровождалось гипертрофией кардиомиоцитов, а также появлением многоядерных кардиомиоцитов.

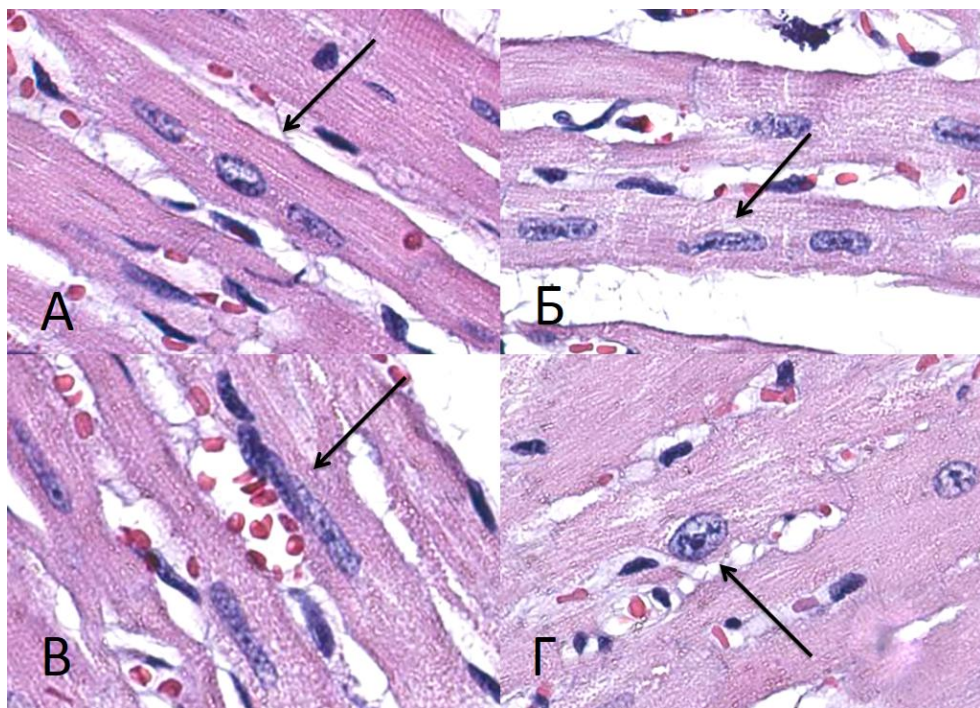


Рисунок 2. Миокард крысы через 4 месяца после нефрэктомии. А, Б – трехъядерный кардиомиоцит; В – экструзия ядер кардиомиоцита в межклеточное пространство (кардиомиоцит с 6-тью ядрами); Г – конденсация хроматина в ядре кардиомиоцита. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.400.

На сроке 2 месяца увеличение объема соединительной ткани в строме миокарда определялось преимущественно в периваскулярной области. При увеличении длительности ХПН периваскулярный склероз нарастал, отмечались очаги склероза среди кардиомиоцитов. В группе с НЭ на сроке 4 месяца склеротические изменения были более выражены –

площадь, занятая соединительной тканью составляет $4008,1 \pm 2185,7$ мкм², что значительно больше, чем у животных с длительностью ХПН 2 месяца ($2007,3 \pm 1176,5$ мкм²; $p=0,000$) и животных соответствующей контрольной группы ($2517,8 \pm 919,8$ мкм²; $p=0,020$).

Морфометрическая оценка сосудистого компонента показала нарастание удельного объема капилляров на сроке 2 месяца у крыс с НЭ на 10% по сравнению с животными соответствующей контрольной группы. При этом отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов в группах с НЭ резко возрастало (2 месяца – 0,109; 4 месяца – 0,129) по сравнению с ложнооперированными животными, где этот показатель в обеих группах составил 0,033. Отмечалось значимое увеличение индекса Керногана в группах с НЭ 2 и 4 месяца ($0,31 \pm 0,1$ мкм и $0,49 \pm 0,1$ мкм соответственно) по сравнению с ложнооперированными животными на соответствующих сроках ($0,17 \pm 0,06$ мкм; $p=0,000$ и $0,25 \pm 0,05$ мкм; $p=0,000$), что было обусловлено нарастающей гипертрофией стенок артерий (НЭ 2 месяца – $22,7 \pm 7,5$ мкм; НЭ 4 месяца – $26,4 \pm 17,6$ мкм).

Таким образом, комплексный морфологический анализ миокарда крыс в модели ХПН выявил достоверные изменения во всех структурных компонентах миокарда – кардиомиоцитах, строме и сосудах. Увеличение массы миокарда и гипертрофии стенки левого желудочка на гистологическом уровне проявлялось достоверным увеличением толщины кардиомиоцитов, появлением трехъядерных и многоядерных кардиомиоцитов, было отмечено нарастание дистрофических изменений. Это сопровождалось увеличением объема соединительной ткани с достижением максимального выраженного значения на сроке 4 месяца, а также снижением количества капилляров и увеличением толщины стенки сосудов артериального типа.

Морфологические изменения в миокарде крыс Wistar при применении малобелковой диеты. Вторая часть эксперимента была посвящена оценке влияния малобелковой диеты на структурные изменения миокарда, которые развиваются у животных в модели ХПН. Как и в предыдущей части эксперимента, развитие хронической почечной недостаточности было подтверждено повышением показателей мочевины и креатинина на сроке 2 месяца, однако уже на сроке 4 месяца значения этих показателей достоверно не отличались от группы контроля – $0,07 \pm 0,01$ ммоль/л и $10,2 \pm 2,06$ ммоль/л соответственно. Одновременно с этим на сроке 2 месяца определялось снижение уровня фосфора в крови до $2,12 \pm 0,1$ ммоль/л и нормализация уровня кальция ($2,3 \pm 0,1$ ммоль/л). Показатель массы сердца крыс с НЭ получавших МБД составил $843,4 \pm 165$ мг по сравнению с животными с НЭ, получавшими стандартный корм ($901,2 \pm 38,9$ мг; $p=0,487$). Уровень системного АД на фоне применения МБД значительно снизился и составил $120,3 \pm 12,8$ мм рт.ст. в сравнении с группой, получавших стандартный рацион ($158,7 \pm 11,2$; $p=0,000$). При этом толщина стенки ЛЖ у крыс, получавших МБД составила $1911,7 \pm 267,7$ мкм, тогда как у крыс с НЭ, не получавших МБД – $2323,8 \pm 382,2$ мкм ($p=0,000$), а в контрольной группе – $1716,5 \pm 325,7$ мкм ($p=0,073$). Таким образом, применение малобелковой диеты обеспечивало нормальный уровень мочевины и креатинина в крови к концу 4 месяца, что сопровождалось сохранением

нормального показателя АД и препятствовало увеличению массы сердца и гипертрофии миокарда левого желудочка.

На гистологическом уровне применение МБД в модели ХПН обеспечило снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов ($9,5 \pm 1,9$ мкм) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ($14,1 \pm 3,1$ мкм; $p=0,000$). На этом фоне также отсутствовали выраженные дистрофические изменения в кардиомиоцитах, которые наблюдались у крыс с ХПН, получавших стандартный корм. Не были выявлены миоцитоллиз и контрактуры в кардиомиоцитах, что, вероятно, связано с коррекцией уремии, азотемии, кальциевого и фосфорного обмена (рисунок 3).

Отмечалось снижение показателя площади ядер кардиомиоцитов ($26,6 \pm 4,7$ мкм²) и увеличение показателей отношения толщины ядер кардиомиоцитов к толщине кардиомиоцитов ($0,38 \pm 0,14$) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ($34,1 \pm 8,1$ мкм²; $p=0,072$ и $0,23 \pm 0,03$; $p=0,000$ соответственно). Снижение показателя отношения толщины ядер кардиомиоцитов (мкм) к толщине кардиомиоцитов (мкм) в этой ситуации обусловлено, в большей степени, снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов. У животных с НЭ, получавших МБД, количество многоядерных кардиомиоцитов было меньше (0,3%), чем у животных с НЭ, получавших стандартный корм (1%), при этом заметно возрастало число одноядерных кардиомиоцитов (97% против 92% соответственно). Немаловажно, что у животных с НЭ и ложнооперированных животных, получавших МБД, увеличивается площадь кардиомиоцитов ($19564,8 \pm 6924,7$ мкм² и $19942,3 \pm 5238,9$ мкм²) в сравнении с животными, находившимися на стандартной диете ($14886,6 \pm 5059,1$ мкм²; $p=0,038$ и $13857,6 \pm 670,4$ мкм²; $p=0,000$ соответственно).

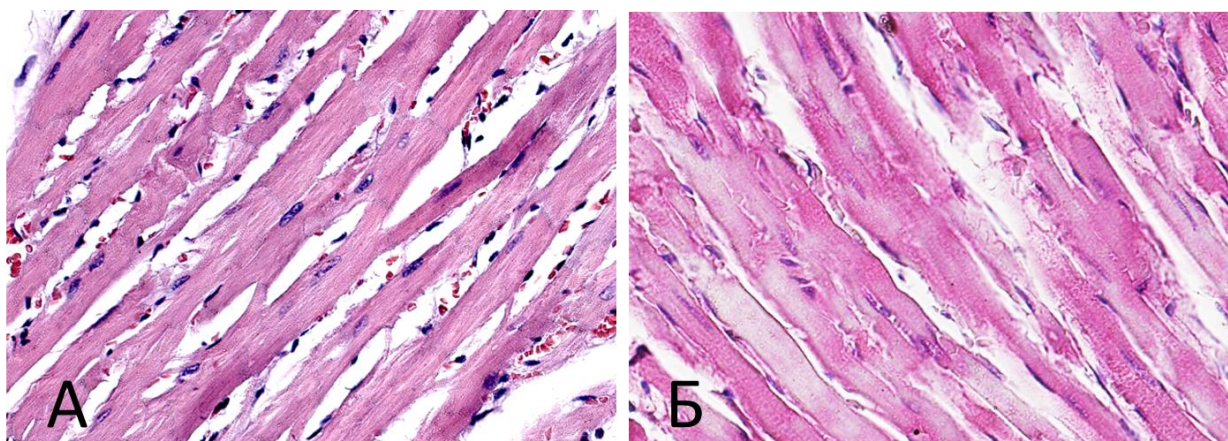


Рисунок 3. Миокард крысы с длительностью ХПН 4 месяца: А – при применении малобелковой диеты, Б – получавшей стандартный рацион; снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов, отсутствие миоцитоллиза в цитоплазме кардиомиоцитов у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету (А). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

Структурные изменения стромального компонента миокарда при применении МБД характеризовались менее выраженным склерозом – средний показатель площади волокнистой соединительной ткани у крыс с НЭ, получавших МБД, составил $2837,6 \pm 1263,1$,

в сравнении с животными, получавшими обычный корм – $4008,1 \pm 2185,7$; $p=0,061$. Было отмечено снижение показателя отношения площади капилляров (%) / площади кардиомиоцитов (%) ($0,060$) у крыс из группы НЭ, получавших МБД, более чем в 2 раза в сравнении с соответствующим показателем в группе животных с НЭ, получавших стандартный рацион ($0,140$). Этот факт обусловлен, главным образом, снижением площади, занятой соединительной тканью, до 12% ($2837,60 \pm 1263,19$ мкм²) и уменьшением общей площади поперечного сечения капилляров до 5% ($1061,1 \pm 78,3$ мкм²) (при значительном увеличении количества открытых капилляров) у крыс, получавших МБД.

При применении МБД площадь открытых капилляров меньше ($1061,1 \pm 78,3$ мкм²) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм, ($2139,1 \pm 396,5$ мкм²; $p=0,000$) и соответствующей контрольной группой ($2512,6 \pm 196,9$ мкм²). При этом количество открытых капилляров увеличивается (НЭ+МБД – $n=492$, НЭ без МБД – $n=339$) и становится равным соответствующему показателю группы ЛО животных, получавших МБД ($n=491$). В группе крыс с НЭ+МБД внутренний диаметр сосудов составляет в среднем $89,6 \pm 14$ мкм, тогда как у животных с НЭ, получавших стандартный корм, $61,7 \pm 27,9$ ($p=0,003$). Однако толщина стенки сосудов в этих группах (НЭ+МБД и НЭ, стандартный рацион – $29,9 \pm 7$ мкм и $26,4 \pm 17,6$ мкм; $p=0,211$ соответственно) нарастает по сравнению с соответствующими контрольными группами (ЛО+МБД и ЛО, стандартный рацион – и практически не различается между собой – $17,1 \pm 4,7$ мкм и $17,6 \pm 5,1$; $p=0,350$ соответственно). Отмечается снижение степени периваскулярного фиброза у животных, получавших МБД. Вместе с тем происходит снижение индекса Керногана у животных с НЭ, получавших МБД ($0,38 \pm 0,1$), в сравнении с группой с НЭ ($0,49 \pm 0,1$; $p=0,024$), что свидетельствует об улучшении коронарного кровотока.

Таким образом, применение МБД у крыс с НЭ обеспечило нормализацию биохимических показателей (снижение показателей креатинина и мочевины в сыворотке крови, нормализация уровней кальция и фосфора), что сопровождалось сохранением нормальных показателей АД, массы миокарда и толщины стенки левого желудочка. Гистологически это проявлялось отсутствием выраженных дистрофических изменений, наблюдаемых у животных, получавших обычный корм, снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов, уменьшением площади ядер, снижением ядерно-цитоплазматического отношения. Показатель площади склероза был ниже (диффузного и периваскулярного), что может быть обусловлено уменьшением степени уремии (снижение токсического действия) и гипоксии. Также, при применении МБД у животных с ХПН отмечено снижение общей площади поперечного сечения капилляров при увеличении их количества в сравнении с животными с НЭ, получавшими стандартный корм, что быть обусловлено снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов.

Сравнительная характеристика морфологических изменений миокарда у крыс Wistar и крыс линии SHR на сроке 2 месяца. Целью этого раздела экспериментального исследования была оценка селективного вклада артериальной гипертензии в морфологические изменения миокарда при ХПН, для чего были использованы животные с

изначально генетически детерминированным высоким артериальным давлением (Spontaneously Hypertensive Rat – SHR).

Уровень АД у крыс линии SHR с экспериментальной ХПН был достоверно выше ($190,1 \pm 3,5$ мм рт. ст.), чем у крыс Wistar ($151,5 \pm 8,8$ мм рт. ст.; $p=0,000$), также, как в группах ложнооперированных животных (ЛО SHR – $159,1 \pm 14,1$ мм рт. ст., ЛО Wistar – $121,1 \pm 1,8$ мм рт. ст.; $p=0,000$). Высокие исходные цифры АД у крыс линии SHR сопровождались более выраженными изменениями биохимических показателей функции почек: развилась уремия тяжелой степени (уровень мочевины в сыворотке крови составил $20,7 \pm 11,7$ ммоль/л) и выраженная азотемия (креатинин сыворотки крови – $0,145 \pm 0,181$ ммоль/л). В одинаковой степени у крыс с НЭ (Wistar и линии SHR) развилась гиперфосфатемия ($2,59 \pm 0,09$ ммоль/л и $2,58 \pm 0,06$ ммоль/л соответственно) в сравнении с соответствующими группами контроля ($1,72 \pm 0,10$ ммоль/л и $1,87 \pm 0,31$ ммоль/л). На этом фоне у крыс линии SHR с ХПН масса сердца была значительно больше ($1174,5 \pm 116,5$ мг), чем у крыс Wistar ($850,6 \pm 52,5$ мг; $p=0,000$). При этом толщина стенки левого желудочка в обеих группах была практически одинаковой (НЭ Wistar – $2267,7 \pm 194,4$ мкм, НЭ SHR – $2209,9 \pm 258,4$ мкм; $p=0,398$).

На микроскопическом уровне у крыс линии SHR в модели ХПН определялось значительно более выраженная гипертрофии кардиомиоцитов (толщина кардиомиоцита в группе крыс линии SHR с НЭ составила $16,9 \pm 2,3$ мкм, толщина кардиомиоцита в группе крыс Wistar – $12,5 \pm 1,5$ мкм; $p=0,000$). Дистрофические изменения в кардиомиоцитах у крыс линии SHR также были более выражены - разволокнение кардиомиоцитов, участки с зернистостью цитоплазмы и неравномерной ее окраской. У крыс спонтанно-гипертензивной линии площадь ядер в контрольной группе и группе с НЭ ($36,1 \pm 7,2$ мкм² и $35,9 \pm 12,4$ мкм²) была больше, чем в соответствующих группах животных Wistar ($33,9 \pm 7,9$ мкм²; $p=0,000$ и $31,4 \pm 7,8$ мкм²; $p=0,000$). Вместе с этим у крыс линии SHR с ХПН наблюдалось увеличение отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита ($0,30 \pm 0,07$) (в сравнении с ложнооперированными животными линии SHR ($0,24 \pm 0,06$; $p=0,000$) и крыс с НЭ Wistar ($0,27 \pm 0,04$; $p=0,637$). Это было обусловлено прежде всего увеличением показателя средней толщины ядра в кардиомиоцитах у крыс линии SHR с НЭ ($4,6 \pm 0,9$ мкм) в сравнении с ЛО животными этой же линии ($3,4 \pm 0,7$ мкм; $p=0,000$).

Площадь диффузного склероза у крыс линии SHR с ХПН ($1228 \pm 711,6$ мкм²) в сравнении с группой крыс Wistar с НЭ ($2007,3 \pm 1175,5$ мкм²; $p=0,121$) была меньше. Схожие изменения выявляются и у ложнооперированных крыс (SHR – $1160,4 \pm 670,5$ мкм²; Wistar – $2019,6 \pm 550,6$ мкм²; $p=0,035$) (рисунок 4). Этот факт отчасти можно объяснить преобладанием процессов гипертрофии кардиомиоцитов над изменениями в межклеточном матриксе у крыс с генетически детерминированной артериальной гипертензией.

Общая площадь поперечного сечения открытых капилляров у крыс линии SHR с ХПН была равна $826,9 \pm 78,9$ мкм², что в половину меньше, чем у крыс Wistar ($1902,8 \pm 202,9$ мкм²; $p=0,000$). При этом количество капилляров в миокарде у крыс линии SHR с НЭ больше ($n=351$), чем у соответствующей группы крыс Wistar ($n=247$). Показатель объемного отношения капилляров к площади кардиомиоцитов практически вдвое меньше у крыс с НЭ линии SHR

(0,046), чем у крыс Wistar (0,104). Такие изменения капиллярного русла в гипертрофированном миокарде крыс линии SHR с НЭ могут свидетельствовать о недостаточном объеме транскапиллярного обмена.

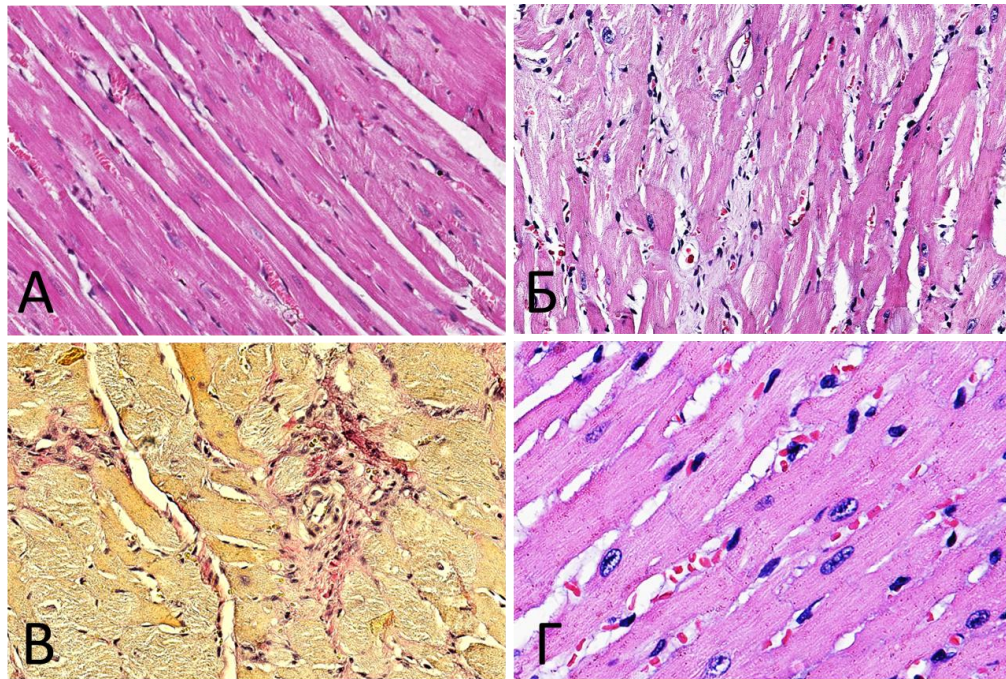


Рисунок 4. Миокард крысы линии SHR с ХПН длительностью 2 месяца. А – гипертрофия и дистрофия волокон кардиомиоцитов. Б, В – диффузный и перикапиллярный склероз. Г – миокард ложнооперированной крысы линии SHR. Окраска: А, Б, Г – гематоксилином и эозином, В – пикрофуксином по ван Гизону. А, Б, В – Ув. 200; Г – Ув. 400.

В эксперименте у крыс Wistar утолщение стенки сосудов ($22,7 \pm 7,5$ мкм) происходит за счет среднего слоя, что обусловлено гипертрофией гладких мышц. У крыс линии SHR среднее значение толщины стенки сосудов равно $15,1 \pm 7,17$ мкм ($p=0,000$), а диаметра просвета сосудов – $40,3 \pm 28,1$ мкм, что больше, чем у крыс Wistar – $31,6 \pm 15,6$ мкм ($p=0,049$). Однако среднее значение индекса Керногана у крыс линии SHR выше ($0,40 \pm 0,1$) в сравнении с крысами Wistar ($0,31 \pm 0,15$; $p=0,031$). При этом сумма показателей толщины стенки сосудов и внутреннего диаметра сосудов в группах принимала близкие значения. Различия заключались в том, что площадь периваскулярного склероза у крыс с НЭ линии SHR была в 4 раза больше ($10838,3 \pm 0,1$ мкм²), чем у крыс Wistar ($2455,3 \pm 1190,7$ мкм²; $p=0,004$). У ложнооперированных животных линии SHR площадь периваскулярного склероза была вдвое больше ($9155,4 \pm 4070,69$ мкм²), чем у ЛО животных Wistar ($4455,2 \pm 2807,6$ мкм², $p=0,020$). Такой показатель индекса Керногана в совокупности с выраженной гипертрофией миокарда и выраженным периваскулярным фиброзом могут свидетельствовать о ведущей роли уремии в генезе ремоделирования миокарда.

Таким образом, наличие исходной АГ в модели ХПН определяет более высокую степень компенсаторной гипертрофии и выраженные дистрофические изменения. Морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR в наибольшей степени

обусловлены изначально высоким уровнем АД и развиваются еще до экспериментальной ХПН. При НЭ 5/6 морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR еще более выражены, что может быть обусловлено возрастанием активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (ангиотензин II, альдостерон) и развитием ХПН более тяжелой степени, чем у крыс стока Wistar.

Морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR при применении МБД в модели ХПН на сроке 2 месяца. Четвертая часть эксперимента выполнена на крысах линии SHR в модели ХПН длительностью 2 месяца с целью оценки влияния МБД на структурные изменения миокарда при исходно высоком АД. Две группы (с НЭ и ложнооперированные животные) получали МБД, две контрольные группы (НЭ и ложнооперированные животные) получали стандартный корм.

На сроке 2 месяца после операции у крыс линии SHR, получавших МБД, было отмечено снижение показателей креатинина и мочевины до $0,07 \pm 0,009$ мкмоль/л и $10,7 \pm 2,5$ ммоль/л соответственно в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ($0,14 \pm 0,181$ мкмоль/л; $p=0,508$ и $20,7 \pm 11,7$ мкмоль/л; $p=0,186$). Также определялось снижение уровня фосфора в сыворотке крови до $2,2 \pm 0,1$ ммоль/л, при этом было зарегистрировано повышение концентрации кальция в сыворотке крови до $2,5 \pm 0,09$ ммоль/л в сравнении с крысами, не получавшими МБД ($2,44 \pm 0,08$ ммоль/л; $p=0,181$ и $2,58 \pm 0,06$ ммоль/л; $p=0,000$ соответственно). Отдельно следует отметить снижение степени уремии у ЛО животных в сравнении с получавшими стандартный рацион, что может служить предпосылками к применению МБД у пациентов с АГ и, тем самым, пролонгировать начальную стадию почечной недостаточности.

На этом фоне при применении МБД показатели массы сердца были значительно ниже ($861,3 \pm 36,8$ мг) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ($1174,5 \pm 116,59$ мг; $p=0,001$) и в сравнении с показателями в соответствующей контрольной группе ($1038,6 \pm 120,9$ мг; $p=0,072$). Это коррелировало со снижением степени гипертрофии стенки левого желудочка, которая составила $1857,4 \pm 273,4$ мкм, тогда как у крыс с НЭ, не получавших МБД, этот показатель составил $2209,9 \pm 258,4$ мкм ($p=0,000$), и практически его значение было равно показателю в контрольной группе $1878,1 \pm 277,3$ мкм ($p=0,000$).

При применении МБД у крыс SHR с НЭ дистрофические изменения в кардиомиоцитах были менее выражены, чем у крыс, получавших стандартный корм. Очаги миоцитолита и контрактуры отсутствовали. Показатель степени гипертрофии кардиомиоцитов был меньше ($13,9 \pm 2,9$ мкм) в сравнении с животными с НЭ, получавшими стандартный корм ($16,9 \pm 2,3$ мкм; $p=0,000$). Среднее значение площади ядра кардиомиоцита на фоне применения МБД была несколько ниже ($33,8 \pm 89,9$ мкм²) в сравнении с животными с НЭ, получавшими стандартный рацион ($35,9 \pm 12,4$ мкм²; $p=0,018$) (рисунок 5). Показатель ядерно-цитоплазматического отношения был ниже ($0,24 \pm 0,05$) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ($0,30 \pm 0,007$; $p=0,000$). Такое снижение показателя ядерно-цитоплазматического отношения в данных группах обусловлено в большей степени снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов. При подсчете количества ядер в каждом

отдельном кардиомиоците в группах животных с НЭ преобладают одноядерные кардиомиоциты (96% в группе + МБД и 95% в группе животных, получавших стандартный рацион), что свидетельствует об усилении компенсаторных механизмов и преобладании эндомитоза над другими видами внутриклеточной регенерации.

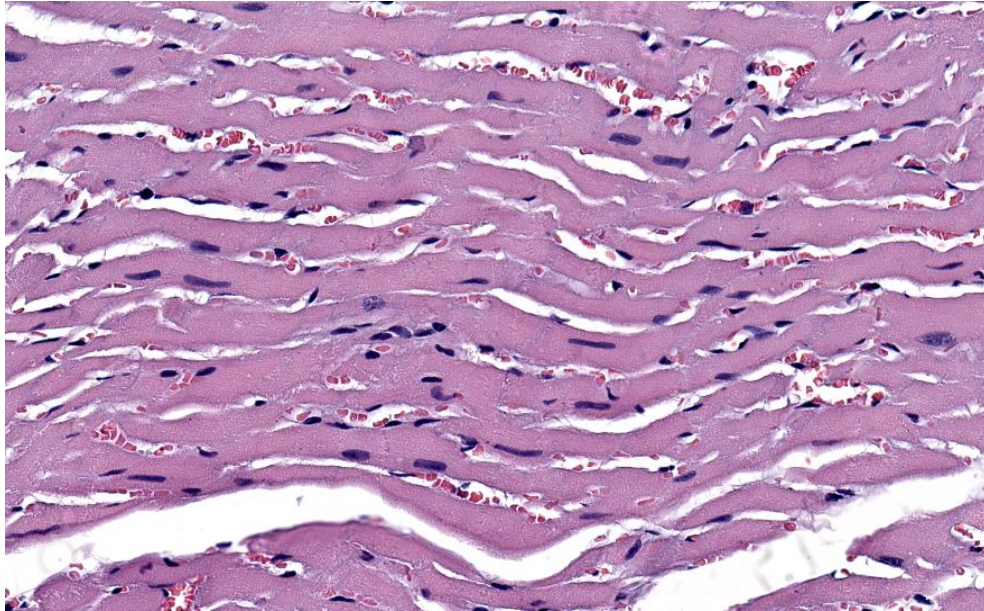


Рисунок 5. Миокард крысы линии SHR с нефрэктомией, получавшей малобелковую диету. Умеренная гипертрофия кардиомиоцитов. Миоцитоллиз отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

При исследовании микропрепаратов миокарда крыс SHR с НЭ определялось большое количество «открытых» капилляров с широким полнокровным просветом ($1302,5 \pm 69,1 \text{ мкм}^2$) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ($826,9 \pm 78,9 \text{ мкм}^2$; $p=0,004$) и соответствующей контрольной группой ($672,4 \pm 105,2 \text{ мкм}^2$). Также увеличение их количества и средней площади поперечного сечения было зарегистрировано при морфометрическом анализе (НЭ+МБД – $n=572$; НЭ без МБД – $n=351$; в группе ЛО животных, получавших МБД ($n=339$). Такие изменения могут быть связаны с уменьшением степени гипертрофии кардиомиоцитов и снижением их прессорного влияния на стенки капилляров в совокупности с снижением степени уремии и, как следствие, токсического повреждения эндотелия.

В строме миокарда выявлено уменьшение площади склероза у крыс линии SHR при применении МБД, что особенно заметно в группе животных с НЭ (показатель площади диффузного склероза у них был наименьший из всех групп исследования в данном эксперименте ($607,6 \pm 306,7$ в сравнении с животными с НЭ (без МБД) ($1228 \pm 711,6$; $p=0,005$).

Положительный эффект МБД, возможно, связан с уменьшением степени гипоксии в миокарде (гемической, циркуляторной и тканевой), что может быть обусловлено главным образом снижением степени уремии и гипертрофии кардиомиоцитов и, как следствие, улучшением микроциркуляции.

Также нами было установлено, что несмотря на применение МБД у крыс линии SHR морфометрические характеристики (толщина стенки артериальных сосудов и их внутренний диаметр) существенно не отличаются от таковых у животных, перенесших НЭ. Микроскопически регистрируются спазм и гипертрофия гладких мышц. Среди ЛО животных выявлена существенная разница в показателе внутреннего диаметра просвета сосудов у животных, получавших МБД ($70,5 \pm 43,2$ мкм), и тех, кто получал стандартный корм ($36,3 \pm 28,4$ мкм; $p=0,000$).

Таким образом, на микроскопическом уровне нам снова удалось наблюдать превалирующее влияние генетической АГ у крыс SHR с НЭ при применении МБД. Применение МБД у животных с моделью ХПН и исходно высоким АД обеспечивает коррекцию биохимических показателей нарушения функции почек. При применении МБД у крыс спонтанно гипертензивной линии значительно снижается показатель массы сердца и толщины стенки левого желудочка в сравнении с данными показателями у животных, получавших стандартный рацион. Также отмечено, что значения этих показателей сопоставимы с показателями контрольной группы. Гистологически это проявляется снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов, а также среднего показателя площади их ядер как в группах с нефрэктомией, так и у ложнооперированных животных.

ВЫВОДЫ

1. При увеличении сроков длительности ХПН на фоне исходно нормального АД в миокарде крыс выявляется комплекс сопряженных изменений кардиомиоцитов и стромы: развиваются гипертрофия кардиомиоцитов, очаговый миоцитолиз, периваскулярный и диффузный склероз, изменения в микроциркуляторном русле. Количество функционирующих капилляров снижается, а их общая площадь и отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов увеличиваются. Стенки внутримиекардиальных артерий утолщаются за счет мышечного слоя, что сопровождается уменьшением диаметра их просвета.

2. В миокарде крыс с генетической предрасположенностью к артериальной гипертензии наблюдаются гипертрофия кардиомиоцитов и склероз, преимущественно периваскулярный. Количество и площадь функционирующих капилляров не изменены, однако выявляются изменения стенок сосудов, аналогичные наблюдаемым при увеличении сроков длительности ХПН.

3. При моделировании ХПН на фоне исходно высокого АД тяжесть ХПН выше, чем у нормотензивных крыс. Более выражена степень гипертрофии кардиомиоцитов, периваскулярного и диффузного склероза, индекс Керногана значительно увеличен. Определяются тяжелые дистрофические изменения кардиомиоцитов (миоцитолиз), которые отражают эндогенную интоксикацию. Ремоделирование миокарда при ХПН и высоком АД имеют общие механизмы, что в значительной степени связано с вторичной гипертензией.

4. При ХПН в кардиомиоцитах наблюдаются изменения ядер, что, по-видимому, отражает особенности процессов регенерации. Увеличивается количество кардиомиоцитов, содержащих одиночные крупные ядра, и многоядерных кардиомиоцитов (рассматривается как результат эндомитоза и амитоза, соответственно). Степень их выраженности зависит от стадии ХПН.

5. Малобелковая диета при ХПН оказывает кардиопротективный эффект, что характеризуется снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов, меньшей площадью открытых капилляров при увеличении их количества, бóльшим диаметром просветов артерий миокарда и меньшей площадью периваскулярного и диффузного склероза. Положительное действие МБД на миокард связано со снижением цифр АД и улучшением показателей функции почек.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. При анализе микроскопических препаратов миокарда экспериментальных животных с ХПН необходимо оценивать комплекс морфологических изменений кардиомиоцитов и стромы. Такой подход позволяет установить степень воздействия на ткань повреждающих факторов, таких как артериальная гипертензия и эндогенная интоксикация.
2. Гистологическое исследование препаратов миокарда в модели ХПН должно включать определение степени дистрофических изменений в кардиомиоцитах, так как этот показатель ассоциирован со степенью тяжести уремии.
3. Применение малобелковой диеты у крыс при артериальной гипертензии без признаков нарушения функции почек оказывает кардиопротективный эффект (снижение темпов развития гипертрофии миокарда и склероза). Эти данные должны быть учтены при разработке новых диетарных подходов в терапевтической практике.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Швед, Н.В. Патогистологические изменения миокарда в модели хронической почечной недостаточности при применении малобелковой диеты / Н.В. Швед, В.В. Байков // Гены & Клетки. – 2019. – Том XIV, № 4. – С. 61 – 65.
2. Береснева, О.Н. Изменения сердечно-сосудистой системы у крыс, сопряженные с высоким потреблением хлорида натрия / О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Г.Т. Иванова, А.Г. Кучер, Н.В. Швед, М.В. Зарайский, И.Г. Каюков, А.В. Смирнов // Артериальная гипертензия. – 2014. – № 5. – С. 384 – 390.
3. Каюков, И.Г. Влияние возраста и сокращения массы действующих нефронов на состояние миокарда и коронарного русла у молодых крыс / И.Г. Каюков, О.Н. Береснева, Парастаева М.М., Н.В. Швед, Г.Т. Иванова, А.Г. Кучер // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. – 2015. – Т. 14, № 4. – С. 66 – 72.

4. Береснева, О.Н. Комбинированное влияние возраста и сокращения массы действующих нефронов на ремоделирование миокарда у крыс / О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Н.В. Швед, Г.Т. Иванова, А.Г. Кучер, И.Г. Каюков, А.В. Смирнов // *Нефрология*. – 2015. – Т. 19, № 4. – С. 100 – 107.
5. Парастаева, М.М. Артериальная гипертензия и потребление соли: вклад в ремоделирование сердца / М.М. Парастаева, О.Н. Береснева, Г.Т. Иванова, Н.В. Швед, А.Г. Кучер, И.М. Зубина, И.Г. Каюков // *Нефрология*. – 2016. – Т. 20, № 5. – С. 97 – 102.
6. Кучер, А.Г. Высокое потребление соли, сердечно-сосудистая система и почки у спонтанно гипертензивных крыс / А.Г. Кучер, О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Г.Т. Иванова, М.И. Зарайский, Н.В. Швед, И.Г. Каюков // *Регионарное кровообращение и микроциркуляция*. – 2017. – Т. 16, № 63. – С. 62 – 69.
7. Береснева, О. Н. Сердечно-сосудистая система у крыс с экспериментальной почечной недостаточностью, длительно получающих малобелковый рацион, дополненный незаменимыми аминокислотами и их кетоаналогами / О. Н. Береснева, М. М. Парастаева, А. Г. Кучер, Г. Т. Иванова, **Н.В. Швед**, М. Г. Рыбакова, И. Г. Каюков, А. В. Смирнов // *Нефрология и диализ*. - 2013. – Т. 15, № 4. – С. 305–306. – VIII Всероссийская научно-практическая конференция РДО. - ISSN 0201-7563
8. Береснева, О.Н. Кардиопротективное действие малобелковой диеты, включающей комплекс незаменимых аминокислот и их кетоаналогов у спонтанно-гипертензивных крыс с нефрэктомией / О.Н. Береснева, Г.Т. Иванова, М.М. Парастаева, **Н.В. Швед**, А.Г. Кучер, И.Г. Каюков // *Сборник тезисов VIII научного общества нефрологов России 11-13 ноября 2015г.* Москва. С.8.
9. Иванова, Г.Т. Особенности ремоделирования миокарда крыс линии Вистар после удаления 5/6 массы почечной ткани / Г.Т. Иванова, М.М. Парастаева, О.Н. Береснева, **Н.В. Швед**, А.Г. Кучер, И.Г. Каюков // *Сборник тезисов VIII научного общества нефрологов России 11-13 ноября 2015г.* Москва. С.41
10. **Швед, Н.В.** Изменения кардиомиоцитов при почечной недостаточности // *Сборник тезисов «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины»* – 2011 LXXII научно-практическая конференция апрель 2011 г. – С.263
11. Beresneva, O. N. Cardiovascular system in rats with experimental renal failure, long kept on low-protein diet (lpd) supplemented with essential amino acids and ketoanalogues / O.N. Beresneva, M.M. Parastayeva, A. G. Kucher, G.T. Ivanova, **N.V. Shved**, M.G. Rybakova, I.G. Kayukov, A.V. Smirnov // *Nephrology Dialysis Transplantation*. – 2013. – Vol. 28 (Supp. 1). – P. 103 – 104.

12. Beresneva, O. Myocardial remodeling a long term after nephron mass reduction in rats / O. Beresneva, **N. Shved**, M. Parastayeva, G. Ivanova, A. Kucher, I. Kayukov, A. Smirnov // Nephrology Dialysis Transplantation. – 2015. – Vol. 30 (Supp. 3). – P. 156 – 173.
13. Beresneva O. Cardiovascular system in wistar rats receiving ration with high sodium chloride content associated signaling pathways activation. however, their role in this type of myocardial remodeling requires further investigation / O. Beresneva, M. Parastayeva, A. Kucher, G. Ivanova, **N. Shved**, M. Zaraysky, I. Kayukov // Nephrol Dial Transplant. – 2016. – Vol. 31 (Supp. 1). – P. 431.
14. Beresneva, O. Cardio- and renoprotective effects of low protein diet supplemented with ketoanalogues of essential aminoacids in spontaneously hypertensive rats with nephrectomy / O. Beresneva, M. Parastayeva, G. Ivanova, A. Kucher, **N. Shved**, I. Kayukov, A. Smirnov // Nephrol Dial Transplant. – 2016. – Vol. 31 (Supp. 1). – P. 105 – 106.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АГ – артериальная гипертензия
АД – артериальное давление
ЛЖ – левый желудочек
ЛО – ложнооперированные животные
МБД – малобелковая диета
НЭ – нефрэктомия
ХНП – хроническая недостаточность почек
SHR – Spontaneously Hypertensive Rat