

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ  
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ  
«ПЕРВЫЙ САНКТ-ПЕТЕРБУРГСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ имени академика И.П. ПАВЛОВА»  
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ  
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

На правах рукописи

ШВЕД НИНА ВИКТОРОВНА

ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА  
ПРИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

14.03.02 – патологическая анатомия

Диссертация  
на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
доктор медицинских наук,  
Байков Вадим Валентинович

Санкт-Петербург – 2019

## ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ .....	4
ВВЕДЕНИЕ .....	5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ПАТОГЕНЕЗ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА ПРИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ .....	15
1.1. Патогенез поражения миокарда при хронических заболеваниях почек.....	15
1.1.1. Артериальная гипертензия как фактор развития гипертрофии миокарда левого желудочка .....	15
1.1.2. Гемодинамические нарушения и перегрузка сосудистого русла .....	21
1.1.3. Дополнительные патогенетические факторы ремоделирования миокарда при ХПН .....	24
1.2. Морфологические изменения миокарда при ХПН .....	28
1.2.1. Гипертрофия и дилатация левого желудочка .....	28
1.2.2. Склеротические изменения стромы миокарда.....	30
1.3. Методы коррекции морфологических изменений миокарда при ХБП.....	33
1.3.1. Хирургические методы коррекции морфологических изменений .....	33
1.4. Применение малобелковой диеты.....	36
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	40
2.1. Структура и объем экспериментального исследования.....	40
2.2. Методика моделирования хронической недостаточности почек.....	42
2.3. Методика измерения артериального давления у экспериментальных животных.....	45
2.4. Методика гистологического исследования миокарда.....	45
2.5. Методика иммуногистохимического исследования миокарда.....	46
2.6. Методики морфометрического и статистического анализа результатов исследования.....	48

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МИОКАРДЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ .....	52
3.1. Морфологические изменения в миокарде крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца .....	52
3.2. Морфологические изменения в миокарде крыс стока Wistar при применении МБД (длительность ХПН 4 месяца) .....	72
3.3. Сравнительная характеристика морфологических изменений в миокарде у крыс стока Wistar и линии SHR (длительность ХПН 2 месяца) .....	85
3.4. Морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR при применении МБД (длительность ХПН 2 месяца) .....	97
ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	111
ВЫВОДЫ.....	130
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ .....	132
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ .....	133

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ И ТЕРМИНОВ

АВ-фистула – артериовенозная фистула

АГ – артериальная гипертензия

АГП – ангиотензин II

АД – системное артериальное давление

АДГ – антидиуретический гормон

БХ – биохимический анализ

ГБ – гипертоническая болезнь

ГЛЖ – гипертрофия стенки левого желудочка

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ЛЖ – левый желудочек

МБД – малобелковая диета

НЭ – нефрэктомия

ОПСС – общее периферическое сопротивление сосудов

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

РАС – ренин-ангиотензиновая система

СВ – сердечный выброс

СД – сахарный диабет

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

СН – сердечная недостаточность

ССЗ – сердечно-сосудистые заболевания

ССС – сердечно-сосудистая система

ТХПН – терминальная стадия хронической почечной недостаточности

ХБП – хроническая болезнь почек

ХЗП – хронические заболевания почек

ХНП – хроническая недостаточность почек

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

## ВВЕДЕНИЕ

### Актуальность темы исследования

Несмотря на тенденции снижения смертности пациентов от сердечно-сосудистых заболеваний (ССЗ) за последние десятилетия, ССЗ продолжают занимать лидирующее место в заболеваемости, смерти и инвалидизации независимо от уровня экономики и медицинской помощи в разных странах. По справкам специализированных регистров и ежегодных нефрологических конференций, распространенность патологии почек составляет 10-13%. Стоит отметить, что увеличение количества пациентов с патологией почек также обуславливается уже имеющимися у них в анамнезе артериальной гипертензией (АГ) и сахарным диабетом (СД), сформированными и закрепленными структурно-функциональными изменениями в миокарде (Шутов А.М., Ермоленко В., 2002; Непомнящих Л.М., 2006; Рыбакова М.Г., Кузнецова И.А., 2012). Осложнения со стороны сердечно-сосудистой системы (ССС) в 10-20 раз чаще являются причиной смерти у пациентов с хроническими заболеваниями почек (ХЗП). (Шулутко Б.И., 2002; Middleton R.J. et al., 2005; Segura J. et al., 2006). Давно известны совместные факторы риска для возникновения заболеваний почек и сердца, такие как СД, лишний вес, нарушения липидного баланса. Однако это особенно касается поражения почек при АГ и гипертонической болезни (ГБ) (Захарьевская М.А., 1952). В дальнейшем к ним присоединяются задержка воды в тканях, воспалительная реакция (уремическое повреждение эндотелия), нарушения обмена кальция и фосфора, анемия. Каждый из этих факторов влияет на риск развития или включается в патогенетический круг уже развившегося ССЗ. Риск и смертность от ССЗ увеличиваются уже на ранних этапах развития почечной патологии. Показано, что при снижении скорости клубочковой фильтрации (СКФ) менее 60 мл/мин/1,73м<sup>2</sup>) возрастает частота госпитализаций и риск летального исхода (Go A.S. et al., 2004).

Отмечено возрастание риска развития ССЗ и их смертельных осложнений, таких как инфаркт миокарда (ИМ) у пациентов, начавших получать заместительную почечную терапию. 33% пациентов к моменту начала гемодиализной терапии уже имеют клинический диагноз хронической сердечной недостаточности (ХСН) (Foley R.N. et al., 2005). Гипертрофия миокарда левого желудочка (ГЛЖ) регистрируется у 75% пациентов с терминальной стадией хронической почечной недостаточности (ТХПН) (London G.M. et al., 1994). Общеизвестно, что у пациентов с терминальной ХПН причиной смерти являются осложнения ССЗ. Среди пациентов с диагностированным коронарным синдромом 40% имеют патологию почек. Частота встречаемости ИМ и инсульта в группах нефрологических пациентов с ХСН и измененной величиной фракции выброса ЛЖ остается высокой (McCullough P.A. et al., 2008).

Все вышеперечисленные данные объясняют необходимость всесторонней терапевтической поддержки для осуществления кардиопротекции и снижения риска развития ССЗ у пациентов с патологией почек.

Оказание медицинской помощи пациентам с диагностированной ХПН требует высокого уровня финансирования. Это связано с назначением заместительной почечной терапии и операции – трансплантации почек у пациентов с ТХПН (Смирнов А.В. и соавт., 2006). Однако было отмечено недостаточное и неэффективное использование нефропротективной терапии, основная цель которой – снизить темпы прогрессирования ХПН. При этом стоимость такого лечения в десятки раз ниже, чем гемодиализ.

При выборе тактики лечения и оценки рисков развития ССЗ у пациентов с патологией почек необходимо определить структурные изменения в миокарде, обуславливающие нарушение функции сердца. Тщательное и комплексное изучение и сопоставление структурных изменений в миокарде человека и экспериментальных животных при ХПН с применением кардионефропротективной терапии является одной из первостепенных задач современной науки и клинической медицины.

## 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 развития ССЗ 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. При этом 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 в экспериментальных животных при ХПН с применением кардионепротекивающей 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

Впервые на модели почечной недостаточности, артериальной гипертензии и их сочетания по результатам комплексного анализа данных морфометрии кардиомиоцитов и элементов стромы (капилляров, интрамиокардиальных сосудов, соединительной ткани) получены данные о структурных изменениях миокарда на различных сроках длительности почечной недостаточности. Введение в эксперимент животных с генетически детерминированной артериальной гипертензией впервые позволило выделить и проанализировать роль гипертензии в развитии перестройки миокарда при почечной недостаточности.

Впервые при экспериментальной ХПН различных сроков длительности при морфометрическом анализе продемонстрированы изменения в микроциркуляторном русле. Количество функционирующих капилляров имело тенденцию к снижению. При этом отношение площади функционирующих капилляров к общей площади кардиомиоцитов увеличивалось, что было обусловлено нарастанием площади диффузного и периваскулярного склероза.

Впервые в эксперименте получены данные о морфологических изменениях в миокарде при генетически детерминированной артериальной гипертензии. 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 на экспериментальном 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 эндомиоз 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.

При подготовке к исследованию вначале был проведен анализ данных протоколов умерших с ХПН (диагнозов, клинических данных, данных макроскопического и микроскопического исследований) в результате которого выявлено несоответствие аутопсийного материала (миокард) предъявленным ему критериям включения и исключения. Было принято решение выполнить экспериментальное исследование модели, наиболее оптимальной 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.

## Заключение этического комитета

Экспериментальное исследование осуществлялось при строгом соблюдении международных регламентов биоэтики. Руководствуясь основными документами,

регламентирующими этические аспекты проведения научных исследований с участием лабораторных животных, протокол по проведению исследования был одобрен комиссией Этического комитета ПСПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. Выписка из протокола заседания Этического комитета от 27.09.2013г. (протокол №7 – проект экспериментального исследования «Нефропротективное и кардиопротективное воздействие рационов с различным содержанием белка при экспериментальной почечной недостаточности»).

#### Основные 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:

1. LXXII научно-практическая конференция «Актуальные вопросы экспериментальной и клинической медицины 2011» (20 апреля 2011, Санкт-Петербург).

2. VII семинар последипломного образования «Актуальные вопросы нефрологии и диализа: время диетотерапии» (19-20 сентября 2014, Санкт-Петербург).

3. Всероссийская конференция «Профилактическая кардиология 2016» (16 июня 2016, Москва).

4. Конференция «Актуальные вопросы фундаментальной, экспериментальной и клинической морфологии» (5-6 октября 2017, Рязань).

5. Апробация состоялась на заседании общества патологоанатомов Санкт-Петербурга и Ленинградской области (24 мая 2017, Санкт-Петербург).

Публикации. По теме исследования опубликовано:

- 5 научных статей, в том числе 5 – в журналах, включенных в список ВАК;
- 8 тезисов и докладов, из которых 4 были представлены на российских и 4 – на зарубежных научных конференциях.

## Личное участие автора в проведенном исследовании

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).

### Структура и объём 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.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ. ПАТОГЕНЕЗ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ АНАТОМИЯ РЕМОДЕЛИРОВАНИЯ МИОКАРДА ПРИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

### 1.1. Патогенез поражения миокарда при хронических заболеваниях почек

#### 1.1.1. Артериальная гипертензия как фактор развития гипертрофии миокарда левого желудочка

По современным представлениям, пациентов с хронической патологией почек относят к группам с высоким и очень высоким риском развития сердечно-сосудистых осложнений.

С 2000-х годов на решение проблемы гемодиализа у пациентов с ТХПН в мире ежегодно выделялось 70-75 миллиардов долларов США. В России, несмотря на значительный прогресс в обеспечении заместительной почечной терапией нуждающихся пациентов, сохраняется ее дефицит (обеспеченность населения в 2,5-7 раз ниже, чем в странах Европы и в 12 раз ниже, чем в Соединенных Штатах Америки) (Томилина Н.А., Бикбов Б.Т., 2009).

Результаты эпидемиологических исследований, посвященных изучению структуры заболеваемости при патологии почек, показывают, что артериальная гипертензия – наиболее часто встречающееся заболевание как у больных с хроническими заболеваниями почек, так и при СН (Lubanski M.S., McCullough P.A., 2006). По результатам отдельных популяционных исследований АГ диагностируется у 80% пациентов с хроническими болезнями почек (ХБП) (Agarwal R. et al., 2003). Для этих пациентов не установлен целевой уровень артериального давления. Также, несмотря на современные терапевтические стратегии ведения таких пациентов, уровень АД <130/80 мм рт.ст. остается для них недостижим (Sarnak M.J. et al., 2005). Работы, посвященные изучению причин эссенциальной артериальной гипертензии, указывают на то, что снижение

экскреции  $\text{Na}^+$  почками и нарушение постоянства внеклеточного объема жидкости является одним из ключевых компонентов патогенеза АГ. В экспериментальных и клинических наблюдениях было показано, что трансплантация почки от донора, страдающего АГ, приводит в отсроченном периоде к развитию гипертензии у реципиента, не имевшего ранее признаков повышенного давления (Guidi E. et al., 1985; Guidi E. et al., 1996). Это указывает на ведущую роль почки как основного регулятора артериального давления.

Как известно, развитие АГ в значительной степени связано с увеличением сосудистого сопротивления, основными причинами которого являются активация нейрогуморальных систем и морфологические изменения сосудистой стенки, обуславливающие утрату эластичности. Нейрогуморальные системы включают в себя ренин-ангиотензин-альдостероновую систему (РААС), аргинин-вазопрессин и эндотелин. Результаты многочисленных исследований показывают, что концентрация как ренина, так и ангиотензина II (АТII) в плазме крови больных ХБП достоверно выше (Chinnaiyan K.M., et al., 2005). АТ II увеличивает удержание  $\text{Na}^+$ , регулирует скорость клубочковой фильтрации и увеличивает высвобождение вазопрессина из задних отделов гипофиза и альдостерона из коркового слоя. Вазопрессин воздействует на собирающие трубочки, увеличивая реабсорбцию воды. Альдостерон увеличивает реабсорбцию  $\text{Na}^+$  и воды, таким образом, увеличивая объем внеклеточной жидкости. Как АТII, так и альдостерон способствуют вазоконстрикции сосудов артериального типа, что детерминирует ремоделирование миокарда левого желудочка. Активация РААС-системы сопровождается системным действием, которое выражается как в вазоконстрикции, так и в увеличении объема внеклеточной жидкости. Ингибирование РААС-системы обеспечивает снижение артериального давления у пациентов с АГ и способствует снижению смертности среди пациентов с СН (McCullough P.A., 2006).

Пептидный гормон аргинин-вазопрессин продуцируется гипоталамусом и поступает в кровоток из гипофиза (его задней доли). Его поступление в кровь



координируется осморецепторами, которые располагаются в гипоталамусе, и барорецепторами, располагающимися в интимае каротидных артерий, областях стенки дуги аорты, а также в желудочках сердца. Физиологическая функция гормона реализуется через два вида рецепторов: В1 рецепторы присутствуют на мембране ГМК, В2 рецепторы – на базолатеральной мембране эпителиальных клеток собирательных трубочек почки. Активация рецепторов В1 сопровождается вазоконстрикцией, что у пациентов с сердечной недостаточностью приводит к увеличению системного сосудистого сопротивления (Goldsmith S.R. et al., 1986). Активация же рецепторов В2 приводит к интеграции белков-аквапоринов в апикальной мембране, что обеспечивает увеличение реабсорбции воды за счёт градиента концентрации в мозговом слое, который достигается за счёт работы петли Генле. Антагонисты рецепторов В2 у пациентов с умеренно выраженной СН приводят к значительному снижению концентрации мочи, массы тела и снижению выраженности симптомов заболевания (Gheorghiade M., 2004). В одном из исследований было показано, что у больных со снижением СКФ и ХН отмечается увеличение концентрации вазопрессина в плазме крови. Это обуславливает как вторичное увеличение постнагрузки вследствие возрастания системного сосудистого сопротивления при активации рецепторов В1, так и преднагрузки, что, в свою очередь, обусловлено антидиуретическим эффектом активации рецепторов В2 и увеличением обратной реабсорбции воды. Одновременно с этим в отдельных исследованиях *in vitro* было показано, что вазопрессин способен непосредственно индуцировать гипертрофию кардиомиоцитов и разрастание соединительной ткани. Результаты клинического исследования The Survival and Ventricular Enlargement trial (SOLVD) демонстрируют, что высокая концентрация вазопрессина в плазме крови коррелирует с достоверным увеличением кардиальной смертности в течение 1 года (Francis G.S. et al., 1990). Таким образом, существует достаточно большая доказательная база, отражающая роль повышения концентрации вазопрессина как одного из факторов поражения миокарда при ХБП.

Семейство эндотелина представлено тремя небольшими по размеру пептидными гормонами, из которых у человека в наибольшем количестве определяется изоформа эндотелин-1. Выработка эндотелина реализуется эндотелиальными клетками интимы сосудов и гладкими миоцитами сосудистой стенки. В основе реализации эффектов эндотелина лежит принцип ауторегуляции, который осуществляется при связывании с рецепторами ET-A и ET-B, которые располагаются на мембране клеточных элементов сосудистой стенки и кардиомиоцитов (Zanatta C.M. et al., 2008). В паренхиме почки рецепторы к эндотелину присутствуют на мембране клеток мезангия, эпителиоцитов канальцев и собирательных трубочек. В ряде работ было показано, что повышение концентрации эндотелина-1 (ЭТ-1) в плазме крови отмечается как при снижении СКФ, так и при СН (Kohan D.E., 2010). При этом концентрация гормона непосредственно коррелирует с уровнем креатинина в плазме крови и альбумина в моче у больных ХБП. С другой стороны, существуют подтверждения того, что протеинурия приводит к индукции синтеза эндотелина-1, что также отражает тесную связь между снижением функции почек и повышением уровня эндотелина-1 (Zanatta C.M. et al., 2008). В свою очередь в отдельных работах было показано, что этот гормон индуцирует гипертрофию и пролиферацию гладкомышечных клеток сосудистой стенки, миграцию клеток воспаления и разрастание соединительной ткани, которое сопровождается ремоделированием сосудистой стенки и способствует развитию артериальной гипертензии (Wei C.M., 1994). Высокий уровень эндотелина-1 индуцирует пролиферацию фибробластов стромы, что сопровождается фиброзом органа. В формате клинического исследования было показано, что его высокая концентрация в плазме крови коррелирует с ухудшением сократительной функции левого желудочка. Пока роль эндотелин-1 в поражении миокарда изучена недостаточно, но очевидно, что, являясь одним из наиболее активных эндогенных вазоконстрикторов, повышение синтеза и секреции в кровотоке является одним из ранних молекулярных маркеров поражения сердечно-сосудистой системы у больных ХБП. Таким образом,

патологическая системная активация нейрогуморальных систем при нарушении функции почек является одним из предрасполагающих факторов устойчивого повышения артериального давления и последующих структурных изменений сосудистой стенки и ткани миокарда.

Известно, что АД, согласно закону Ома, прямо пропорционально объёму кровотока через просвет артерий (сердечный выброс) и сопротивлению этому току (системное сосудистое сопротивление). В то же время кальциноз артерий у больных ХБП является одним из характерных морфологических изменений сосудистой стенки, что сопровождается тяжёлыми изменениями её структуры, утратой эластичности и выраженной ригидностью. Генерализованное изменение механических свойств сосудистой стенки обуславливает высокое сосудистое сопротивление, что неминуемо влечёт рост АД. Как субинтимальный кальциноз, так и кальциноз интимы у больных ХБП развивается значительно быстрее и чаще, чем у людей с заболеваниями ССС без патологии почек, что морфологически проявляется развитием тяжёлой сосудисто-стромальной дистрофии (McCullough P.A., Agrawal V., 2008). В отдельных работах была показана достоверная взаимосвязь между стадией ХБП, структурными изменениями сосудистой стенки и уменьшением её эластичности (Schoppet M. et al., 2008). Быстрой патологической перестройке сосудистой стенки и формированию в её составе кальцификатов у больных ХБП способствует множество различных факторов. Существует точка зрения, что увеличение уровня кальция и фосфора, создаёт необходимые биохимические предпосылки для формирования кристаллов апатитов механизмом пассивной преципитации, а также индуцирует приобретение клеточными элементами сосудистой стенки остеобластических потенциалов. В условиях эксперимента (*in vitro*) с культурами ГМК было продемонстрировано, что приобретение особых свойств фенотипа клетками опосредовано повышением концентрации неорганического  $P^+$  и  $Ca^{2+}$  в среде.

При этом проявлялись характеристики, свойственные для клеточных структур костной ткани. Это выражалось в снижении экспрессии

гладкомышечного актина, в цитоплазме клеток формировались везикулы с  $\text{Ca}^{2+}$  и  $\text{P}^+$ , выделение которых во внеклеточный матрикс влекло за собой образование ядер минерализации (Davies M.R. et al., 2001). Одновременно с этим некоторые исследователи в качестве ведущего фактора эктопической кальцификации выделяют утрату функции и снижение концентрации ингибиторов преципитации у больных ХБП (Wang M.C. et al., 2001). По-видимому, вторичная утрата эластичности артерий вследствие кальцификации имеет многокомпонентный патогенез, в котором также играет роль эндотелиальная дисфункция и другие механизмы, но исход всегда сопровождается увеличением системного сосудистого сопротивления, что приводит к повышению артериального давления и постнагрузки на левые отделы сердца.

Таким образом, патологическая активация нейрогуморальных систем с одной стороны и выраженные морфологические изменения сосудистой стенки с другой обуславливают, согласно закону Ома, изменение гемодинамики у больных ХБП, что приводит к формированию резистентной системной гипертензии, распространённость которой в этой категории больных ХБП достигает 80%. Стойкое повышение АД увеличивает постнагрузку и потребление кислорода миокардом, что приводит к формированию концентрической гипертрофии левого желудочка, которая в свою очередь создаёт предпосылки к нарушению процесса релаксации и развитию диастолической дисфункции. В экспериментах *in vitro* было показано, что циклическое механическое напряжение культуры фибробластов приводит к достоверному увеличению продукции коллагена кардиомиоцитами (Wang M.C., Tsai W.C., 2011). Метод сканирующей электронной микроскопии позволил выявить увеличение толщины коллагеновых волокон в миокарде при возрастании постнагрузки и гипертрофии (Baudino T.A. et al., 2006). Таким образом, продолжительное напряжение кардиомиоцитов вследствие высоких АД индуцирует глубокую перестройку компонентов межклеточного матрикса миокарда, что обуславливает структурные изменения стромы органа с последующим развитием фиброза.

### 1.1.2. Гемодинамические нарушения и перегрузка сосудистого русла

Почка, как и другие органы, в условиях гипоперфузии реагируют посредством включения универсальных механизмов, реализующихся в условиях гипоперфузии любой этиологии, обеспечивающих задержку натрия и воды (Шулутко Б.И., 1993; Смирнов А.В., Каюков И.Г., 2004). Однако при СН это происходит несмотря на исходно нормальный или избыточный объём внеклеточной жидкости и перегрузку внеклеточного жидкостного компартмента. В основе патологической активации компенсаторных механизмов у больных СН, направленных на устранение гиповолемии, лежат два основных фактора. Один из них – это снижение объёма выброса левого желудочка, что приводит к снижению объёма направленного тока крови или развитию левожелудочковой недостаточности. При СН миокард не способен обеспечивать силу сокращения для выброса достаточного объёма крови левым желудочком. Снижение фракции выброса (ФВ) приводит к гипоперфузии периферических тканей, что физиологически определяется структурно-функциональными компонентами почки, как гиповолемия. Снижение насосной функции правых отделов сердца влечёт за собой увеличение центрального венозного давления и развитие правожелудочковой недостаточности, что клинически проявляется в повышении центрального венозного давления и появлении периферических отёков. Повышенное центральное венозное давление ведет к переполнению капиллярного бассейна других органов и систем, включая почки (Schiffrin E.L., Lipman M.L., 2007). Таким образом, нарушение перфузии тканей у больных СН вследствие утраты функциональной состоятельности миокарда приводит к патологической активации компенсаторных механизмов, направленных на устранение гиповолемии и приводящих к ремоделированию миокарда (Непомнящих, Л. М., 2001; Swynghedauw, B., 2001; Yau-Huei Lai et al., 2013).

Другим фактором патогенеза развития перегрузки объёмом сосудистого русла является снижение эффективного артериального объёма, что выражается в

снижении наполняемости артериального русла. Это приводит к активации барорецепторов каротидного синуса, дуги аорты и юкстагломерулярного аппарата, которые обеспечивают контроль объёма жидкости. При снижении объёма жидкости барорецепторы индуцируют обратное всасывание воды и натрия, что вызывает нарастание отёков у пациентов с СН (Zoja C. et al., 2004).

Наличие ХБП оказывает дополнительное влияние на ведение пациентов с избытком жидкости. Диуретики, особенно воздействующие на петлю Генле, традиционно используются для симптоматической терапии периферических отёков у больных СН (Николаев А.Ю., Козловская Л.В., 2001). Петлевые диуретики, воздействуя на натриевые, калиевые, хлорные каналы, которые располагаются в мембране эпителиоцитов восходящего отдела петли Генле, обеспечивают реабсорбцию  $\text{Na}^+$ , тем самым обеспечивая гипотоничность мочи и высокую концентрацию  $\text{Na}^+$  в мозговом слое почки, что необходимо для реабсорбции свободной воды из просвета собирательных трубочек по градиенту концентраций. Ингибирование этого канала обеспечивает снижение реабсорбции натрия в этом отделе нефрона и увеличение его концентрации в моче на уровне дистального извитого канальца и собирающих канальцев, что предотвращает формирование градиента концентрации  $\text{Na}^+$  в интерстиции и приводит к нарушению реабсорбции свободной воды из собирательных трубочек. Морфологические изменения паренхимы почек у пациентов с ХБП обуславливают резистентность к петлевым диуретикам у больных ХБП, что значительно снижает эффективность терапии СН, сопровождается увеличением частоты и продолжительности госпитализации, связанных с СН.

Структурные изменения паренхимы почки больных ХБП закономерно сопровождаются утратой части мезангиальных клеток, что приводит к снижению синтеза и концентрации эритропоэтина в плазме крови (Levin A., Thompson C.R., 1999; Карабаева А. Ж., Каюков И. Г., 2006). Снижение его выработки сопровождается достоверным сокращением срока развития левожелудочковой недостаточности и ремоделирования сердца, в том числе у пациентов с умеренной

степенью поражения почек (Cerasola G., Nardi E., 2011). Хроническая анемия, обусловленная нарушением процессов эритропоэтин-зависимой пролиферации и дифференцировки клеточных элементов эритроидного ряда, предопределяет снижение кислородной ёмкости крови, что в свою очередь обуславливает необходимость увеличения объёма выброса левого желудочка. В ряде работ было показано, что хроническая анемия при ХБП является независимым предиктором формирования левожелудочковой недостаточности (Mancini D.M., Katz S.D., 2003). В то же время заместительная терапия эритропоэтином в комбинации с пероральным приёмом железа обеспечивает достоверное снижение клинических проявлений сердечной недостаточности и снижению частоты госпитализаций.

Гемодиализ при терминальной форме ХБП сегодня является наиболее частой формой заместительной терапии почечной недостаточности. В свою очередь, проведение гемодиализа требует наличия постоянного доступа к кровеносной системе, что связано с применением катетера или создания артериовенозной фистулы. Часто применение катетеров сопровождается высоким риском инфекционных осложнений, а также недостаточным объёмом кровотока и, как следствие, скоростью диализа. Поэтому большинству пациентов требуется формирование артериовенозной фистулы (АВ-фистулы), которые чаще всего располагаются на верхней конечности, что позволяет обеспечить скорость кровотока на уровне предплечья 400-800 мл/мин и 800-1500 мл/мин на уровне плеча (MacRae J.M. et al., 2006). Создание артериовенозного анастомоза приводит к прямому сбросу части объёма сердечного выброса непосредственно в малый круг кровообращения в обход системной циркуляции. Это одновременно сопровождается увеличением преднагрузки за счёт увеличения объёма кровотока в лёгочном кругу кровообращения, а также снижению «полезного» объёма ФВ. В ряде работ было показано, что вторичная перегрузка правых отделов сердца вследствие формирования АВ-фистулы достоверно ускоряет декомпенсацию функции левого желудочка и сокращает сроки формирования эксцентрической гипертрофии ЛЖ (Van Duijnhoven E.C.M. et al., 2001). Имеются клинические

наблюдения больных, у которых после трансплантации почки и закрытия искусственной фистулы было зафиксировано достоверное улучшение сократительной функции сердца и отчасти обратное развитие морфологических признаков гипертрофии левого желудочка (в частности эксцентрической гипертрофии левого желудочка, что требует снижения перегрузки объёмом) (Movilli E., Viola B.F., 2010). В целом наличие фистулы ускоряет ремоделирование миокарда у больных ХБП, что проявляется ранним развитием гипертрофии миокарда, дилатацией камер сердца и повышенной ригидностью органа вследствие фиброза стромы. Таким образом, одним из компонентов патогенеза поражения миокарда при ХБП является перегрузка вследствие значительного увеличения объёма циркулирующей жидкости, механизм развития которой имеет многокомпонентный характер.

### 1.1.3. Дополнительные патогенетические факторы ремоделирования миокарда при ХПН

Многие патологические состояния, ассоциированные с ХБП, оказывают вторичное, опосредованное повреждающее действие на структуру миокарда независимо от гемодинамических нарушений. Среди них принято выделять: постоянное действие активированной ренин-ангиотензиновой системы, оксидативный стресс, хроническое воспаление и нарушение обмена фосфора.

В отдельных работах показано, что хроническое увеличение концентрации альдостерона в плазме крови приводит к развитию фиброза всех камер сердца, почек и других органов, что обусловлено увеличением синтеза трансформирующего ростового фактора бета (Transforming growth factor beta – TGF- $\beta$ ), который обладает фиброгенным действием (Weber K., 2001). Имеются данные, что как ангиотензин, так и альдостерон индуцируют экспрессию и синтез кардиомиоцитами факторов роста, стимулирующих миграцию и хоуминг фибробластов. К ним относятся такие цитокины, как фактор роста фибробластов



(Fibroblast Growth Factor – FGF), гепатоцитарный фактор роста (Hepatocyte Growth Factor – HGF) и т.д. Это сопровождается увеличением продукции коллагена и других элементов экстрацеллюлярного матрикса клетками фибробластического ряда, что приводит к развитию фиброза. В ряде работ показано, что применение антагонистов рецепторов ангиотензина II (Лозартан) способствует уменьшению объёма коллагеновых волокон в миокарде и снижению ригидности левого желудочка (Diez J. et al., 2002). Результаты другого исследования демонстрируют улучшение показателей диастолической функции миокарда вследствие частичного регресса фиброза при применении антагониста рецепторов альдостерона – Спиринолактона. Также данный препарат стал компонентом стандартного комбинированного лечения пациентов с СН после получения результатов исследования Randomized Aldactone Evaluation Study (RALES), которое показало, что его применение приводит к достоверному снижению смертности на 30% (Weber K., 2001). Это подтверждает представление о том, что гормоны ренин-ангиотензиновой системы способствуют ремоделированию сердца не только за счёт воздействия на водно-солевой баланс, но и за счёт непосредственно прямого действия на кардиомиоциты.

У больных с ХБП отмечается достоверное увеличение концентрации маркеров оксидативного стресса, в том числе и при ранних стадиях заболевания. Многочисленные исследования продемонстрировали достоверную обратную связь между концентрацией маркеров оксидативного стресса и СКФ (Whaley-Connell A. et al., 2011). При этом уже на ранних стадиях ХБП при незначительном снижении СКФ отмечается снижение концентрации/резерва внутриклеточных антиоксидантных систем (Dounousi E. et al., 2006). В клиническом исследовании с участием 134 больных с терминальной стадией ХБП было показано, что введение ацетилцистеина дважды в день по 600 мг в сутки на протяжении 14 месяцев сопровождается достоверным снижением частоты развития серьёзных осложнений сердечно-сосудистых заболеваний по сравнению с плацебо (Terawaki H. et al., 2004). Данные исследований и экспериментальных работ поддерживают

то мнение, что развитие оксидативного стресса у больных с ХБП также является независимым фактором патогенеза поражения миокарда.

Комплексные изменения метаболизма при ХБП сопровождаются увеличением концентрации маркеров воспаления, таких как С-реактивный белок, фибриноген, а также различные провоспалительные цитокины - IL-6, TNF- $\alpha$  и т.д. (Cachofeiro V. et al., 2006). Избыток этих факторов создаёт предпосылки для развития эндотелиальной дисфункции и прогрессирования атеросклероза. Медиаторы воспаления индуцируют усиление экспрессии молекул адгезии на поверхности эндотелиоцитов, что обеспечивает фиксацию циркулирующих иммунных клеток, которые стимулируют миграцию и хоуминг моноцитов и других клеточных элементов. При этом отдельные цитокины способны оказывать прямое повреждающее действие на кардиомиоциты. В экспериментальном исследовании фактор некроза опухолей (Tumor Necrosis Factor – TNF) оказывал негативный инотропный эффект на миокард, и его перманентное воздействие на кардиомиоциты сопровождалось дозозависимым увеличением объёма ЛЖ и снижением фракции выброса (Franco F. et al., 1999). Клинические исследования показали, что повышение уровней CRP, IL-6 и фибриногена являются независимыми предикторами развития сердечно-сосудистых осложнений при ХБП (Goicoechea M. et al., 2008). Таким образом, имеющийся объём информации позволяет со значительной долей уверенности рассматривать хроническое латентное воспаление как один из компонентов поражения миокарда при ХБП.

Как уже было отмечено, прогрессирование ХБП коррелирует с нарастанием признаков нарушения обмена кальция и фосфата. Существует утверждение о том, что снижение клиренса фосфора начинается при значениях СКФ ниже 30 мл/мин (4 стадия ХБП), что проявляется гиперфосфатемией. Это одна из ведущих причин формирования вторичного гиперпаратиреодизма у больных ХБП. Фосфаты способны непосредственно стимулировать экспрессию и синтез паратиреоидного гормона, что утяжеляет степень гипокальциемии вследствие увеличения его преципитации в тканях. Кроме того, что в отдельных исследованиях *in vivo* было

показано что паратгормон способен непосредственно индуцировать гипертрофию кардиомиоцитов у крыс, что выражается в достоверном увеличении синтеза протеина и объёма кардиомиоцитов (Schluter K.D., Piper H.M., 1992). Крупное популяционное исследование с участием 27 000 здоровых добровольцев показало, что увеличение концентрации фосфора в периферической крови достоверно коррелирует с частотой развития гипертрофии левого желудочка (Saleh F.N., Schirmer H., 2003).

Немаловажно, что у пациентов с ХПН также происходит снижение выработки эндогенного эритропоэтина, что веден к развитию анемического синдрома. Имеются многочисленные работы, в которых показано, что применение препаратов на основе эритропоэтина уменьшает степень анемии не только путем стимуляции ранних предшественников в костном мозге, но и за счет увеличения количества костномозговых клеток предшественников эндотелиоцитов. При этом было отмечено увеличение количества микрососудов в миокарде (Arcasoy M. O., 2008).

Таким образом, факторы поражения миокарда при ХБП многочисленны и разнообразны по механизму действия, через которое осуществляется альтерация. Распределение факторов на группы в данной ситуации носит условный характер и предполагает в первую очередь попытку структурирования большого объёма информации. Безусловно, все факторы патогенеза при ХБП связаны между собой, формируются одновременно или последовательно. Указанные факты подчеркивают, что попытка морфологической оценки терапевтического воздействия на какой-либо компонент патогенеза часто затрудняется из-за развития схожих структурных изменений при участии множества факторов.

## 1.2. Морфологические изменения миокарда при ХПН

### 1.2.1. Гипертрофия и дилатация левого желудочка

К основным морфофункциональным изменениям сердца у пациентов с ХПН относят гипертрофию стенки левого желудочка (ответ на увеличивающуюся преднагрузку), интерстициальный и периваскулярный склероз, которые приводят к нарушению сократительной функции миокарда и в дальнейшем к дилатации левого желудочка сердца и ХСН, а также часто к нарушениям ритма работы сердца (Di Lullo L. et al., 2015). В основе гипертрофии миокарда ЛЖ лежит гипертрофия кардиомиоцитов, что обуславливает увеличение массы миокарда в целом (Шперлинг И. Д., 1989).

На клеточном уровне гипертрофия левого желудочка проявляется как увеличение размера кардиомиоцитов. Это состояние определяется у 80% пациентов с терминальной стадией ХБП на момент начала проведения гемодиализа (Konstam M.A., Kramer D.G. et al., 2011). Предпосылкой для его развития является нарушение гемодинамики, что создаёт условия для избыточного натяжения сарколеммы кардиомиоцита и по принципу обратной связи сопровождается активацией и экспрессией генов сократительных белков саркомеров, таких как белок титин (Herman D.S. et al., 2012). В одном из немногочисленных исследований было показано, что мутации в гене этого белка определяются у 25% пациентов с семейной формой дилатационной кардиомиопатии, 18% больных со спорадической формой кардиомиопатии и лишь у 3% здоровых добровольцев группы контроля, что свидетельствует о его важной роли в поддержании сократительной функции миокарда (Herman D.S. et al., 2012). При эксцентрической гипертрофии, формирующейся вследствие перманентной перегрузки объёмом жидкости (увеличение преднагрузки), часто наблюдается феномен «экструзии», или выдавливания кардиомиоцитов из общей упорядоченной структуры, а также их вытягивание, что в итоге реализуется

дилатацией камер. Концентрическая гипертрофия является результатом хронической перегрузки давлением (увеличение постнагрузки) и на макроскопическом уровне проявляется как утолщение стенки левого желудочка миокарда. Многими исследователями были отмечены изменения в микроциркуляторном русле гипертрофированного миокарда ЛЖ, которые характеризовались уменьшением плотности (количества и площади) капилляров (развитие ишемии в миокарде при сохранении адекватной проходимости крупных артерий сердца) (Rostand S.G. et al., 2010). Это становится особенно важным у пациентов с сопутствующим СД, для которого капиллярное русло является мишенью. В гипертрофированном миокарде прогрессирующая гипоксия является самостоятельным фактором ангиогенеза (Пушкарева, Т. А., 2008; Шурыгин, М. Г., 2013).

Часто при ХБП ремоделирование миокарда происходит одновременно в правых и левых отделах сердца вследствие увеличения как преднагрузки, так и постнагрузки, что обуславливает формирование обоих паттернов гипертрофии. Также существует точка зрения, что эти патологические процессы обладают синергичным эффектом. Кроме того, большое количество факторов поражения миокарда при ХБП, которые были упомянуты выше, способны непосредственно индуцировать гипертрофию миокарда независимо от изменений гемодинамики (активация ангиотензин-рениновой системы, оксидативный стресс, гиперпаратиреозидизм и т.д.).

Существует несколько способов оценки массы левого желудочка. Как правило, в условиях клиники масса ЛЖ определяется при помощи совокупности данных ЭКГ (критерий проводимости), физикального обследования (пальпация и перкуссия), а также рентгенологического исследования (повышенный кардиоторакальный индекс). Эти методы просты и доступны, однако обладают не очень высокой чувствительностью, особенно при начальных стадиях гипертрофии левого желудочка, которая выражается лишь в незначительном утолщении стенки миокарда. В свою очередь магнитно-резонансная томография сердца является

«золотым стандартом», так как данный метод исследования позволяет с высокой точностью определить объём, форму и степень выраженности гипертрофии (Glassock R.J. et al., 2009). Однако его широкое применение ограничено высокой стоимостью, малой доступностью и наличием противопоказаний к его выполнению, таких как, например, наличие водителей ритма. В связи с этим эхокардиография на сегодняшний день является наиболее распространённым методом определения массы ЛЖ в рутинной клинической практике. Точность и чувствительность метода в высшей мере зависит от оператора, владения им техникой выполнения исследования и рядом других технических характеристик. Двух- и трёхмерная эхокардиография увеличивает чувствительность метода, приближая его точность к МРТ исследованию (Takeuchi M. et al., 2009).

#### 1.2.2. Склеротические изменения стромы миокарда

Основной структурный компонент экстрацеллюлярного матрикса представлен волокнами, которые образованы 5 типами коллагена. Тип I и III – преобладающие изоформы, они образуют около 80% от общего объёма коллагеновых волокон стромального компонента сердца (Agarwal R. et al., 2003). Коллаген формирует структурный каркас, который обеспечивает как прочность, так и эластичность. Кроме того, что этот каркас крайне важен для поддержания структурной целостности миокарда, он также играет активную роль в формировании силы сокращения, передачи его через стенку ЛЖ и обеспечении резистентности миокарда к деформации при заполнении камер сердца кровью во время диастолического расслабления. Следовательно, экстрацеллюлярные структурные компоненты являются основным фактором, который обеспечивает жёсткость желудочков во время сокращения и поддержание структуры во время релаксации.

Фибробласты представляют преобладающую клеточную популяцию в строме сердца, благодаря этим клеткам обеспечивается поддержание структурной

целостности соединительнотканного каркаса органа (Manabe I. et al., 2002). Прокollaгеновые молекулы синтезируются в эндоплазматическом ретикулууме фибробластов. Про-протеин содержит около 1000 аминокислот, которые расположены в виде трёх спиральных цепей. Этот длинный про-протеин секретируется в интерстициальное пространство, где подвергается дальнейшему созреванию, или процессингу. Молекулы коллагена, формирующиеся в ходе этих превращений, менее растворимы; они самостоятельно собираются в коллагеновые фибриллы, которые в свою очередь агрегируются в коллагеновые волокна. Баланс между формированием коллагена и его деградацией может быть оценён при помощи исследования концентрации в сыворотке крови биопродуктов синтеза и деградации коллагена. В одном из экспериментальных исследований последнего времени в модели ХПН 5/6 нефрэктомии Martin et al. показали, что это сопровождается индукцией образования волокнистой соединительной ткани в строме органа, что морфологически выражается достоверным увеличением количества соединительной ткани к концу 4-ой недели после операции и нарушением диастолической функции в сравнении с контрольной группой животных (группа ложнооперированных животных) (Martin F.L. et al., 2012). При этом наблюдаемые изменения прогрессируют во времени – к концу 16-й недели у животных экспериментальной группы отмечалось достоверное увеличение показателей массы ЛЖ, диастолического диаметра ЛЖ с нарастанием объёма соединительной ткани.

Степень выраженности фиброза миокарда может быть оценена при помощи прямой эндомиокардиальной биопсии, МРТ, маркеров сыворотки крови или при помощи оценки сократительной функции миокарда с применением 2D-эхокардиографии (Chinnaiyan K.M. et al., 2007). Многочисленные исследования, в которых использовались различные методы оценки фиброза, показали, что фиброз миокарда развивается достоверно чаще у больных с ХБП и АГ, чем у больных с АГ без признаков почечной недостаточности. Применение 2D-эхокардиографии позволяет выявить наличие диастолической дисфункции у 62%

больных с 5 стадией ХБП (Lopez B. et al., 2008). При этом Е/Е соотношение (отношение максимальной скорости раннего наполнения полости левого желудочка к максимальной скорости движения фиброзного кольца митрального клапана в фазу быстрого наполнения полости левого желудочка) является независимым предиктором смертности среди больных этой группы. Выраженность фиброза миокарда достоверно коррелирует с нарушением силы сокращения левого желудочка, снижением фракции выброса и функциональным классом СН (Wang A.Y. et al., 2008). Развитие новых высокочувствительных методов диагностики привело к тому, что отдельные маркеры сыворотки крови стали интегральным инструментом для диагностики всех стадий СН у больных ХБП, а также для определения прогноза. Традиционно применяемые как маркеры острого повреждения миокарда тропонины Т и I, также оказались эффективны для диагностики СН. При СН это является индикатором повреждения кардиомиоцитов, которое неминуемо приводит к их гибели. В одной из работ было показано, что концентрация тропонина I  $> 0.03$  нг/мл на входе в исследование у пациентов с ишемической и неишемической кардиомиопатией сопровождается достоверным увеличением риска кардиальной смерти. Периодические повышения концентрации тропонина в течение 6-месячного периода наблюдения за пациентами с неишемической кардиомиопатией достоверно коррелируют с увеличением риска сердечной смерти (Kawahara C. et al., 2008). Таким образом, экспериментальные данные и клинические исследования позволяют рассматривать фиброз миокарда как одно из морфологических проявлений его поражения у больных с ХБП. При этом процесс фиброгенеза инициируется уже на ранних стадиях ХБП, фиброз прогрессирует с течением времени, и в конечном итоге морфологические изменения приводят к изменению механики работы сердца.



### 1.3. Методы коррекции морфологических изменений миокарда при ХБП

#### 1.3.1 Хирургические методы коррекции морфологических изменений

Выраженные морфологические изменения тканей сердца у больных ХБП с течением времени часто приводят к декомпенсации СН, которая не поддаётся коррекции лекарственными препаратами. Применение хирургических методов лечения часто является единственным способом улучшения состояния пациентов и отсрочки фатальных осложнений. Основными среди них считаются ресинхронизирующая терапия (РСТ), интрааортальная баллонная контрпульсация и трансплантация сердца. К сожалению, являясь стандартом оказания медицинской помощи больным с СН без поражения почек, они не могут быть использованы при наличии ХБП. Так, например, в соответствии клиническими рекомендациями у больных с ХСН III–IV факультативного класса (ФК) со снижением ФВ менее 35%, у которых применение стандартной консервативной терапии не позволяет достигнуть терапевтического эффекта, проведение РСТ обеспечивает достоверное снижение выраженности СН, частоты госпитализаций и смертности. По данным исследования COMPANION, применение РСТ у пациентов с ХСН III–IV ФК и ФВ менее 35% обеспечивает достоверное снижение смертности по сравнению со стандартной консервативной терапией (Bristow M.R. et al., 2004). Имплантация кардиостимулятора сопровождается снижением риска внезапной сердечной смерти при устойчивой желудочковой тахикардией, а также при резком снижении ФВ до 30% в течение 40 суток после развития острого ИМ. Однако при СН на фоне ХБП применение данного метода лечения позволяет достичь улучшения функционального состояния только 30% больных, что достоверно ниже при сравнении с общей популяцией (Bristow M.R. et al., 2004). У части пациентов с СН после проведения РСТ закономерно отмечается снижение СКФ, вследствие нарушения перфузии ткани почек. При этом степень падения

СКФ достоверно коррелирует со снижением конечного систолического и конечного диастолического объёмов, ФВ и увеличением смертности (Fung J.W.H., Szeto C.C., 2007). Наличие же исходно низкой СКФ у больных СН и ХБП сопровождается крайне неблагоприятным прогнозом.

У пациентов с терминальной стадией ХСН при невозможности выполнения трансплантации возможно применение вспомогательного устройства для левого желудочка (Left Ventricular Assist Device – LVAD). Результаты клинических исследований показывают, что его использование у данной категории больных обеспечивает достоверное улучшение качества жизни. Но применение этого метода лечения ассоциировано с выраженными нарушениями гемодинамики, что индуцирует развитие острой почечной недостаточности у 7%-56% больных с ХСН. При этом наличие ХБП является независимым предиктором острой почечной недостаточности после установки вспомогательного устройства левого желудочка, которая развивается в 30% случаев (Patel A.M. et al., 2013).

Трансплантация сердца является наиболее эффективным методом лечения терминальной стадии СН, обеспечивающим достоверное увеличение толерантности к физической нагрузке, улучшение качества жизни и повышение уровня выживаемости по сравнению со стандартной лекарственной терапией. По данным обзоров, при применении трёхкомпонентной иммуносупрессивной терапии 1-летняя выживаемость после трансплантации сердца составляет 90 %, 5-летняя – 70-80%. Основным осложнением, развивающимся после операции, является злокачественная опухоль, сопровождающаяся васкулопатией сосудов сердца. Исходом этого состояния является недостаточность трансплантата (M. C. Alraies et al., 2014).

Немаловажно, что сопутствующая ХПН увеличивает риск неблагоприятного исхода при реконструктивных операциях на сосудах сердца (риск развития летального исхода в ходе операции аортокоронарного шунтирования возрастает в 7 раз), и повторная реваскуляризация часто бывает не

возможна (Ashrith G. et al., 2010). Это объясняется множеством сопутствующих факторов, влияющих на перестройку в миокарде у пациентов с ХПН.

Среди наиболее распространённых осложнений также наблюдается развитие ХБП вследствие выраженных изменений в гемодинамике после трансплантации и нефротоксического действия иммуносупрессивной терапии. В исследовании с участием 352 пациентов после трансплантации сердца вероятность снижения СКФ  $<45$  мл/мин/1.73 м<sup>2</sup> составила 45% через один год, 71% через 5 лет и 83% к концу 10 года после операции, в то время как вероятность развития 5 стадии ХБП составила 3% к концу 5 года и 12% через 10 лет (Namour I.M. et al., 2009). В наиболее крупном исследовании с участием 69,321 больных после трансплантации различных органов было показано, что кумулятивная вероятность развития ХБП после трансплантации сердца составляет 6.9% за 5 лет (Ojo A.O. et al., 2001). Таким образом, почка является одним из органов-мишеней при трансплантации органов, что обуславливает необходимость предварительной оценки её функции и значительно ограничивает применение данного метода лечения при ХБП.

В одном из исследований было показано, что основной причиной смерти у пациентов с ХСН и ХБП после трансплантации сердца является внезапная сердечная смерть в раннем послеоперационном периоде, которая встречается у 30% больных (Villar E. et al., 2007). При этом выполнение операции не сопровождается увеличением показателя 5-летней выживаемости по сравнению с больными с ХСН и ХБП, которым операция не выполнялась. В другой работе с участием 30437 больных с ХБП было продемонстрировано, что ХБП является независимым фактором прогноза смертности после операции, при этом прогноз при 2-й стадии заболевания такой же, как и при 1-ой стадии, в то время как больные с 3-й, 4-й и 5-й стадиями имеют достоверно менее благоприятный прогноз. Таким образом, при выборе любого метода хирургического лечения ХСН наличие ХБП является одним из наиболее неблагоприятных прогностических

факторов ранней смертности после проведения операции. Также важно то, что исход заболевания коррелирует со степенью нарушения почечной функции.

#### 1.4. Применение малобелковой диеты

Ограничение потребления белка является одним из направлений нутритивной терапии ХБП. Начиная с 19-го века было известно, что уремия является следствием накопления продуктов обмена веществ белковой природы, которые в норме должны экскретироваться с мочой. Значительное содержание белка в рационе способствует увеличению почечного кровотока и возрастанию СКФ. Однако до сих пор механизм усиления кровотока в почках до конца не выяснен. Существует предположение, что увеличенное количество аминокислот реабсорбируется вместе с натрием в проксимальном извитом канальце. Следовательно, концентрация натрия понизится в области плотного пятна. За этим следует снижение сосудистого сопротивления в приносящей артериоле, повышение гидростатического давления в клубочке и повышение СКФ. Вторым механизмом саморегуляции кровотока в почках при снижении концентрации натрия в области плотного пятна является активация РААС, вследствие чего развивается спазм приносящих артериол, что также приводит к повышению гидростатического давления в клубочке и повышению СКФ. С этими механизмами также связаны осложнения в виде значительного снижения СКФ и развития острой почечной недостаточности у пациентов с атеросклерозом почечных артерий при применении ингибиторов ангиотензинпревращающего фермента либо антагонистов ангиотензина II. Однако у пациентов с ХПН при изначально сниженной скорости клубочковой фильтрации неограниченное потребление с пищей белков животного происхождения приводит к увеличению гидростатического давления и прогрессированию гломерулярной гипертензии (Blantz R.C. et al., 2002; Bell P.D. et al., 2003; Beeuwkes R., 1980).

Также при повышенном уровне содержания белка в рационе в сыворотке крови пациентов с ХПН отмечается увеличение количества конечных продуктов гликилирования и, как следствие, увеличение концентрации активных форм кислорода, которые способствуют включению сигнальных путей для протеинкиназы C, митоген-активируемых протеинкиназ и активаторов транскрипции. Далее возрастает экспрессия провоспалительных (моноцитарный хемоаттрактантный протеин-1, фактор некроза опухолей –  $\alpha$  и др.) цитокинов и факторов, оказывающих активирующее влияние на фибробласты (фактор роста фибробластов 23, трансформирующий фактор роста –  $\beta$ , тромбоцитарный фактор роста), что приводит к разрастанию соединительной ткани в интерстиции.

Впервые ограничение употребления белка в качестве терапевтического подхода было использовано у больных с ХБП доктором Lionel S. Beale в 1869. Этот подход был основан на знании о том, что мочевины, которая выделяется с мочой, является метаболитом белка и, снижая потребление белка, можно достичь снижения нагрузки на почку и предотвратить дальнейшее повреждение органа (Wasserstein A.G., 1993). Работа Millard Smith 1926 года была направлена на оценку влияния МБД на организм здоровых пациентов. В течение 24 дней добровольцы употребляли пищу, богатую углеводами и жирами, но практически не содержащую белка; такая диета обеспечивала поступление около 4000 ккал в сутки. По данным работы, единственным неблагоприятным последствием такого питания была тошнота. Годом позднее Smith применил низкобелковую диету (0,26 г/кг/сутки) у пациентов с азотемией в течение 6 месяцев (Giordano C., 1982). Важно отметить, что в экспериментальных исследованиях не было выявлено нефротоксичного действия высокобелковой диеты, если применялся лишь чистый белок (казеин), что требовало добавления в рацион белков животного происхождения (высушенной печени и телячьих мышц) (Newburgh L.H., Johnston M.W., 1931). После этого в работе Lois L. MacKay и Thomas Addis (1938) было впервые показано, что односторонняя нефрэктомия приводит к столь же выраженной гипертрофии оставшейся почки, как и высоко белковая диета, при

этом степень увеличения размера почек коррелировала с количеством употребляемого белка.

Применение малобелковой диеты как направления терапии ХБП было впервые 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 – данный метод применялся эпизодически и обеспечивал улучшение состояния лишь небольшой части больных. В то время ограничение потребления белка с сохранением при этом достаточного количества аминокислот и энергии рассматривалось практически в качестве единственного средства коррекции уремии, снижения выраженности её проявлений и увеличения продолжительности жизни. Позднее применение гемодиализа получило стремительное развитие в качестве средства заместительной терапии при терминальной стадии ХБП, что значительно снизило интерес к применению низкобелковой диеты как средства коррекции ХБП. Вне всяких сомнений, благодаря теории Бренера и его центральной идее снизить белок-обусловленную гломерулярную гипертрофию и гиперфильтрацию, низкобелковая диета рассматривалась в качестве средства сохранения остаточной функции и предотвращения прогрессирования болезни почек (Brenner V.M. et al., 1982). Важно отметить, что снижение уровня уремии является не единственной задачей, которая стоит перед 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 ХБП оставался без должного внимания на протяжении в течение многих лет, и лишь в течение последних 10 лет появляются подтверждения значительной роли нарушения обмена фосфора в прогрессировании почечной недостаточности (Isakova T., 2010). Одним из важных компонентов успешного применения МБД является понимание того, что под этим направлением понимается не только жёсткое ограничение количества белка, но и баланс между количеством и качеством потребляемого белка и энергетическим обменом (Tom

К., et al., 1995). В противоположность обычному ограничению потребления белков, у пациентов с ХБП следует применять комплексный подход, обеспечивающий нутритивный статус. Важным компонентом в развитии диетарного подхода к терапии больных с ХБП стало появление так называемых protein-free foods (D'Alessandro C. et al., 2013). Эти продукты обеспечили эффективную замену привычных продуктов рациона, что позволило снизить потребление протеина низкой биологической ценности, и, таким образом, обеспечило адекватный баланс между качеством потребляемого белка и высоким энергетическим статусом. 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). Несмотря на то, что МБД обеспечивает снижение поступления в организм белка, она часто богата углеводами, что препятствует ее применению у пациентов с СД и нефротическим синдромом. Однако в конце 1980 в ряде работ было показано, что ограничение потребления белка способствует нормализации обмена глюкозы (Barsotti G. et al., 1988).

Таким образом, применяемые сегодня средства лечения ХБП не предотвращают развитие структурных изменений миокарда. В свою очередь в серии работ продемонстрировано, что применение малобелковой диеты позволяет с различной степенью эффективности обеспечивать коррекцию основных компонентов патогенеза, приводящих к развитию у пациентов с ХБП хронической сердечной недостаточности. С целью изучения структурных перестроек миокарда при применении малобелковой диеты требуется проведение экспериментальных исследований на моделях хронической почечной недостаточности.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1 Структура и объем экспериментального исследования

Адаптационный период в лаборатории вивария института физиологии им. Павлова РАН длился 1 неделю. Животные имели свободный доступ к воде и пище. Для эксперимента были выбраны клинически здоровые самцы крыс стока Wistar и самцы крыс SHR (спонтанно-гипертензивные инбредные крысы) массой 190-220 граммов.

По сложившейся традиции при изучении экспериментальной патологии почек на предлагаемых моделях используется от 3-х до 12-ти животных в каждой экспериментальной группе. Данное количество обусловлено необходимостью достижения минимальной статистической значимости межгрупповых различий.

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

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



□ 8 группа (n=7) – крысы Wistar, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 4 месяца.

□ 9 группа (n=3) – крысы SHR, которым было выполнено оперативное вмешательство 5/6 нефрэктомии с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 2 месяца.

□ 10 группа (n=3) – ложнооперированные крысы SHR с включением в рацион МБД, срок выведения из эксперимента – 2 месяца (таблица 1).

Таблица 1 – Распределение экспериментальных животных  
в группах исследования

	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	0	4
	SHR	8	0	3	0
НЭ 5/6	Wistar	11	7	0	7
	SHR	9	0	3	0

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ 5/6 – нефрэктомия в объеме 5/6; МБД – малобелковая диета. Оперативное вмешательство было выполнено 62 крысам. Смертность, основной причиной которой явилась прогрессирующая почечная недостаточность, составила 8,8%.

Пищевые рационы крыс. 1. Стандартный рацион – стандартная кормовая смесь (производитель и поставщик «Информ-корм», страна-производитель – Россия). Состав кормовой смеси: содержание животного белка – 20,16%, соли кальция – 1,03%, соли фосфора – 0,8%, углеводы – 75,3%. Такой рацион крыс способствовал реализации суточной потребности 3 г белка/ 100 г массы тела животного.

2. Малобелковая диета (МБД) – препарат 10% Кетостерил («ФрезениусКаби», Германия; 1,5 г/ 100 г массы) + 90% растительного продукта (крупа перловая).

Препарат Кетостерил в своем составе содержит аминокислоты в форме кетокислот, которые в организме трансаминируются в соответствующие L-аминокислоты, благодаря чему происходит утилизация мочевины и коррекция уремии. Препарат способствует компенсации энергетической недостаточности. Кетокислоты в препарате представлены в виде солей кальция (оказывают фосфорсвязывающий эффект и служат источником кальция).

## 2.2. Методика моделирования хронической недостаточности почек

Для моделирования почечной недостаточности у крыс широко используются модели 3/4 нефрэктомии (модель ранних почечных нарушений), 5/6 нефрэктомии (модель развития уремии преимущественно средней тяжести), 7/8 нефрэктомии (модель терминальной почечной недостаточности) (Каюков И.Г., Смирнов А.В., 2009). Для нашей работы была необходима модель, при которой не происходит резкого снижения функции почек и которая максимально приближена к течению хронической недостаточности почек у людей, еще не получающих заместительную терапию гемодиализом или перитонеальным диализом, что позволяет исследовать морфологические изменения в миокарде и оценить эффективность применения малобелковой диеты у данной группы пациентов. В связи с этим нами была выбрана модель 5/6 нефрэктомии.

Предоперационная подготовка включала визуальный осмотр и взвешивание животного. Длительность анестезии и хирургической операции составила примерно 25-30 минут. Вводный и основной наркоз: Рометар (10 мг/кг) + Золетил (20 мг/кг), вводимые интраперитонеально в объёме 5 мл на 1 килограмм.

Оперативное вмешательство осуществлялось в два этапа (интервал – 1 неделя). В объём первого этапа была включена резекция 2/3 массы почки слева

(рисунок 1). Вторым этапом включал в себя тотальную нефрэктомию справа (рисунок 2). В качестве оперативного доступа был выбран заднепоясничный разрез. Для профилактики адреналэктомии непосредственно перед резекцией осуществлялась декапсуляция почки.



Рисунок 1. Оперативное вмешательство. Нефрэктомия 2/3 левой почки. Остановка паренхиматозного кровотечения гемостатической губкой.



Рисунок 2. Оперативное вмешательство. Нефрэктомия правой почки.

С целью профилактики интраоперационной инфекции и восполнении потери объема крови во время оперативных манипуляций, каждому животному после каждого этапа НЭ внутрибрюшинно осуществлялось введение препарата пенициллин (1000 ед./100 г. массы животного), 3 мл физиологического раствора. Животные после оперативных вмешательств находились в специальном помещении лаборатории клинической и экспериментальной кардиологии института физиологии им. И.П. Павлова РАН (к.71) до окончания действия анестетика.

Выведение животных из наркоза осуществлялось без введения дополнительных препаратов. Осуществляется визуальное наблюдение за состоянием животного в течение 4-х часов после оперативного вмешательства. Контрольными точками в оценке состояния животных были: нормализация эффективного внешнего дыхания, восстановление мышечного тонуса, восстановление адекватных реакций поведения животных. После стабилизации состояния животных по указанным пунктам их размещали в клетки по одному.

Послеоперационный уход включал ежедневный осмотр, наблюдение и при необходимости повторную обработку операционной раны.

Еженедельно производилось измерение уровня артериального давления у ненаркотизированного животного манжеточным методом (на хвосте). Использование пищевых рационов – согласно целям и задачам исследования. Доступ к пище и воде – свободный.

Выведение животных из эксперимента осуществлялось через 2 и 4 месяца после операции путем передозировки эфирным наркозом (в вытяжном шкафу) с последующей декапитацией тупыми ножницами после подтверждения наступления смерти животного (отсутствие дыхательных движений грудной клетки и сердцебиения).

Взятие крови и исследуемого органа (сердце) с последующим взвешиванием был выполнен однократно – после декапитации животного.

### 2.3. Методика измерения артериального давления у экспериментальных животных

*Контроль артериального давления (АД).* В предшествующие сутки до оперативного вмешательства еженедельно и накануне выведения животных из эксперимента у бодрствующих животных производилось измерение АД методом наложения манжеты. Крыса помещалась в индивидуальную камеру, на хвост крепили окклюзионную манжетку, оборудованную аппаратом – электроманометром ENEMA (Швеция). Значение АД у крысы было равно значению показателя давления в манжетке в момент завершения пульсации. Для каждого животного было выполнено по 4-5 измерений АД, среднее значение величины АД было рассчитано по результатам трех последних измерений. Данный метод измерения АД (в отличие от инвазивных методов) позволяет контролировать динамику изменения величины АД, не причиняя животному боль.

### 2.4. Методика гистологического исследования миокарда

Фрагмент ткани миокарда, отобранный для гистологического исследования, фиксировали в 10% забуференном растворе формалина (длительность фиксации – 24 часа, pH – 7,0). После проводки материала по стандартной методике фрагменты миокарда заливались в парафин (температура не более 60°C), на заливочной станции (Leica EG1140 Н/С, Leica, Германия). На ротационном микротоме (Microm HM325 оборудованного системой переноса срезов (STS), Microm International GmbH, Германия) изготавливались гистологические срезы, толщиной  $4 \pm 1$  мкм. Срезы монтировались на предметных стеклах (Super Frost, Menzel, Германия) и были окрашены гистологическими красителями гематоксилином и эозином, а также пикрофуксином по ван Гизону.

Помимо того, было выполнено иммуногистохимическое исследование ткани миокарда для визуализации стенок капилляров микроциркуляторного

русла. Для этого были использованы первичные антитела к эндотелиальным клеткам капилляров крыс (PECAM-1 (М-20), Santa Cruz, США) и первичные антитела к эндотелиальным клеткам капилляров человека (CD34). Для селективного выявления лимфатических микрососудов в миокарде человека были применены антитела к подопланину (Clone D2-40, Dako, Дания), для оценки пролиферативной активности использовали антитела к Ki-67.

Методика окрашивания соответствовала инструкции, рекомендованной изготовителем.

## 2.5. Методика иммуногистохимического исследования миокарда

### Окраска на выявление капилляров миокарда крыс

PECAM-1 (англ. platelet/endothelial cell adhesion molecule 1), или CD31, — мембранный белок, относящийся к классу молекул адгезии клеток. Один из множества основных белков межклеточных контактов эндотелиоцитов: в одной клетке одновременно может быть представлено до 1 миллиона копий этого белка. При иммуногистологическом исследовании образцов ткани антитела к CD31 служат маркером эндотелия. Рецепторы к CD31 выявлены на мембранах моноцитов, циркулирующих тромбоцитах, гранулоцитах (нейтрофилах), на мембранах групп Т-клеток. Является одним из протеинов с ингибиторным ITIM (immunoreceptor tyrosine-based inhibitory motif) участком. В совокупности сообщается о 30 ITIM-содержащих протеинах. (Newman P.J., 1997; Sidney, L.E. et al., 2014). Результат реакции — коричневая окраска мембран эндотелиальных клеток капилляров (рисунок 3).

Выявление пролиферативной активности в кардиомиоцитах и клетках стромы миокарда крыс

Ki-67 белок (также известный как MKI67) является маркером) пролиферации. Белок Ki-67 экспрессируется в ядре клеток во всех активных фазах жизненного цикла клетки ( $G_1$ , S,  $G_2$ , и митоз), его экспрессия не определяется в

клетках в фазе  $G_0$  (покоящихся клетках) (Gerdes J., 1983). Позитивная реакция с антителами к Ki-67 была представлена четким ядерным окрашиванием в кардиомиоцитах (рисунок 4).

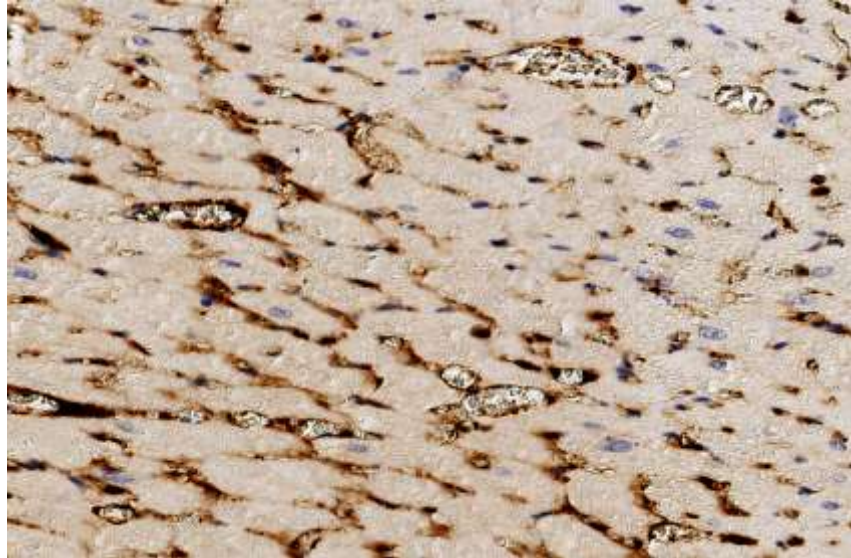


Рисунок.3. Окрашивание эндотелиоцитов при использовании антител к CD31. Иммуногистохимическая реакция. Ув. 200.

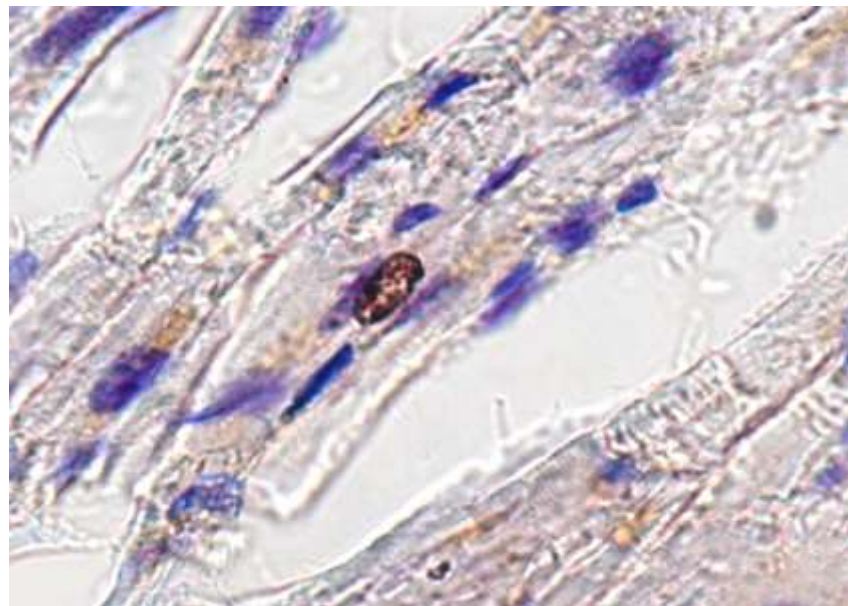


Рисунок 4. Экспрессия маркера пролиферации Ki-67 в ядрах кардиомиоцитов. Иммуногистохимическая реакция. Ув. 400.

Гистологические срезы дополнительно были окрашены гематоксилином Майера (Sigma, США), далее были заключены под покровное стекло.

Гистологическое исследование выполнялось на микроскопе Axiostar (Carl Zeiss, Германия). Морфологическое и морфометрическое исследование было выполнено с использованием цифровой фотокамеры Nikon и гистологического сканера (Leica AperioAT2) в морфометрической программе «VideoTest5.2».

## 2.6. Методики морфометрического и статистического анализа результатов исследования

Перед началом измерения указывали калибровку, которая соответствовала полученному изображению микрообъекта с объектива X40. Для соблюдения репрезентативности процедура проводилась в 10 произвольно выбранных полях зрения. Производились измерения параметров, указанных в таблице 2.

При анализе полученных данных были приняты во внимание объёмы изучаемых выборок, количество групп исследования, соответствие распределения признака в каждой изучаемой группе закону нормального распределения. Этапы анализа статистических данных выполнялись последовательно и включали в себя:

1. Соответствие исследуемых данных закону нормального распределения при помощи критерия Шапиро-Уилка.

Наиболее значимым условием, которое определяет возможность использования параметрических методов, служит соответствие анализируемых параметров закону нормального распределения (Гауссовское распределение). Предпочтительным в исследованиях с малыми выборками ( $n = 3$ ) служит использование критерия Шапиро-Уилка, так как он имеет наибольшую мощность (т.е. с большей вероятностью выявляет различия среди распределений выборок, в которых они действительно есть) (Мастецкий С. Э., 2009). Производили изучение количественных данных исходя из видов их распределения.



Таблица 2 – Параметры морфометрического исследования

Объект исследования	Параметр, ед. измерения
Кардиомиоциты	1. Толщина (Ткмц), мкм 2. Площадь (Пкмц), мкм <sup>2</sup> 3. Толщина ядер (ТЯкмц), мкм 4. Площадь ядер (ПЯкмц), мкм <sup>2</sup> 5. Количество ядер, шт 6. Количество многоядерных кардиомиоцитов, шт 7. Индекс отношения толщины ядра КМЦ к толщине КМЦ (ТЯкмц, мкм/Ткмц, мкм) 8. Толщина стенки ЛЖ (ТЛЖ), мкм
Соединительная ткань	1. Площадь (Пскл), мкм <sup>2</sup> 2. Площадь периваскулярного склероза (ПВС), мкм <sup>2</sup>
Сосуды артериального типа	1. Толщина стенки (ТСс), мкм 2. Диаметр просвета (ДПс), мкм 3. Индекс Керногана (ИК), (толщина стенки сосуда/диаметр просвета сосуда)
Капилляры микроциркуляторного русла	1. Площадь просветов капилляров (Пкап), мкм <sup>2</sup> 2. Количество капилляров, шт 3. Отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов (Пкап, мкм <sup>2</sup> /Пкмц, мкм <sup>2</sup> )

Производили вычисление мер центральной тенденции: медиану и среднее значение. Вычисляли меры рассеяния: доверительный интервал, рассчитывали стандартную ошибку среднего, а также среднее квадратическое отклонение.

В таблице 3 представлены проверяемые гипотезы и использованные методы статистического анализа.

Таблица 3 – Статистические методы и проверяемые гипотезы, примененные в настоящем диссертационном исследовании

Гипотеза	Статистический метод
Сравнение связанных между собой групп (одни и те же группы исследования на различных сроках – 2 и 4 месяца после операции по количественным признакам ТЛЖ, Ткмц, Пкмц, ПЯкмц, Пскл, ПВС, ТСс, ДПс, ИК, Пкап, ТЯкмц/Ткмц), Пкап, $\text{мкм}^2/\text{Пкмц}$ , $\text{мкм}^2$ .	t-тест Стьюдента – метод сравнения парных выборок с нормальным распределением
Сравнение независимых групп по количественным признакам ТЛЖ, Ткмц, Пкмц, ПЯкмц, Пскл, ПВС, ТСс, ДПс, ИК, Пкап, ТЯкмц/Ткмц, Пкап, $\text{мкм}^2/\text{Пкмц}$ , $\text{мкм}^2$ на каждом сроке наблюдения (2 и 4 месяца после операции).	t-тест Стьюдента

Примечание: Ткмц – толщина кардиомиоцита, мкм; Пкмц – площадь кардиомиоцитов,  $\text{мкм}^2$ ; ТЯкмц – толщина ядер кардиомиоцитов, мкм; ПЯкмц – площадь ядра кардиомиоцита,  $\text{мкм}^2$ ; ТЯкмц,  $\text{мкм}/\text{Ткмц}$  – отношение толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита; ТЛЖ – толщина стенки левого желудочка, мкм; Пскл – площадь склероза,  $\text{мкм}^2$ ; ПВС – площадь периваскулярного склероза,  $\text{мкм}^2$ ; ТСс – толщина стенки, мкм; ДПс – диаметр просвета, мкм; ИК – индекс Керногана, толщина стенки сосуда/диаметр просвета сосуда; Пкап – площадь просветов капилляров,  $\text{мкм}^2$ ; Пкап,  $\text{мкм}^2/\text{Пкмц}$ ,  $\text{мкм}^2$  – отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов.

2. Производилось сравнение групп в зависимости от вида распределения признаков по количественным признакам с использованием непараметрических или параметрических критериев:

А) осуществлялась оценка статистической значимости изменений абсолютного значения основных, а также косвенных признаков гипертрофии кардиомиоцитов, склероза в строме, изменений в крупных сосудах и микроциркуляторном русле (ТЛЖ, Ткмц, Пкмц, ПЯкмц, Пскл, ПВС, ТСс, ДПс,

ИК, Пкап, ТЯкмц/Ткмц) изолированно в экспериментальной и изолированно в контрольных группах.

Б) была произведена оценка статистической значимости различий абсолютных значений (ТЛЖ, Ткмц, Пкмц, ПЯкмц, Пскл, ПВС, ТСс, ДПс, ИК, Пкап, ТЯкмц/Ткмц) между группами в каждый из анализируемых периодов (2 и 4 месяца после операции).

В) Оценка статистической значимости различий в приросте (ТЛЖ, Ткмц, Пкмц, ПЯкмц, Пскл, ПВС, ТСс, ДПс, ИК, Пкап, ТЯкмц/Ткмц) между группами в каждый из анализируемых периодов (сроки 2 и 4 месяца после нефрэктомии).

Обработку данных результатов статистического анализа исследования производили на компьютере Dell Inspiron Core™ i7 2.00GHz. с использованием лицензионного софта Microsoft Excel 2010 и Statistica 10.0. Для выявления значимых различий между средними показателями различных совокупностей сопоставимых групп были применены методы статистического анализа с использованием t-критерия Стьюдента. Данные считали достоверными при  $p < 0,05$ .

### ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ. ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В МИОКАРДЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ ЖИВОТНЫХ

#### 3.1. Морфологические изменения в миокарде крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

Первая часть эксперимента выполнена на крысах стока Wistar. В ней был решен вопрос о том, имеются ли структурные отличия в миокарде при увеличении сроков длительности ХПН в сравнении ложнооперированными крысами.

##### 3.1.1. Результаты биохимических изменений сыворотки крови крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

О развитии почечной недостаточности у экспериментальных животных с нефрэктомией свидетельствует повышение уровня креатинина к концу 2 месяца до  $0,07 \pm 0,03$  мкмоль/ли и мочевины крови до  $16,2 \pm 0,36$  ммоль/л, что было достоверное выше, чем в группе ложнооперированных животных ( $p=0,050$  и  $p=0,010$  соответственно).

На сроке наблюдения 4 месяца в группе с нефрэктомией было отмечено дальнейшее нарастание показателей креатинина и мочевины до  $0,83 \pm 0,01$  мкмоль/л и  $18,4 \pm 4,7$  ммоль/л соответственно. На этом фоне также определяется прогрессирующая гиперфосфатемия до  $2,55 \pm 0,24$  ммоль/л к 4 месяцу ХПН и транзиторная гипокальциемия с достижением значения на сроке ХПН 2 месяца показателя  $0,92 \pm 0,09$  ммоль/л, с последующей нормализацией концентрации в конце 4 месяца на уровне  $2,44 \pm 0,11$  ммоль/л (таблица 4).

### 3.1.2. Изменения массы миокарда и толщины стенки левого желудочка сердца крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

Уровень системного АД нарастал при прогрессировании ХПН и его значение у животных с НЭ к концу 2 месяца составило  $151,5 \pm 8,8$  мм рт.ст. (в группе контроля  $121,15 \pm 1,8$  мм рт.ст.), а к концу 4 месяца –  $158,7 \pm 11,2$  мм рт.ст. (в группе контроля  $124,3 \pm 7,07$  мм рт.ст.). При этом статистически значимые отличия наблюдались на сроке ХПН 2 и 4 месяца по сравнению с ложнооперированными животными ( $p=0,001$  и  $p=0,002$  соответственно) (рисунок 5) (таблица 5).

Таблица 4 – Средние значения уровня креатинина, мочевины, кальция и фосфора в плазме крови экспериментальных животных

Wistar Параметр	НЭ 5/6, $M \pm \text{ст.откл}$		ЛО, $M \pm \text{ст.откл}$		Межгрупповые различия, р.	
	2 месяца n=11	4 месяца n=7	2 месяца n=5	4 месяца n=5	2 месяца	4 месяца
Креатинин, мкмоль/л	$0,07 \pm 0,03$	$0,083 \pm 0,01$	$0,04 \pm 0,001$	$0,03 \pm 0,0005$	0,050	0,000
Мочевина, ммоль/л	$16,2 \pm 0,36$	$18,4 \pm 4,7$	$6,2 \pm 0,5$	$6 \pm 0,67$	0,010	0,000
Кальций, ммоль/л	$0,92 \pm 0,09$	$2,44 \pm 0,11$	$2,32 \pm 0,15$	$2,41 \pm 0,07$	0,000	0,701
Фосфор, ммоль/л	$2,59 \pm 0,09$	$2,55 \pm 0,24$	$1,72 \pm 0,10$	$2,07 \pm 0,08$	0,010	0,006

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия.

Установлено, что на сроке НЭ 2 месяца происходит значимое увеличение массы сердца крыс до  $901,2 \pm 77,4$  мг в сравнении с показателями контрольной группы ( $719,5 \pm 63,9$  мг;  $p=0,000$ ), значимо нарастает толщина стенки ЛЖ

( $2267,7 \pm 194,4$  мкм). При увеличении срока длительности ХПН до 4 месяцев масса сердца увеличивается незначительно –  $901,2 \pm 77,4$  мг в сравнении с экспериментальной группой с длительностью ХПН 2 месяца ( $p=0,383$ ). То же происходит и с показателем толщины миокарда стенки левого желудочка – толщина стенки левого желудочка у животных с НЭ 4 месяца увеличивается до  $2323,8 \pm 382,23$  мкм ( $p=0,300$ ).

Таблица 5 – Средние значения массы сердца, толщины стенки левого желудочка и системного артериального давления

Wistar Параметр	НЭ 5/6, $M \pm \text{ст.откл}$		ЛО, $M \pm \text{ст.откл}$		Межгрупповые различия, p	
	2 месяца n=11	4 месяца n=7	2 месяца n=5	4 месяца n=5	2 месяца	4 месяца
Масса сердца, мг	$850,6 \pm 52,5$	$901,2 \pm 77,48$ $p=0,383$	$719,5 \pm 63,9$	$1089,7 \pm 50,3$ $p=0,002$	0,000	0,004
ТЛЖ, мкм	$2267,7 \pm 194,4$	$2323,8 \pm 382,2$ $p=0,300$	$1667,0 \pm 384,9$	$2026,80 \pm 264,5$ $p=0,002$	0,000	0,000
АД, мм рт.ст.	$151,5 \pm 8,8$	$158,7 \pm 11,2$ $p=0,257$	$121,15 \pm 1,8$	$124,3 \pm 7,07$ $p=0,238$	0,001	0,002
Пкмц, $\text{мкм}^2$	$18142 \pm 5870,5$	$14886,6 \pm 5059,1$ $p=0,015$	$22817,7 \pm 2234,9$	$13857,6 \pm 6701,4$ $p=0,016$	0,055	0,096

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; ТЛЖ – толщина стенки левого желудочка; Пкмц – площадь кардиомиоцитов.

К примеру, в сравнении с контрольной группой (ложнооперированные крысы, 4 месяца) показатели массы сердца и толщины миокарда стенки левого желудочка значимо отличаются (масса сердца и толщина стенки левого

желудочка в группе ложнооперированных крыс –  $1089,7 \pm 50,3$  мг ( $p=0,004$ ) и  $2026,8 \pm 264,5$  ( $p=0,000$ ) соответственно (рисунок 6).

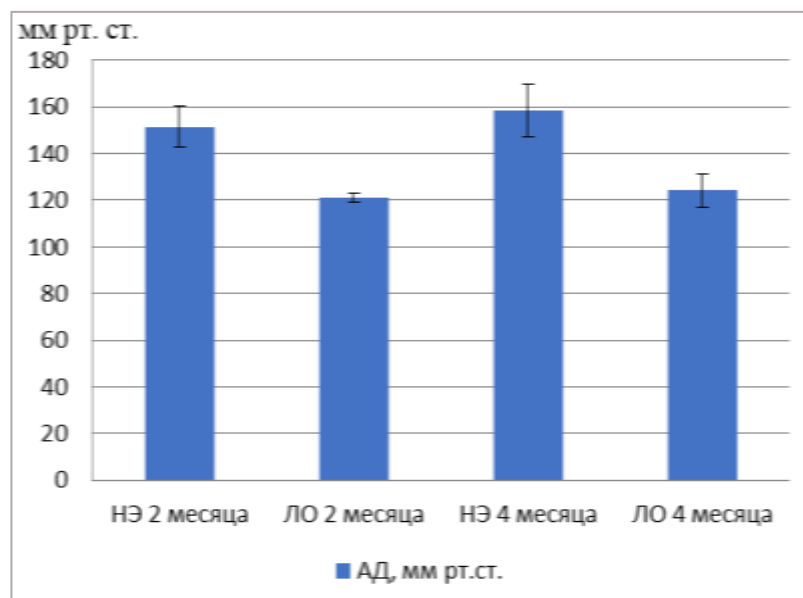


Рисунок 5. Показатели системного АД у крыс с длительностью ХПН 2 и 4 месяца.

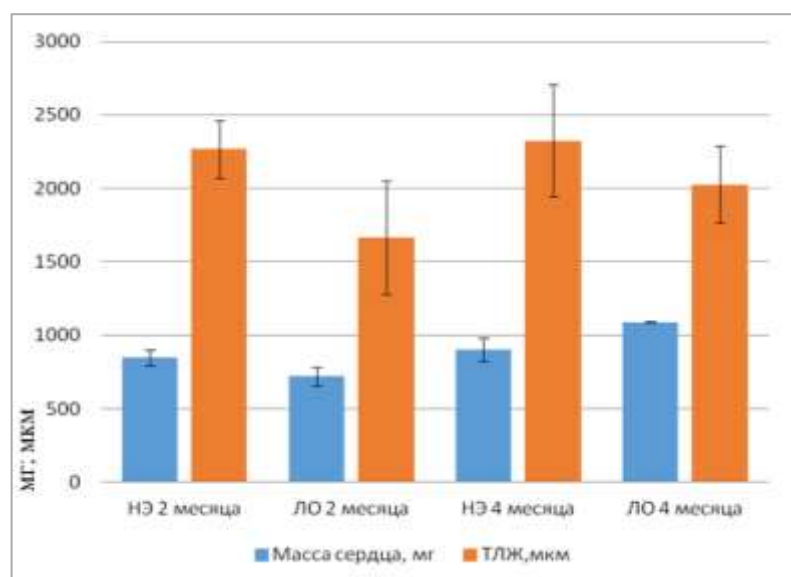


Рисунок 6. Показатели массы сердца и толщины стенки левого желудочка (ТЛЖ) миокарда крыс при длительности ХПН 2 и 4 месяца.

В этом контексте стоит отметить снижение показателя площади кардиомиоцитов в группах крыс с НЭ. Так в группе с НЭ 2 месяца площадь кардиомиоцитов уменьшилась до  $18142,03 \pm 5870,5$  мкм<sup>2</sup> в сравнении с

ложнооперированными крысами ( $22817,7 \pm 2234,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,055$ ), а в группе с НЭ 4 месяца составила уже  $14886,6 \pm 5059,1$  мкм<sup>2</sup> ( $p=0,015$ ) (рисунок 7).

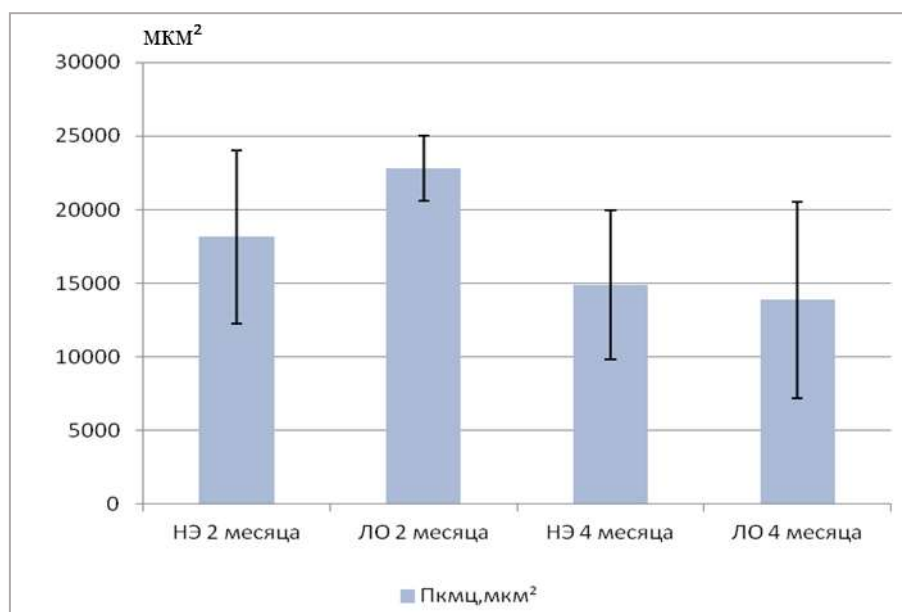


Рисунок 7. Показатели площади кардиомиоцитов (Пкмц) миокарда крыс при длительности ХПН 2 и 4 месяца.

### 3.1.3. Морфологические изменения кардиомиоцитов миокарда крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

Уже через 2 месяца после НЭ в цитоплазме гипертрофированных кардиомиоцитов наблюдаются обратимые гистологические признаки повреждения. В некоторых полях зрения регистрируются кардиомиоциты с признаками белковой дистрофии, что проявляется зернистостью в отдельных участках цитоплазмы, разволокнением и фрагментацией отдельных кардиомиоцитов. Диффузно определяются единичные кардиомиоциты и группы кардиомиоцитов с участками миоцитолиза. В строме миокарда выявляется умеренный перимизиальный и периваскулярный отек (рисунок 8).

При ХПН длительностью 4 месяца отмечается нарастание степени гипертрофии кардиомиоцитов и дистрофических изменений в их цитоплазме.



Очаги миоцитолиза регистрируются как в периваскулярной зоне, так и в продольных срезах миокарда (рисунок 9).

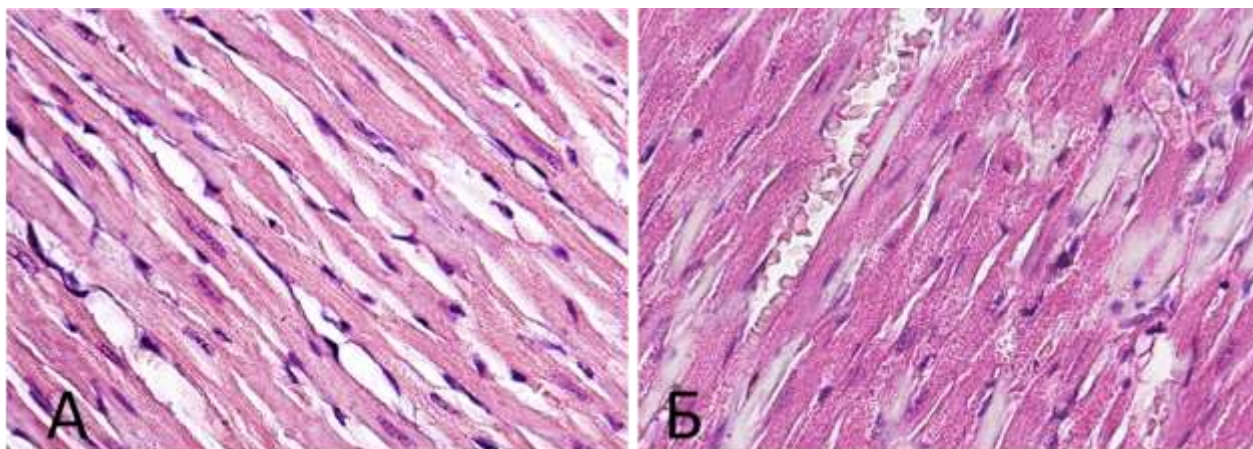


Рисунок 8. Миокард крысы: А – ложнооперированная крыса 2 месяца, Б – крыса с нефрэктомией (ХПН 2 месяца); утолщенные волокна кардиомиоцитов с участками гомогенизации цитоплазмы (\*). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

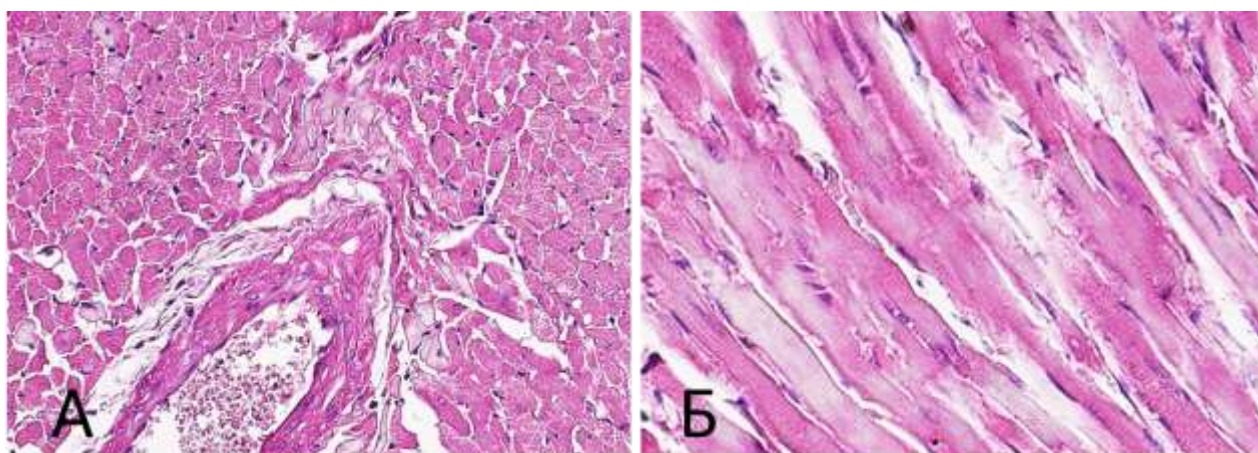


Рисунок 9. Участки миокарда крысы с ХПН 4 месяца. А – миоцитолиз в кардиомиоцитах периваскулярной зоны; Б – участки миоцитолиза и выраженная гипертрофия кардиомиоцитов. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.: А – 200, Б – 400.

При исследовании в поляризованном свете наблюдаются участки пересокращения в мышечных волокнах, что может отражать увеличение проницаемости для ионов кальция. Контрактурные изменения носят различную

степень выраженности, максимальная из которых соответствуют сегментарным контрактурам II степени (сближение анизотропных дисков, укорочение изотропных дисков, сохранение поперечной исчерченности) (Непомнящих Л.М., 1996) (рисунок 10).

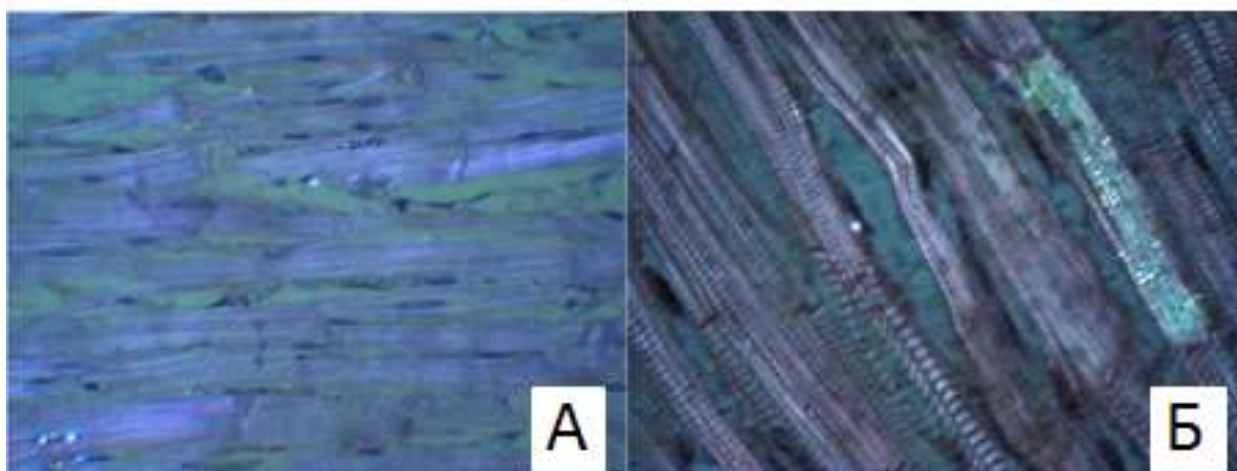


Рисунок 10. Контрактурные изменения кардиомиоцитов у крысы через 4 месяца после нефрэктомии. Окраска гематоксилином и эозином. Съемка в поляризованном свете. Ув.: А – 200, Б – 400.

Во всех группах исследования ни в одном из микроскопических препаратов миокарда не было выявлено признаков воспаления.

Через 2 месяца после нефрэктомии толщина кардиомиоцитов достигла значения  $12,5 \pm 1,5$  мкм и была больше, чем у крыс соответствующей контрольной группы ( $11,9 \pm 2,9$  мкм;  $p=0,131$ ). Отмечается значительное увеличение толщины кардиомиоцитов у крыс с ХПН длительностью 4 месяца ( $14,9 \pm 3,11$  мкм), что значимо больше, чем у крыс длительностью ХПН 2 месяца ( $p=0,008$ ) и у крыс соответствующей контрольной группы ( $p=0,000$ ) (таблица 6) (рисунок 11).

При длительности ХПН 2 месяца отмечается снижение показателя площади ядра кардиомиоцита ( $31,4 \pm 7,8$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,257$ ) в сравнении с соответствующей контрольной группой ( $33,9 \pm 7,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,055$ ). Однако при увеличении длительности ХПН до 4 месяцев регистрируется нарастание показателя площади ядра кардиомиоцита до  $34,1 \pm 8,1$  мкм<sup>2</sup>, что значимо больше в сравнении с группой с НЭ 2 месяца ( $31,4 \pm 7,8$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,008$ ) и в сравнении с группой

ложнооперированных крыс на сроке 4 месяца ( $28,0 \pm 10,1$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,017$ ). При увеличении длительности ХПН до 4 месяцев отмечается нарастание полиморфизма ядер кардиомиоцитов.

Таблица 6 – Средние показатели толщины кардиомиоцита, площади ядра кардиомиоцита и индекса отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита

Wistar Параметр	НЭ 5/6, $M \pm \text{ст.откл}$		ЛО, $M \pm \text{ст.откл}$		Межгрупповые различия, p	
	2 месяца n=11	4 месяца n=7	2 месяца n=5	4 месяца n=5	2 месяца	4 месяца
Ткмц, мкм	$12,5 \pm 1,5$	$14,1 \pm 3,1$ $p=0,008$	$11,9 \pm 2,073$	$12,3 \pm 2,9$ $p=0,000$	0,131	0,000
ТЯкмц, мкм	$3,4 \pm 0,5$	$3,6 \pm 0,6$ $p=0,701$	$3,8 \pm 0,6$	$3,5 \pm 0,9$ $p=0,000$	0,055	0,869
ПЯкмц, мкм <sup>2</sup>	$31,4 \pm 7,8$	$34,1 \pm 8,1$ $p=0,231$	$33,9 \pm 7,9$	$28,0 \pm 10,1$ $p=0,060$	0,257	0,017
ТЯкмц, мкм/ Ткмц, мкм	0,27 $\pm 0,04$	$0,23 \pm 0,03$ $p=0,030$	$0,32 \pm 0,1$	$0,31 \pm 0,1$ $p=0,979$	0,032	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; Ткмц – толщина кардиомиоцита; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; ТЯкмц – толщина ядра кардиомиоцита; ПЯкмц – площадь ядра кардиомиоцита; ТЯкмц, мкм/Ткмц – отношение толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита.

Характерно наличие округлых крупных ядер наряду с вытянутыми. В некоторых двуядерных кардиомиоцитах определяются наслаивающиеся друг на друга контуры ядер различных размеров (рисунок 12) (рисунок 13).



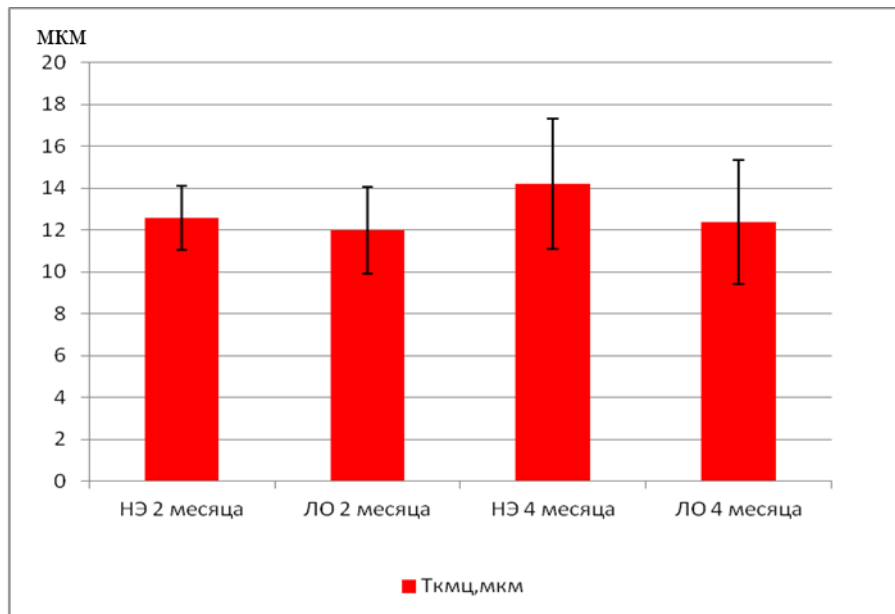


Рисунок 11. Изменения толщины кардиомиоцитов (Ткмц) при длительности ХПН 2 и 4 месяца.

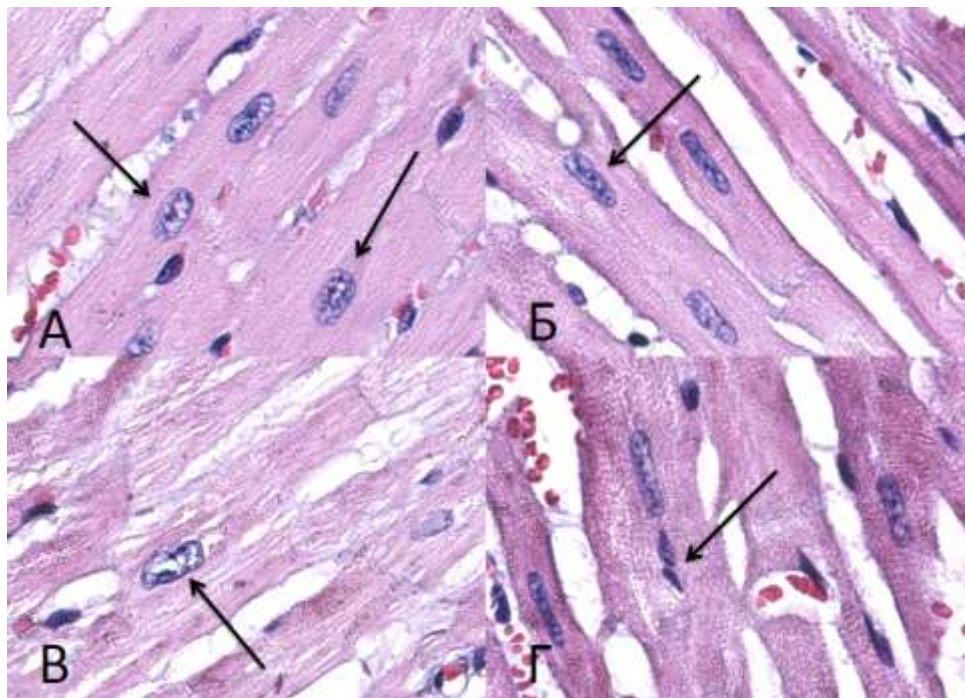


Рисунок 12. Миокард крысы через 4 месяца после нефрэктомии. А – нарастание размера и полиморфизма ядер кардиомиоцитов; Б – наслоение контуров ядер в двуядерном кардиомиоците; В – вакуолизация ядра кардиомиоцита; Г – мелкие гиперхромные ядра кардиомиоцита. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

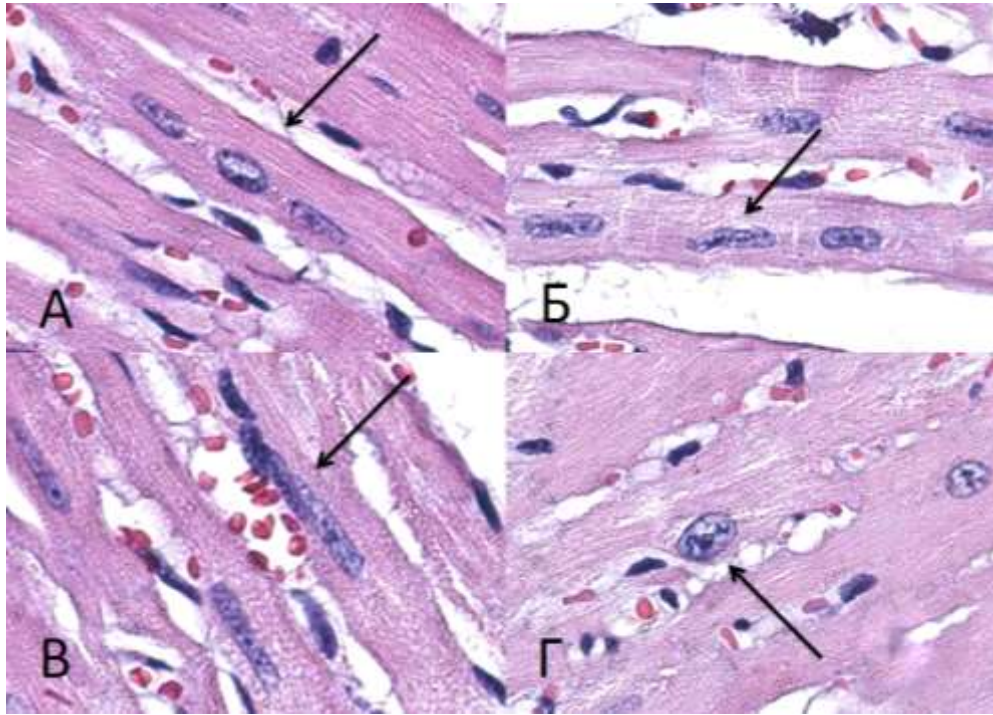


Рисунок 13. Миокард крысы через 4 месяца после нефрэктомии. А, Б – трехъядерный кардиомиоцит; В – экстррузия ядер кардиомиоцита в межклеточное пространство (кардиомиоцит с 6-тью ядрами); Г – конденсация хроматина в ядре кардиомиоцита. Окраска гематоксилином и эозином. Ув.400.

В гипертрофированных ядрах отчетливо видны ядрышки. Отмечено снижение показателя толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита в группах с НЭ на сроках 2 месяца ( $0,27 \pm 0,04$ ) и 4 месяца ( $0,23 \pm 0,03$ ) в сравнении с соответствующими контрольными группами ( $0,32 \pm 0,10$ ;  $p=0,032$ ) и ( $0,31 \pm 0,11$ ;  $p=0,000$ ). При этом данный показатель значимо снижается при увеличении срока ХПН с 2-х до 4 месяцев ( $p=0,030$ ) (рисунок 14).

При подсчете количества ядер в каждом отдельном кардиомиоците в группах с НЭ 2 и 4 месяца отмечается нарастание количества одноядерных кардиомиоцитов (93% и 92% в сравнении с группами ложнооперированных крыс (81% и 90% соответственно). Также в группах с НЭ 2 и 4 месяца регистрируются трехъядерные кардиомиоциты (0,4% и 1% соответственно) и единичные кардиомиоциты с количеством ядер до 6-ти (рисунок 15).

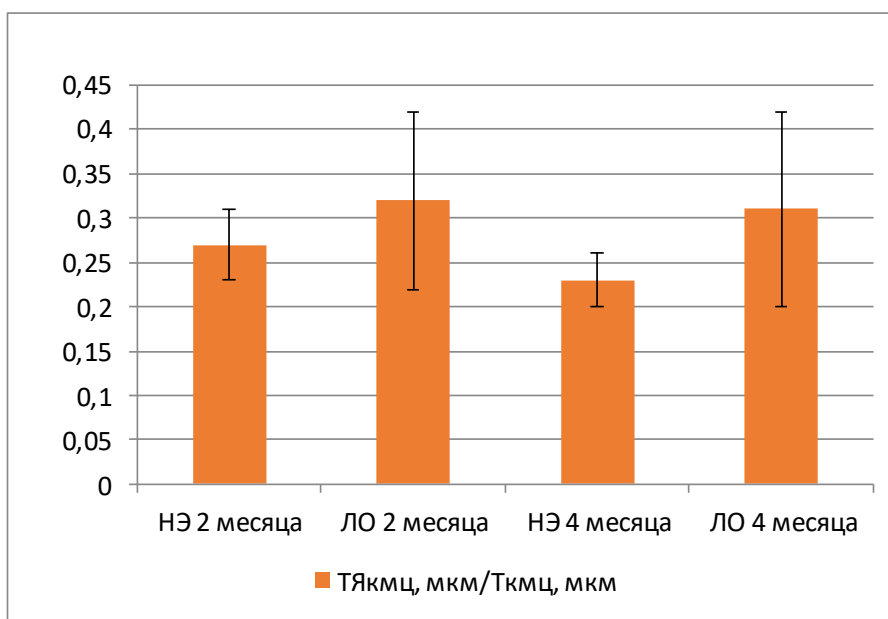


Рисунок 14. Динамика показателя отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита (ТЯкмц, мкм/Ткмц, мкм) в группах с НЭ 2 и 4 месяца и в контрольных группах.

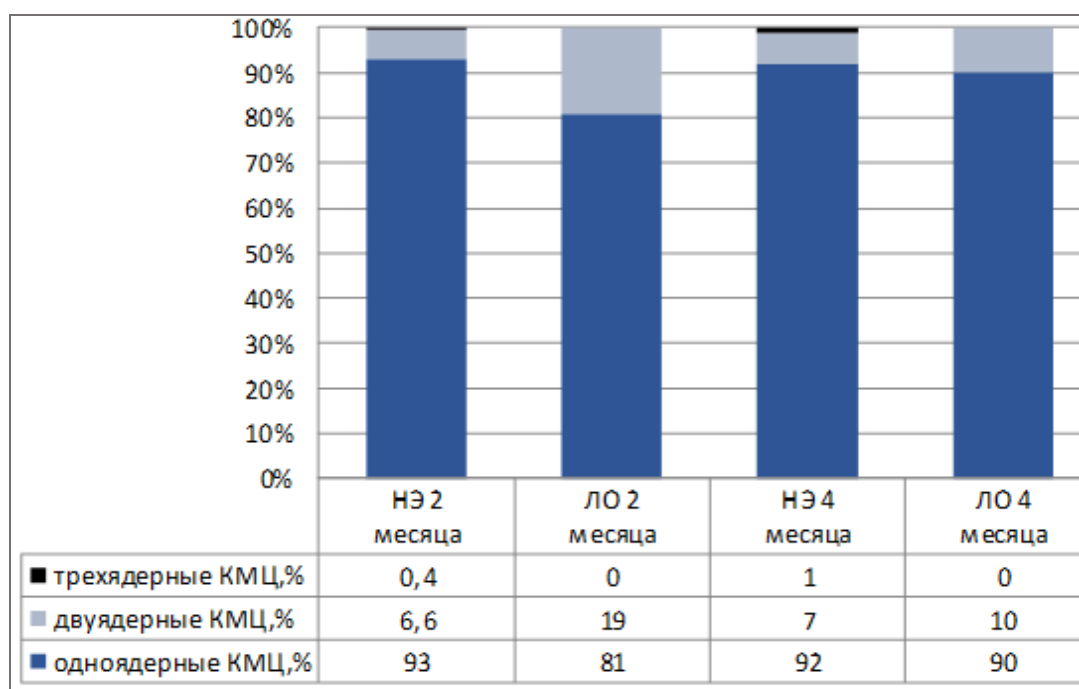


Рисунок 15. Отношение однойдерных и многоядерных кардиомиоцитов (КМЦ, %) в контрольных группах (ЛО) и в группах с НЭ 2 и 4 месяца.

### 3.1.4. Морфологические изменения капиллярного русла в миокарде крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

В микрофотографиях поперечных срезов кардиомиоцитов измерялась площадь функционирующих («открытых») капилляров (в них отчетливо определялся просвет, в котором можно было часто видеть эритроциты). Нефункционирующими капиллярами («закрытыми») считали те, в которых при ИГХ-исследовании с антителами к CD31 отчетливо окрашивались ядра эндотелиоцитов, просвет капилляра достоверно не определялся. Из полей зрения исключались крупные сосуды, участки очагового склероза (рисунок 16.).

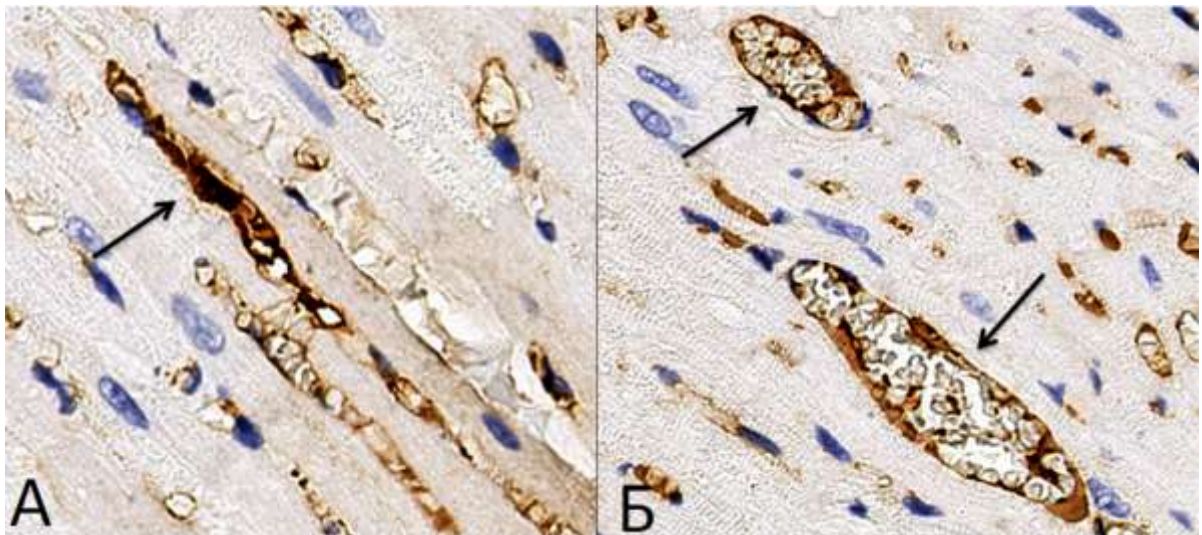


Рисунок 16. Миокард крысы с ХПН длительностью 4 месяца. А – нефункционирующий «закрытый» капилляр; Б – функционирующие «открытые» капилляры. Иммуногистохимическая реакция с антителами к CD31. Ув. 400.

В группе крыс с ХПН длительностью 2 месяца наблюдается увеличение площади открытых капилляров ( $1902,8 \pm 202,9$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с ложнооперированными крысами ( $730,4 \pm 58,2$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,000$ ). При этом количество открытых капилляров уменьшается (НЭ 2 месяца –  $n=247$ , контрольная группа 2 месяца –  $n=412$ ). При увеличении срока длительности ХПН до 4 месяцев сохраняется тенденция к увеличению показателя площади капилляров и их



количества в сравнении с группой крыс с НЭ 2 месяца ( $2139,1 \pm 396,5$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,120$ ).

Однако их количество ( $n=339$ ) и площадь значительно не меняется в сравнении с контрольной группой крыс (контрольная группа 4 месяца –  $2197 \pm 230,4$  мкм<sup>2</sup>;  $n=352$ ;  $p=0,570$ ). Следует отметить нарастание показателя площади сечения отдельно взятого капилляра (среднего значение). Так в группах с НЭ 2 и 4 месяца он составил  $231,4 \pm 317,4$  мкм<sup>2</sup> и  $198,4 \pm 424,8$  мкм<sup>2</sup>, тогда как в контрольных группах  $52,4 \pm 34,6$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,000$  и  $182,3 \pm 196,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,520$  соответственно (таблица 7).

Таблица 7 – Средние значения общей площади капилляров, площади просвета одного капилляра, площади кардиомиоцитов и отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов

Wistar Параметр	НЭ 5/6, М $\pm$ ст.откл		ЛО, М $\pm$ ст.откл		Межгрупповые различия, р	
	2 месяца n=11	4 месяца n=7	2 месяца n=5	4 месяца n=5	2 месяца	4 месяца
Пкап, мкм <sup>2</sup>	$1902,8 \pm 202,9$ n = 247	$2139,1 \pm 396,5$ p=0,120 n = 339	$730,4 \pm 58,2$ n = 412	$2197 \pm 230,4$ p=0,000 n = 352	0,000	0,570
Площадь просвета капилляра, мкм <sup>2</sup>	$231,4 \pm 317,4$ n = 247	$198,4 \pm 428,8$ p=0,535 n = 339	$52,4 \pm 34,6$ n = 412	$182,3 \pm 196,9$ p=0,000 n = 352	0,000	0,520
Пкмц, мкм <sup>2</sup>	$18142 \pm 5870,5$	$14886,6 \pm 5059,1$ p=0,015	$22817,7 \pm 2234,9$	$13857,6 \pm 6701,4$ p=0,016	0,055	0,096
Пкап, %/ Пкмц, %	0,109	0,129	0,033	0,033		

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; Пкап – площадь просветов капилляров; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; Пкап, мкм<sup>2</sup>/Пкмц, мкм<sup>2</sup> – отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов.



Отмечается нарастание удельного объёма капилляров в конце второго месяца у крыс с НЭ до 10% по сравнению с крысами соответствующей контрольной группы (3%). При ХПН длительностью 4 месяца (13%) данный показатель практически не отличается от ложнооперированных крыс (12%). При этом отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов в группах с НЭ резко возрастало (2 месяца – 0,109; 4 месяца – 0,140) по сравнению с крысами контрольной группы, где этот показатель в обеих группах составил 0,033 (рисунок 17).

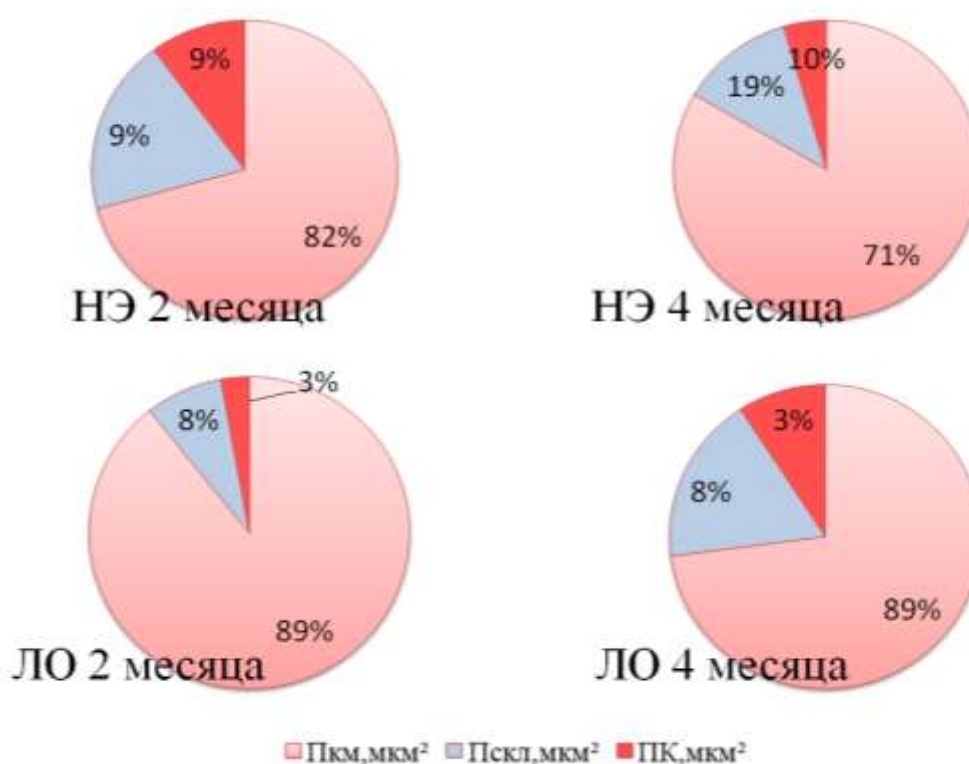


Рисунок 17. Отношение площади функционирующих капилляров (ПК), площади кардиомиоцитов (Пкм) и площади склероза (Пскл) в контрольных группах (ЛО) и в группах с НЭ 2 и 4 месяца.

При ИГХ-исследовании в небольшом количестве полей зрения определяется окрашивание ядер эндотелиоцитов с маркером пролиферации Ki-67 (рисунок 18).

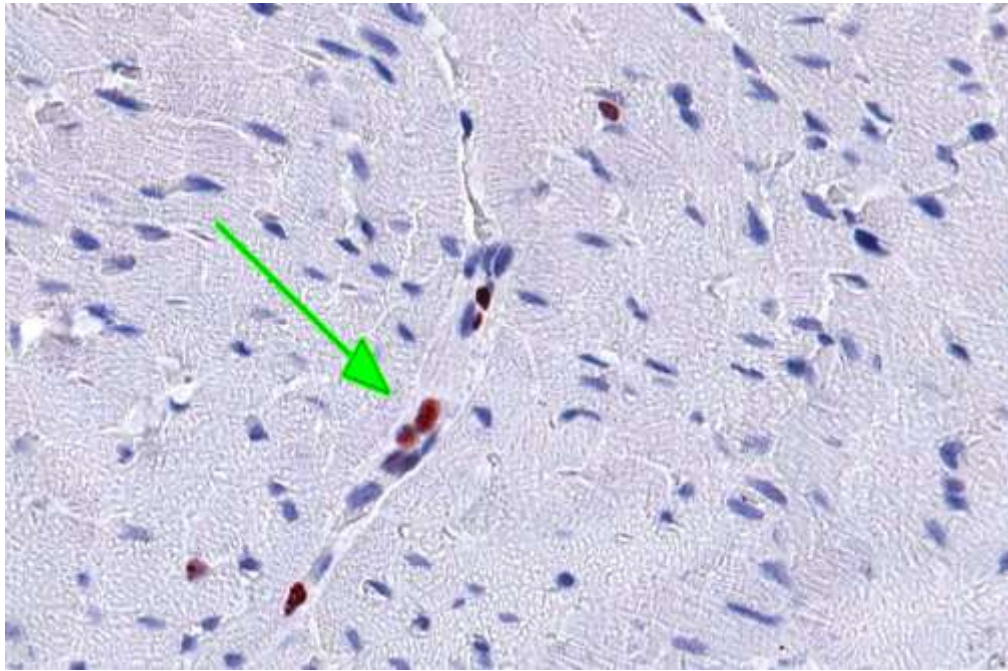


Рисунок 18. Проллиферативная активность в эндотелиоцитах нефункционирующих капилляров в миокарде крыс с НЭ 2 месяца (окрашивание ядер кардиомиоцитов с антителами к Ki-67). Иммуногистохимическая реакция. Ув. 400.

### 3.1.5. Морфологические изменения сосудов миокарда крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

Характерные изменения стенок сосудов артериального типа наблюдаются у крыс с НЭ на сроках 2 и 4 месяца. Наиболее значимые изменения проявляются в выраженном утолщении стенок сосудов за счет гипертрофии гладкомышечных клеток и развитии микроскопических признаков спазма сосудов (округлая форма сосуда, извитой ход внутренней эластической мембраны). При этом изменения со стороны эндотелиальной выстилки включают в себя набухание эндотелиальных клеток, что придает интима сосудов вид «частокола»; сдувание эндотелиоцитов в просвет сосудов. К основным изменениям в артериях миокарда у крыс с длительностью ХПН 4 месяца относится развитие выраженного периваскулярного фиброза. При ИГХ-исследовании маркера пролиферации Ki-67 в стенке артерий окрашивание отдельных ядер гипертрофированных

гладкомышечных клеток (рисунок 19, рисунок 20). Отмечается 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 обусловлено нарастающей гипертрофией стенок артерий (НЭ 2 месяца –  $22,7 \pm 7,5$  мкм; НЭ 4 месяца –  $26,4 \pm 17,6$  мкм) и развитием в них морфологических признаков спазма. Данные изменения в совокупности с эндотелиальной дисфункцией могут приводить к нарушению микроциркуляции в миокарде и усилению гипоксических повреждений (таблица 8).

Таблица 8 – Изменения параметров стенок сосудов артериального типа миокарда крыс

Wistar Параметр	НЭ 5/6, М $\pm$ ст.откл		ЛО, М $\pm$ ст.откл		Межгрупповые различия, р	
	2 месяца n=11	4 месяца n=7	2 месяца n=5	4 месяца n=5	2 месяца	4 месяца
ТСс, мкм	$22,7 \pm 7,5$	$26,4 \pm 17,6$ $p=0,000$	$19,7 \pm 8,5$	$17,6 \pm 5,1$ $p=0,000$	0,000	0,000
ДПс, мкм	$31,6 \pm 15,6$	$61,7 \pm 27,9$ $p=0,000$	$77,3 \pm 14,3$	$79,9 \pm 14,3$ $p=0,438$	0,000	0,000
Индекс Керногана	$0,31 \pm 0,1$	$0,49 \pm 0,1$ $p=0,000$	$0,17 \pm 0,06$	$0,25 \pm 0,05$ $p=0,000$	0,000	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; ТСс – толщина стенки; ДПс – диаметр просвета.



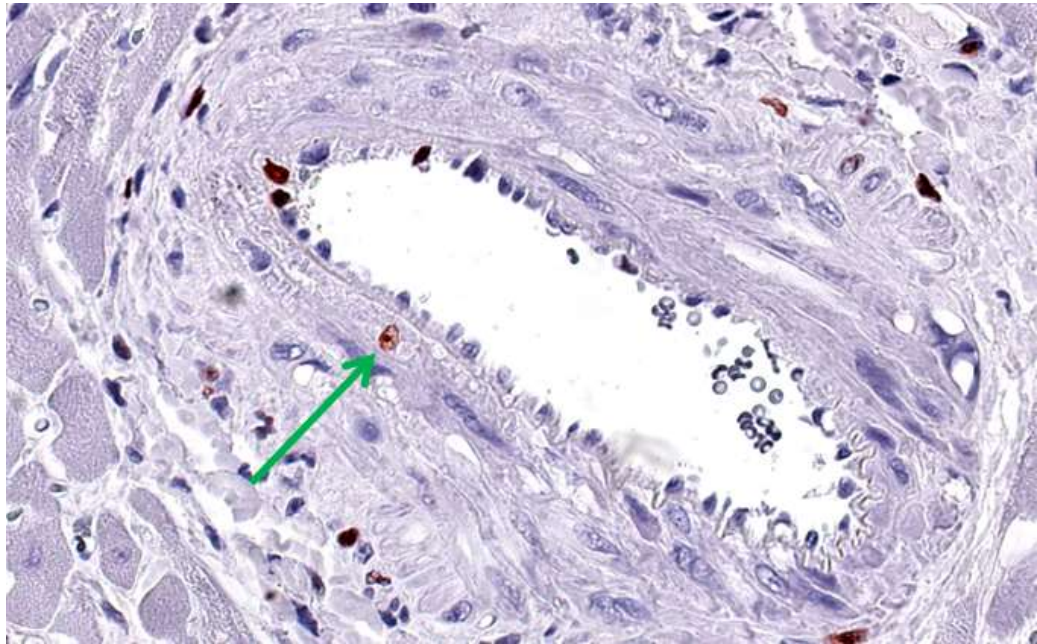


Рисунок 19. Проллиферативная активность в ядрах гладкомышечных клеток в стенке артерий. Миокард крысы, длительность ХПН 2 месяца. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67. Ув. 400.

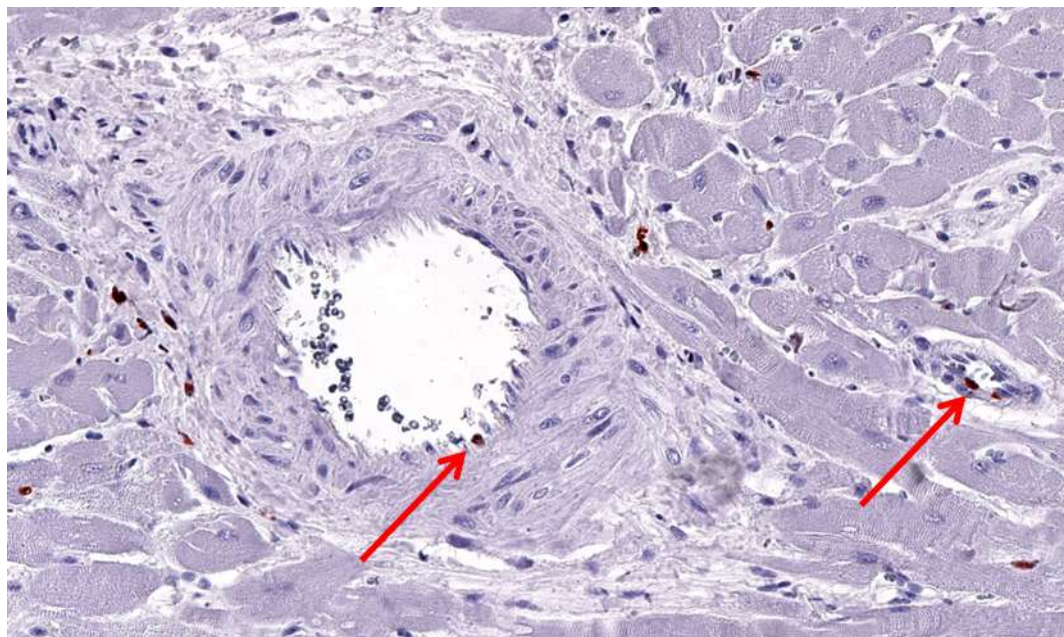


Рисунок 20. Проллиферативная активность в ядрах эндотелиальных клеток в интима артерий. Выраженный периваскулярный склероз. Миокард крысы, длительность ХПН 4 месяца. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67. Ув. 400.



### 3.1.6. Морфологическая характеристика склеротических изменений в миокарде крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

К концу 2 месяца ХПН определяется увеличение объёма соединительной ткани преимущественно в периваскулярной области. При увеличении длительности ХПН периваскулярный склероз нарастает, появляются диффузные очаги склероза среди кардиомиоцитов (рисунок 21, рисунок 22., рисунок 23).

В группе с длительностью ХПН 4 месяца склеротические изменения более выражены – площадь, занятая соединительной тканью составляет  $4008,1 \pm 2185,7$   $\text{мкм}^2$ , что значимо больше, чем у животных с длительностью ХПН 2 месяца ( $2007,3 \pm 1176,5$   $\text{мкм}^2$ ;  $p=0,000$ ) и соответствующей контрольной группе ( $2517,8 \pm 919,8$   $\text{мкм}^2$ ;  $p=0,020$ ) (таблица 9).

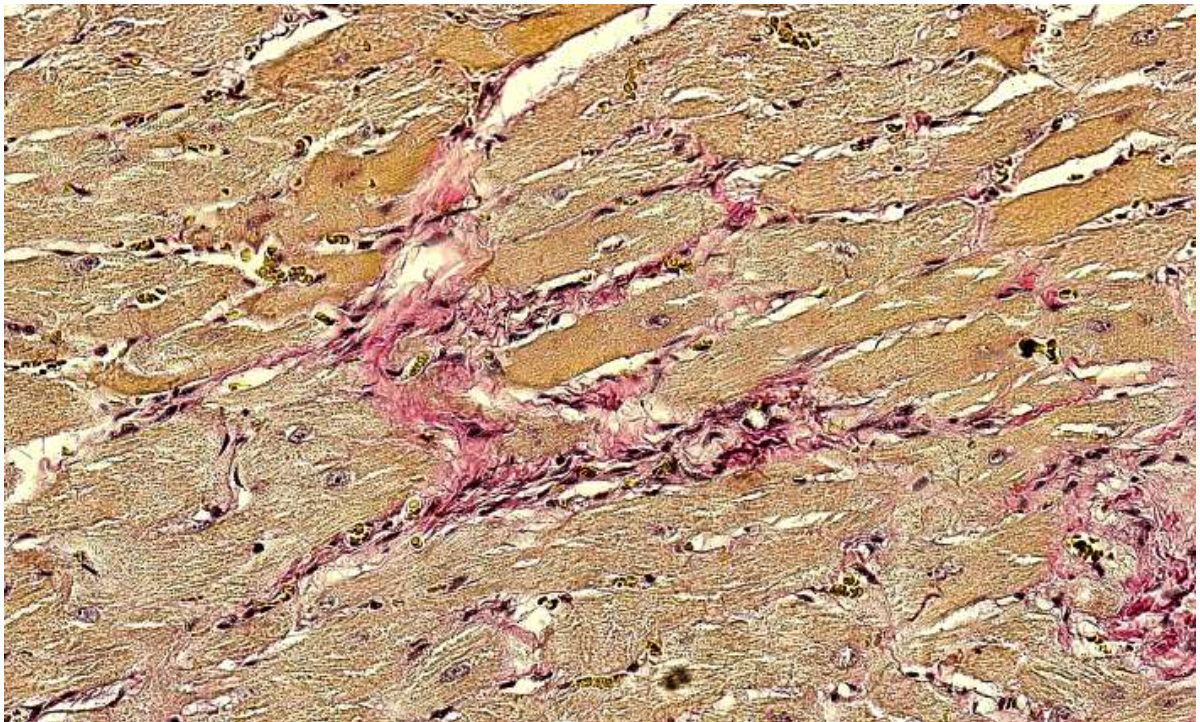


Рисунок 22. Диффузный склероз. Миокард крысы, длительность ХПН 4 месяца. Окраска пикрофуксином по ван Гизону. Ув. 400.



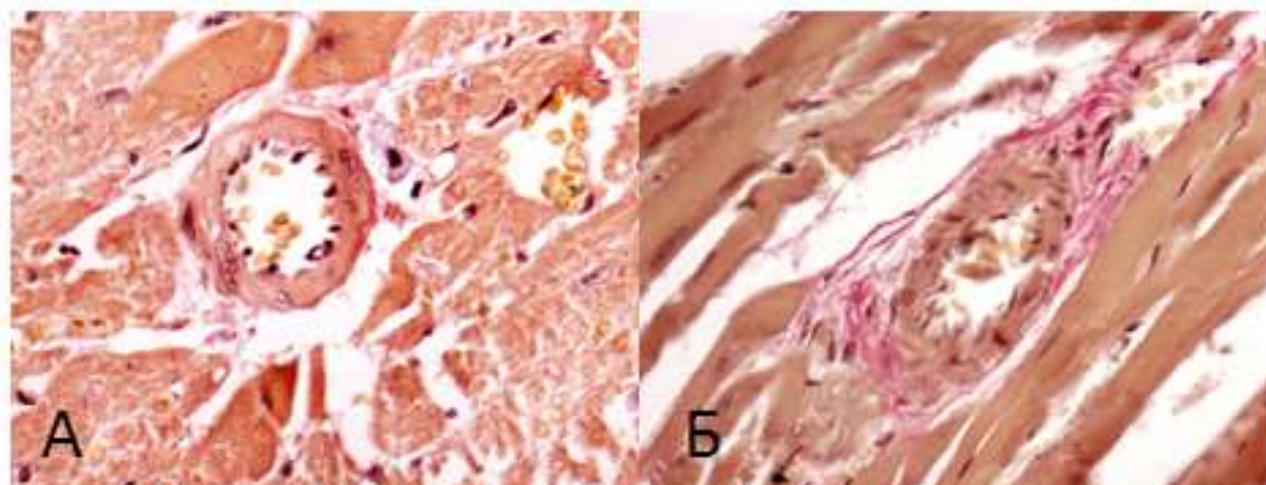


Рисунок 21. Периваскулярный склероз. Миокард крысы, А – группа контроля (2 месяца), Б – ХПН (длительность 2 месяца). Окраска пикрофуксином по ван Гизону. Ув. 400.

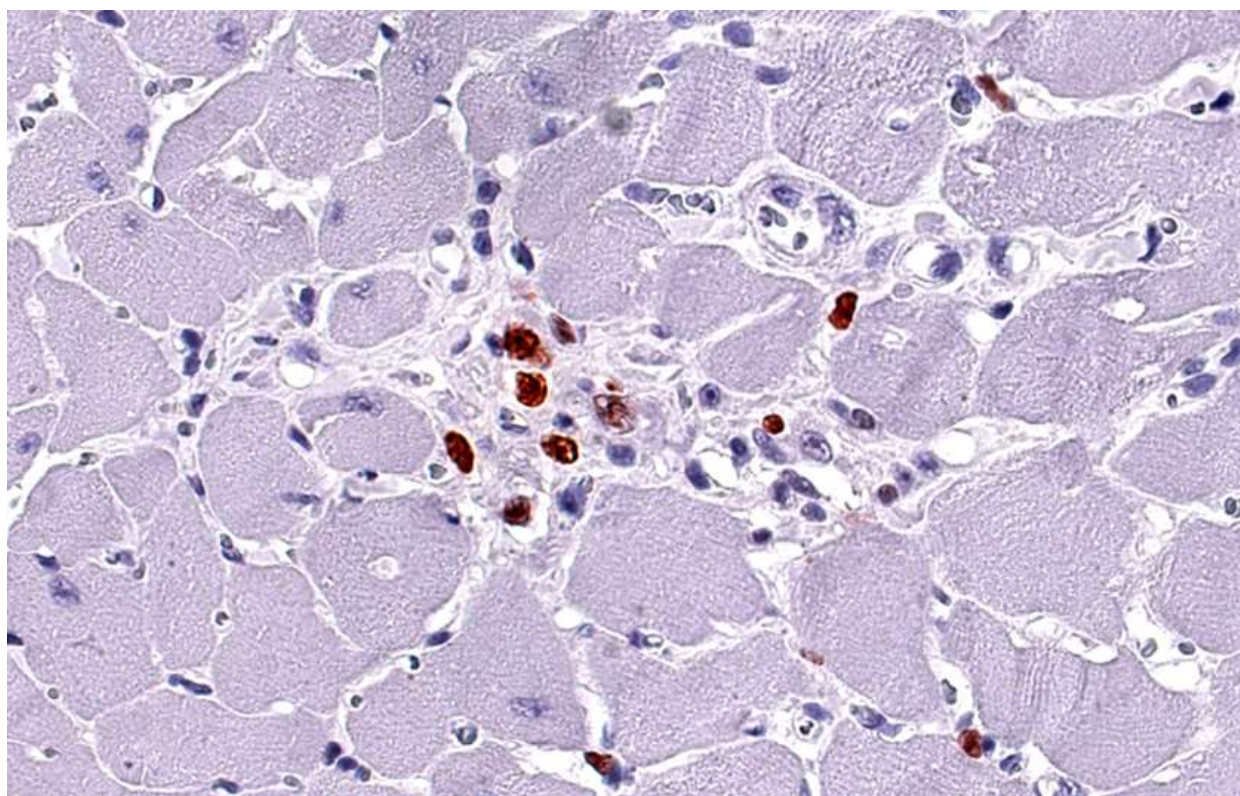


Рисунок 20. Проллиферативная активность в ядрах клеток стромы в участках диффузного склероза. Миокард крысы, ХПН длительностью 4 месяца. Иммуногистохимическая реакция с антителами к Ki-67. Ув. 400.

Таблица 9 – Средние показатели площади склероза у крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

Wistar Параметр	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р	
	2 месяца n=11	4 месяца n=7	2 месяца n=5	4 месяца n=5	2 месяца	4 месяца
Пскл, мкм <sup>2</sup>	2007,35 ±1176,57	4008,12 ±2185,78 p=0,000	2019,62 ±550,68	2517,88 ±919,83 p=0,239	0,982	0,020

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; Пскл – площадь склероза.

### 3.1.7. Резюме

1. При увеличении длительности ХПН развивается стойкое прогрессирующее повышение уровня креатинина и мочевины в сыворотке крови, несмотря на одинаковое количество нефункционирующих нефронов почек (5/6 НЭ), т.е. дисфункция почек прогрессирует со временем вне зависимости от начальной стадии ХПН.

2. При ХПН длительностью 2 месяца отмечается снижение концентрации кальция в сыворотке крови, а при увеличении длительности ХПН до 4 месяцев – отмечена нормализация этого показателя. На этом фоне сохраняется гиперфосфатемия.

3. Увеличение длительности ХПН сопровождается стойким повышением системного АД. При этом увеличиваются масса сердца и толщина стенки левого желудочка, которые, однако, по достижении 4 месяцев приближаются к соответствующим значениям в контрольной группе. Эти изменения

сопровождаются тенденцией к уменьшению площади кардиомиоцитов и нарастанием площади склероза.

4. Прогрессирование ХПН сопровождается нарастанием дистрофических изменений в кардиомиоцитах (зернистость цитоплазмы, участки миоцитолиза, разволокнение и фрагментация кардиомиоцитов, контрактурные изменения), перимизимальным и периваскулярным отеком.

5. При прогрессировании ХПН нарастает гипертрофия, увеличивается площадь ядра кардиомиоцитов. При этом снижается показатель отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита.

6. При прогрессировании ХПН определяется увеличение площади ядер кардиомиоцитов, нарастание полиморфизма ядер, преобладание одноядерных кардиомиоцитов, появление трехъядерных и многоядерных кардиомиоцитов, экструзия ядер в межклеточное пространство

7. При длительности ХПН 2 месяца увеличивается площадь функционирующих капилляров и снижается их количество, при этом к 4-м месяцам ХПН площадь и количество функционирующих капилляров не отличается от соответствующей группы контроля.

8. Значимое нарастание показателей толщины стенки сосудов артериального типа наблюдается уже при ХПН длительностью 2 месяца. Наиболее выраженные изменения регистрируются в конце 4-го месяца ХПН. В этой же группе отмечается самый высокий показатель индекса Керногана.

9. При увеличении длительности ХПН до 4-х месяцев отмечается нарастание площади периваскулярного и диффузного склероза.

### 3.2. Морфологические изменения в миокарде крыс стока Wistar при применении малобелковой диеты (длительность ХПН 4 месяца)

Вторая часть эксперимента выполнена на крысах стока Wistar с НЭ длительностью 4 месяца. В ней мы ответили на вопрос о том, имеются ли отличия



на гистологическом уровне в миокарде при применении малобелковой диеты у крыс с ХПН (НЭ+МБД) в сравнении с ложнооперированными животными.

### 3.2.1 Результаты биохимических изменений сыворотки крови экспериментальных животных

На сроке наблюдения 4 месяца в группе НЭ+МБД было отмечено снижение показателей креатинина и мочевины до  $0,07 \pm 0,01$  мкмоль/л и  $10,2 \pm 2,06$  ммоль/л соответственно. Также у животных с НЭ+МБД определяется снижение уровня фосфора в крови до  $2,33 \pm 0,1$  ммоль/л и нормализация уровня кальция ( $2,33 \pm 0,1$  ммоль/л) (таблица 10).

### 3.2.2. Изменения массы миокарда и толщины стенки левого желудочка миокарде крыс стока Wistar при применении малобелковой диеты

Установлено, что у крыс с ХПН при применении малобелковой диеты наблюдается тенденция к снижению показателя массы сердца до  $843,4 \pm 165$  мг в сравнении с крысами, получавшими стандартный корм ( $901,2 \pm 38,9$  мг;  $p=0,487$ ) и в сравнении с группой контроля ( $971,7 \pm 38,9$  мг;  $p=0,019$ ) (таблица 10).

Уровень системного АД у крыс с ХПН на фоне применения малобелковой диеты значительно снизился и составил  $120,3 \pm 12,8$  мм рт.ст. в сравнении с группой НЭ без МБД ( $158,7 \pm 11,2$ ;  $p=0,000$ ) (рисунок 24).

Также снижается степень гипертрофии стенки левого желудочка. Толщина стенки левого желудочка у крыс, получавших малобелковую диету, составила  $1911,7 \pm 267,7$  мкм, тогда как у крыс с нефрэктомией, не получавших малобелковую диету –  $2323,8 \pm 382,2$  мкм ( $p=0,000$ ), а в контрольной группе –  $1716,5 \pm 325,7$  мкм ( $p=0,073$ ) (рисунок 25).

Таблица 10 – Средние показатели уровня креатинина, мочевины, кальция и фосфора в плазме крови экспериментальных животных у крыс с нефрэктомией получавших малобелковую диеты и стандартный корм

Wistar 4 месяца/ Параметр	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=7	Без МБД n=7	+МБД n=4	Без МБД n=5	+МБД	Без МБД
Креатинин, мкмоль/л	0,07±0,01	0,083±0,01 p=0,552	0,03±0,002	0,03±0,0005 p=0,058	0,000	0,000
Мочевина, ммоль/л	10,2±2,06	18,4±4,7 p=0,001	3,57±1,14	6±0,67 p=0,010	0,000	0,000
Кальций, ммоль/л	2,33±0,1	2,44±0,11 p=0,104	2,31±0,1	2,41±0,07 p=0,170	0,763	0,701
Фосфор, ммоль/л	2,12±0,10	2,55±0,24 p=0,001	2,07±0,094	2,07±0,08 p=0,908	0,401	0,006

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета.

У крыс с нефрэктомией, получавших малобелковую диету, отмечается снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов ( $9,5 \pm 1,9$  мкм) в сравнении с крысами с нефрэктомией, получавшими стандартный корм ( $14,1 \pm 3,1$  мкм;  $p=0,000$ ) и контрольной группой ( $10,8 \pm 2,3$  мкм;  $p=0,002$ ) (таблица 11). Также снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов наблюдается и у ложнооперированных крыс, получавших малобелковую диету  $10,84 \pm 2,3$  мкм, в сравнении с ложнооперированными крысами, находящимися на стандартной диете ( $12,3 \pm 2,9$  мкм;  $p=0,000$ ) (рисунок 26).

Таблица 11 – Средние показатели массы сердца, толщины стенки левого желудочка и системного артериального давления у крыс с нефрэктомией, получавших малобелковую диету и стандартный корм

Wistar 4 месяца/ Параметр	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=7	Без МБД n=7	+МБД n=4	Без МБД n=5	+МБД	Без МБД
Масса сердца, мг	843,4±165,0	901,2±77,48  p=0,487	971,7±38,9	1089,7±50,3  p=0,009	0,019	0,004
ТЛЖ, мкм	1911,7±267,7	2323,8±382,2  p=0,000	1716,5±325,7	2026,80±264,5  p=0,002	0,073	0,000
АД, мм рт.ст.	120,3±12,8	158,7±11,2  p=0,000	115±7,07	124,3±7,07  p=0,124	0,899	0,002

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; ТЛЖ – толщина стенки левого желудочка.

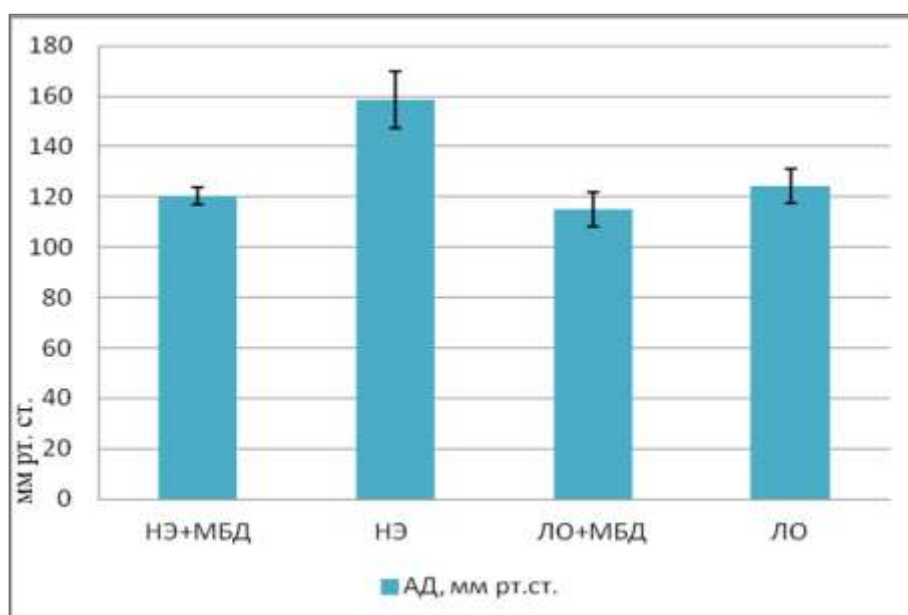


Рисунок 24. Изменение системного АД у крыс с ХПН при применении малобелковой диеты (НЭ+МБД) и получавших стандартный корм (НЭ).

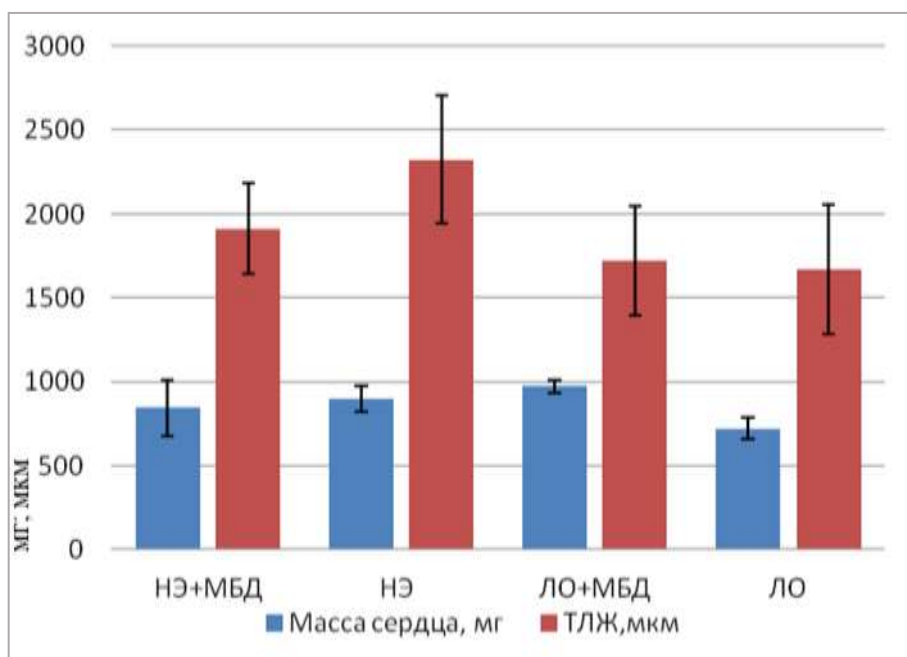


Рисунок. 25. Изменения массы сердца и толщины стенки левого желудочка (ТЛЖ) у крыс с ХПН при применении малобелковой диеты (НЭ+МБД) и получавших стандартный корм (НЭ).

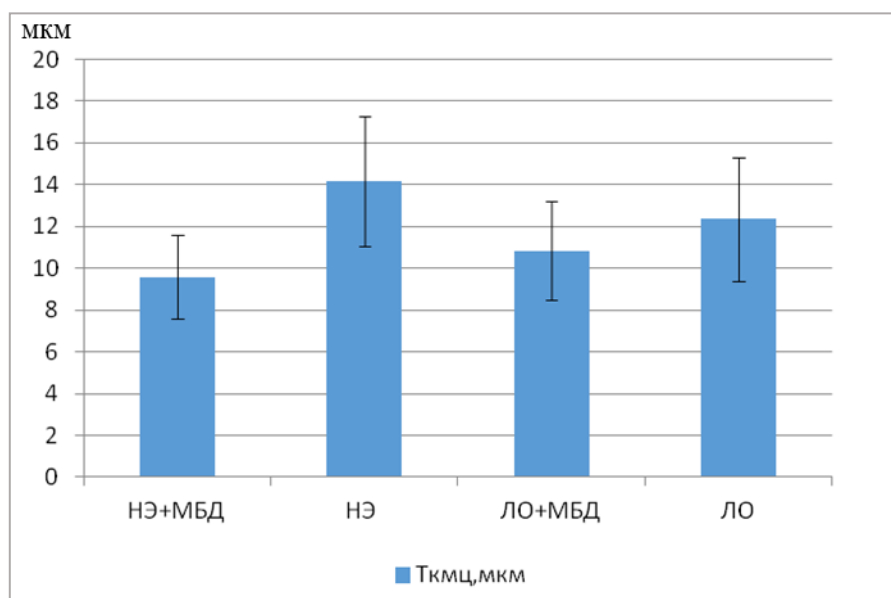


Рисунок 26. Изменение толщины кардиомиоцитов (Ткмц) у крыс с ХПН крыс с ХПН при применении малобелковой диеты (НЭ+МБД) и получавших стандартный корм (НЭ).

### 3.2.3. Изменения кардиомиоцитов в миокарде крыс стока Wistar при применении малобелковой диеты

У крыс с нефрэктомией, получавших малобелковую диету, отсутствуют выраженные дистрофические изменения в кардиомиоцитах, какие мы наблюдали у крыс с нефрэктомией, получавших стандартный корм. Также не выявляется миоцитолиз и контрактуры, что, вероятно, связано с коррекцией уремии, азотемии, кальциевого и фосфорного обмена (рисунок 27).

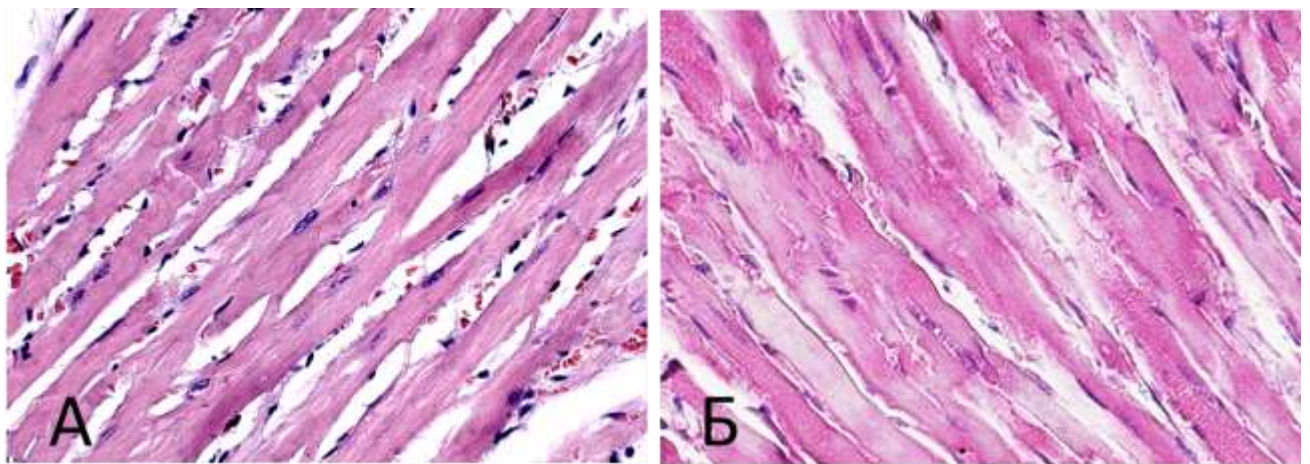


Рисунок 27. Миокард крысы с длительностью ХПН 4 месяца: А – при применении малобелковой диеты, Б – получавшей стандартный рацион; снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов, отсутствие миоцитолиза в цитоплазме кардиомиоцитов у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету (А). Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400.

Отмечается снижение показателя площади ядра кардиомиоцита ( $26,6 \pm 4,7$   $\mu\text{m}^2$ ) и увеличивается показатель отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита ( $0,38 \pm 0,14$ ) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм ( $34,1 \pm 8,1$   $\mu\text{m}^2$ ;  $p=0,072$  и  $0,23 \pm 0,03$ ;  $p=0,000$  соответственно). Снижение показателя толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита в данной ситуации обусловлено, в большей степени, снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов (рисунок 28) (таблица 12).

Таблица 12 – Средние показатели толщины кардиомиоцитов, толщины и площади ядер кардиомиоцитов, отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита у крыс с ХПН

Wistar 4 месяца/Параметр	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=7	Без МБД n=7	+МБД n=4	Без МБД n=5	+МБД	Без МБД
Толщина КМЦ, мкм	9,5±1,9	14,1±3,1 p=0,000	10,8±2,3	12,3±2,9 p=0,000	0,002	0,000
Толщина ядра, мкм	3,6±0,6	3,6±0,6 p=0,840	2,9±0,8	3,5±0,9 p=0,001	0,027	0,869
Площадь ядра, мкм <sup>2</sup>	26,6±4,7	34,1±8,1 p=0,072	24,3±4,4	28,0±10,1 p=0,103	0,069	0,017
ТЯкмц, мкм/Ткмц,мкм	0,38±0,14	0,23±0,03 p=0,000	0,34±0,11	0,31±0,1 p=0,563	0,520	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; Ткмц – толщина кардиомиоцита; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; ТЯкмц – толщина ядра кардиомиоцита; ПЯкмц – площадь ядра кардиомиоцита; ТЯкмц, мкм/Ткмц – индекс отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита.

При подсчете количества ядер в каждом отдельном кардиомиоците в группах крыс с ХПН и контрольных группах крыс, получавших малобелковую диету, преобладают одноядерные кардиомиоциты (97% в обеих группах) в сравнении с соответствующими группами животных, получавших стандартный корм (92 и 90%) (рисунок 29).

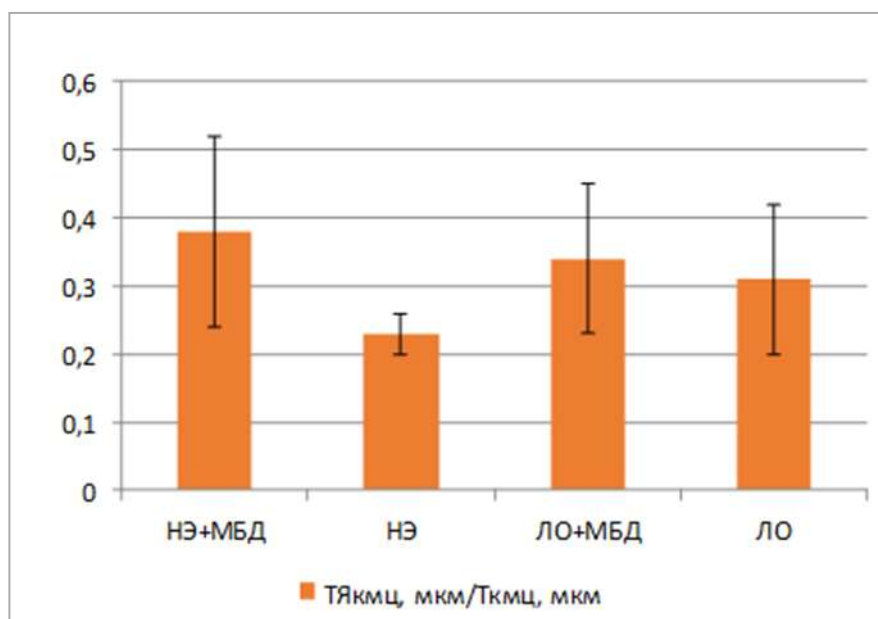


Рисунок 28. Показатель отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита (ТЯкмц, мкм/Ткмц, мкм) у крыс с ХПН при применении малобелковой диеты (НЭ+МБД) и получавших стандартный корм (НЭ).

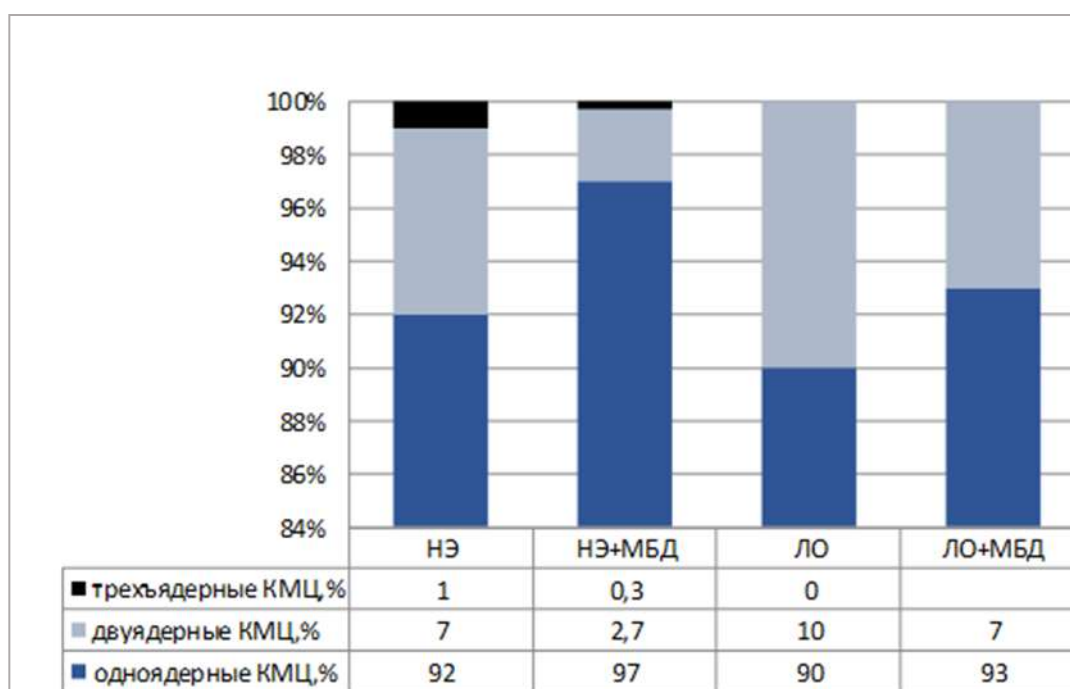


Рисунок 29. Отношение однадерных и многоядерных кардиомиоцитов (%) в миокарде крыс с ХПН при применении малобелковой диеты (НЭ+МБД) и получавших стандартный корм (НЭ).

### 3.2.5. Изменение капиллярного русла миокарда крыс стока Wistar при применении малобелковой диеты

В группе крыс с ХПН, получавших малобелковую диету, площадь открытых капилляров меньше ( $1061,1 \pm 78,3$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с крысами, получавшими стандартный корм, ( $2139,1 \pm 396,5$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,000$ ) и соответствующей контрольной группой ( $2512,6 \pm 196,9$  мкм<sup>2</sup>). При этом количество открытых капилляров увеличивается: животные с нефрэктомией + малобелковая диета – количество капилляров = 492; крысы с нефрэктомией + стандартный корм – количество капилляров = 339; и становится равным соответствующему показателю группы ложнооперированных крыс, получавших малобелковую диету (количество капилляров = 491).

Немаловажно, что у крыс с ХПН и ложнооперированных крыс, получавших малобелковую диету, увеличивается площадь кардиомиоцитов ( $19564,8 \pm 6924,7$  мкм<sup>2</sup> и  $19942,3 \pm 5238,9$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с крысами, находившимися на стандартной диете ( $14886,6 \pm 5059,1$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,038$  и  $13857,6 \pm 670,4$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,000$  соответственно). Такие количественные изменения обусловлены низким показателем площади склероза у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету ( $2837,6 \pm 1263,1$ ), в сравнении с животными с ХПН, получавшими стандартный корм ( $4008,1 \pm 2185,7$ ;  $p=0,061$ ). Стоит отметить, что количество открытых капилляров в группе крыс с ХПН, получавших малобелковую диету ( $n = 492$ ) было такое же, как и в соответствующей группе ложнооперированных крыс ( $n = 491$ ), при этом общая площадь капилляров была ниже вдвое ( $1061,1 \pm 78,3$  и  $2512,6 \pm 230,4$ ;  $p = 0,000$  соответственно) (таблица 13).

При сопоставлении компонентов миокарда в процентном соотношении отмечается снижение показателя отношения площади капилляров к площади кардиомиоцитов (Пкап, %/Пкмц, %) ( $0,060$ ) у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету, более чем в 2 раза в сравнении с соответствующим показателем в группе животных с ХПН, получавших стандартный рацион ( $0,140$ ).



Таблица 13 – Средние показатели общей площади поперечного сечения капилляров, площади кардиомиоцитов, площади склероза и отношения площади капилляров к площади кардиомиоцитов у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету и крыс с ХПН, получавших стандартный корм

Wistar 4 месяца Параметр	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=7	Без МБД n=7	+МБД n=4	Без МБД n=5	+МБД	Без МБД
Пкап, мкм <sup>2</sup>	1061,1±78,3  n = 492	2139,1±396,5  p=0,000  n = 339	2512,6±196,9  n = 491	2197±230,4  p=0,298  n = 352	0,000	0,489
Пкмц, мкм <sup>2</sup>	19564,8  ±6924,7	14886,6  ±5059,1  p=0,038	19942,3  ±5238,9	13857,6  ±6701,4  p=0,000	0,893	0,096
Пкап, %/ Пкмц, %	0,060	0,140	0,126	0,033		
Пскл, мкм <sup>2</sup>	2837,6  ±1263,19	4008,12  ±2185,78  p=0,061	2879,05  ±2203,41	2517,88  ±919,83  p=0,012	0,902	0,120

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; Пкап – площадь просветов капилляров; Пскл – площадь склероза; Пкап, %/Пкмц, % – отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов.

Данный факт обусловлен, главным образом, снижением площади, занятой соединительной тканью, до 12% (2837,60±1263,19 мкм<sup>2</sup>) и уменьшением общей площади поперечного сечения капилляров до 5% (1061,1±78,3 мкм<sup>2</sup>) (при значительном увеличении количества открытых капилляров) у крыс, получавших малобелковую диету (рисунок 30).

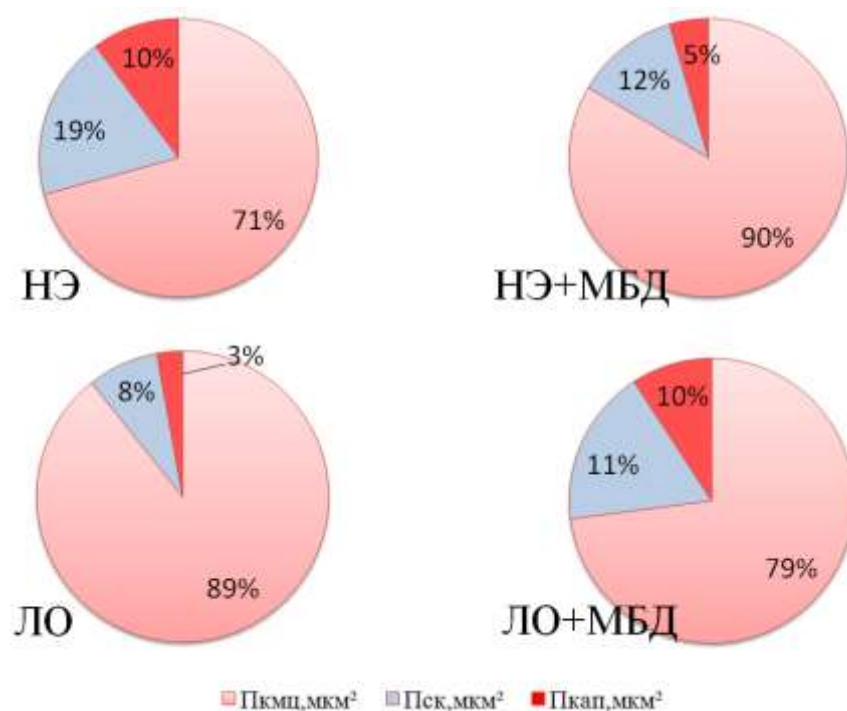


Рисунок 30. Отношение площади функционирующих капилляров (Пкап), площади кардиомиоцитов (Пкмц) и площади склероза (Пскл) в миокарде крыс с ХПН, получавших малобелковую диету (+ МБД), и ложнооперированных крыс, получавших стандартный корм (ЛО).

### 3.2.5. Морфологические изменения сосудов миокарда крыс стока Wistar при длительности ХПН 2 и 4 месяца

У крыс с ХПН, получавших малобелковую диету, зарегистрировано увеличение внутреннего диаметра просветов сосудов и отсутствие в них микроскопических признаков спазма (рисунок 31 – А). При этом уменьшается тяжесть повреждения эндотелия (эндотелиоциты плотно прилежат к стенке сосуда, в редких участках можно наблюдать десквамацию эндотелиоцитов в просвет сосудов) (рисунок 31 – Б).

Так в группе крыс с ХПН, получавших малобелковую диету, внутренний диаметр сосудов составляет в среднем  $89,6 \pm 14$  мкм, тогда как у крыс с ХПН, получавших стандартный корм,  $61,7 \pm 27,9$  ( $p=0,003$ ). Однако толщина стенки сосудов в этих группах (крысы с нефрэктомией, получавших малобелковую диету

и крысы с нефрэктомией, получавших 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 (ложнооперированными крысами, получавшими малобелковую диету и ложнооперированными крысами, получавшими 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 крыс, получавших малобелковую диету. Как следствие, происходит снижение индекса Керногана у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету ( $0,38 \pm 0,1$ ), в сравнении с группой крыс с ХПН ( $0,49 \pm 0,1$ ;  $p=0,024$ ), что свидетельствует об улучшении коронарного кровотока (таблица 14).

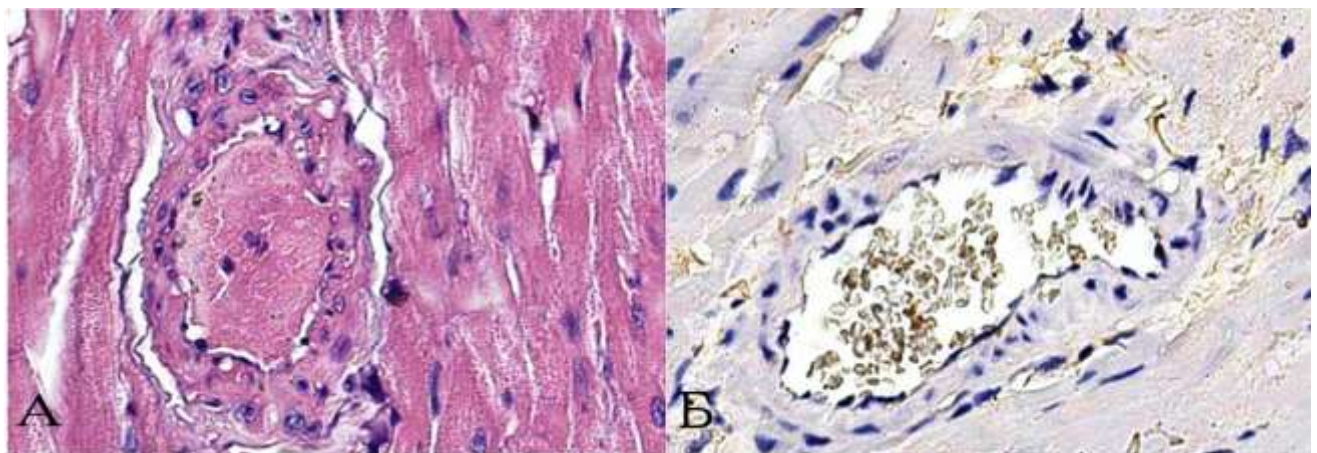


Рисунок 31. Отсутствие морфологических признаков спазма в стенках сосудов (овальная форма сосудов), умеренный периваскулярный фиброз. Миокард крысы, с нефрэктомией длительностью 4 месяца, получавшей малобелковую диету. А – окраска гематоксилином и эозином. Ув. 400; Б – иммуногистохимическая реакция с антителами к CD34. Ув. 400.

Таблица – 14 Средние показатели толщины стенки сосудов, внутреннего диаметра сосудов и индекса Керногана у крыс с ХПН, получавших малобелковую диету и крыс с ХПН, получавших стандартный корм

Wistar 4 месяца Параметр	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=7	Без МБД n=7	+МБД n=4	Без МБД n=5	+МБД	Без МБД
ТСс, мкм	29,9±7	26,4±17,6 p=0,211	17,1±4,7	17,6±5,1 p=0,350	0,000	0,000
ДПс, мкм	89,6±14	61,7±27,9 p=0,003	62,9±18,8	79,9±14,3 p=0,000	0,000	0,000
Индекс Керногана	0,38±0,1	0,49±0,1 p=0,024	0,28±0,16	0,25±0,05 p=0,343	0,118	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; ТСс – толщина стенки сосуда; ДПс – диаметр просвета сосуда; ИК – индекс Керногана, толщина стенки сосуда/диаметр просвета сосуда.

### 3.2.6. Резюме

1. У крыс с ХПН на фоне применения малобелковой диеты происходит улучшение биохимических показателей (снижение показателей креатинина и мочевины в сыворотке крови, нормализация уровней кальция и фосфора), т.е. коррекция уремии, азотемии и минеральных нарушений.

2. Микроскопически не наблюдались спазм в стенках сосудов и контрактуры в кардиомиоцитах, что, вероятно, обусловлено, прежде всего нормализацией уровня кальция в сыворотке крови и коррекцией уремии.

3. При применении малобелковой диеты происходит снижение массы сердца, умеренное снижение толщины стенки левого желудочка, снижение

степени гипертрофии кардиомиоцитов главным образом из-за снижения уровня АД и, соответственно, уменьшения преднагрузки.

4. Уменьшение площади ядер, снижение ядерно-цитоплазматического отношения и преобладание эндомитоза обусловлены снижением темпов прогрессирования гипертрофии кардиомиоцитов и, следовательно, снижением белково-синтетической функции ядер, направленной на обеспечение синтеза сократительных белков.

5. Уменьшение площади склероза (диффузного и периваскулярного) обусловлено главным образом уменьшением степени уремии (снижение токсического действия) и гипоксии.

6. При применении малобелковой диеты у крыс с нефрэктомией отмечено снижение общей площади поперечного сечения капилляров при увеличении их количества в сравнении с крысами с нефрэктомией, получавшими стандартный корм.

7. Увеличение внутреннего диаметра интрамиокардиальных сосудов и отсутствие спазма их стенок у крыс, получавших малобелковую диету, может быть причиной улучшения трофики миокарда.

### 3.3. Сравнительная характеристика морфологических изменений в миокарде у крыс стока Wistar и линии SHR (длительность ХПН 2 месяца)

Данный фрагмент эксперимента посвящен изучению вклада генетической артериальной гипертензии в морфологические изменения миокарда при ХПН. Третья часть эксперимента выполнена на крысах линии SHR (спонтанногипертензивных крысах) и крысах стока Wistar.

### 3.3.1. Уровень артериального давления и биохимические показатели сыворотки крови крыс Wistar и SHR

Уровень АД у крыс линии SHR с экспериментальной ХПН выше ( $190,1 \pm 3,5$  мм рт. ст.), чем у крыс стока Wistar ( $151,5 \pm 8,8$  мм рт. ст.;  $p = 0,000$ ), также, как в группах ложнооперированных крыс (ложнооперированные SHR –  $159,1 \pm 14,1$  мм рт. ст., ложнооперированные Wistar –  $121,1 \pm 1,8$  мм рт. ст.;  $p = 0,000$ ). Такие высокие цифры АД у крыс линии SHR с нефрэктомией закономерно отражаются на 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 –  $0,145 \pm 0,181$  мкмоль/л) (таблица 15).

Таблица –15 Средние показатели АД и биохимические показатели сыворотки крови крыс Wistar и SHR

ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, $M \pm \text{ст.откл}$		ЛО, $M \pm \text{ст.откл}$		Межгрупповые различия, p.	
	Wistar n=11	SHR n=9	Wistar n=5	SHR n=8	Wistar	SHR
АД, мм рт.ст.	$151,5 \pm 8,8$	$190,1 \pm 3,5$ $p=0,000$	$121,15 \pm 1,8$	$159,1 \pm 14,1$ $p=0,046$	0,001	0,002
Креатинин мкмоль/л	$0,07 \pm 0,03$	$0,145 \pm 0,181$	$0,04 \pm 0,001$	$0,037 \pm 0,001$	0,050	0,003
Мочевина, ммоль/л	$16,2 \pm 0,36$	$20,7 \pm 11,7$	$6,2 \pm 0,5$	$7,04 \pm 0,6$	0,010	0,008
Кальций, ммоль/л	$0,92 \pm 0,09$	$2,44 \pm 0,08$	$2,32 \pm 0,15$	$2,35 \pm 0,123$	0,000	0,117
Фосфор, ммоль/л	$2,59 \pm 0,09$	$2,58 \pm 0,06$	$1,72 \pm 0,10$	$1,87 \pm 0,31$	0,010	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия.

В одинаковой степени у крыс с нефрэктомией стока Wistar и линии SHR развивается 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). Гипокальциемия наблюдается только у крыс с НЭ стока Wistar ( $0,92 \pm 0,09$  ммоль/л), тогда как у крыс с НЭ линии SHR уровень кальция в сыворотке крови находится в пределах нормы ( $2,44 \pm 0,08$  ммоль/л) (таблица 15).

### 3.3.2. Масса миокарда и толщина стенки левого желудочка крыс Wistar и SHR при ХПН

У крыс линии SHR с ХПН масса сердца больше ( $1174,5 \pm 116,5$  мг), чем у крыс стока Wistar ( $850,6 \pm 52,5$  мг;  $p = 0,000$ ). При этом толщина стенки левого желудочка в обеих группах практически одинаковая (крысы Wistar с нефрэктомией –  $2267,7 \pm 194,4$  мкм, крысы SHR с нефрэктомией –  $2209,9 \pm 258,4$  мкм;  $p = 0,398$ ). Схожие количественные изменения происходят и в группах ложнооперированных крыс (увеличение массы сердца при сравнительно равных показателях толщины стенки левого желудочка) (рисунок 32, таблица 16).

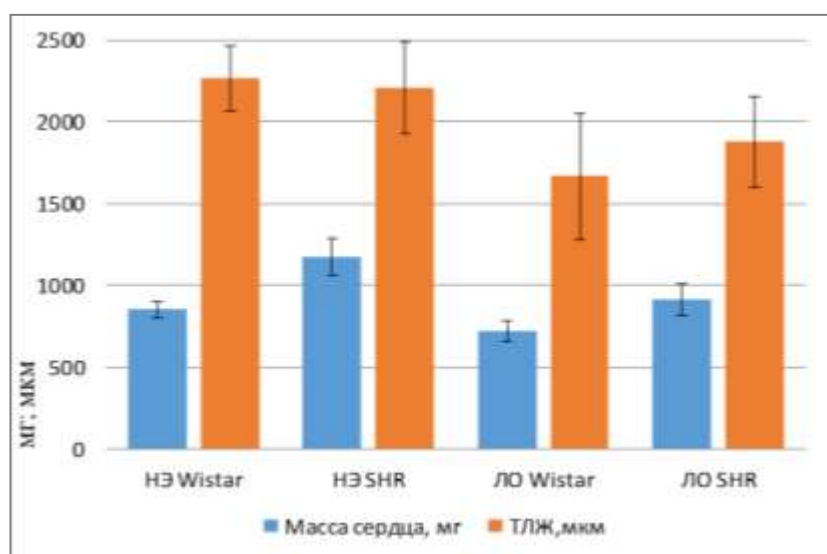


Рисунок 32. Средние значения массы сердца и толщины стенки левого желудочка (ТЛЖ) у крыс стока Wistar и линии SHR (длительность ХПН 2 месяца).

Таблица 16 – Показатели массы сердца и толщины стенки левого желудочка  
сердца крыс

ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	Wistar n=11	SHR n=9	Wistar n=5	SHR n=9	Wistar	SHR
Масса сердца, мг	850,6±52,5	1174,5±116,5 p=0,000	719,5±63,9	1089,7±50,3 p=0,009	0,000	0,000
ТЛЖ, мкм	2267,7±194,4	2209,9±258,4 p=0,398	1667,0±384,9	1878,1±277,3 p=0,002	0,000	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; ТЛЖ – толщина стенки левого желудочка.

Толщина стенки левого желудочка определяется, главным образом, толщиной кардиомиоцитов. Т.е., увеличение массы сердца у крыс линии SHR без нарастания толщины стенки левого желудочка косвенно свидетельствует о количественных изменениях компонентов стромы миокарда (Anversa et al., 1978).

### 3.3.3. Морфологические изменения кардиомиоцитов в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН

Артериальная гипертензия и уремия тяжелой степени у крыс линии SHR нашли свое морфологическое выражение в значительной гипертрофии кардиомиоцитов (среднее значение толщины кардиомиоцитов в группе крыс линии SHR с нефрэктомией составляет  $16,9 \pm 2,3$  мкм, тогда как в группе крыс стока Wistar –  $12,5 \pm 1,5$  мкм соответственно;  $p = 0,000$ ). Дистрофические изменения в кардиомиоцитах у крыс линии SHR с нефрэктомией также более выражены (разволокнение кардиомиоцитов, участки с зернистостью цитоплазмы и неравномерной ее окраской). Часто встречаются очаги диффузного склероза (рисунок 33).



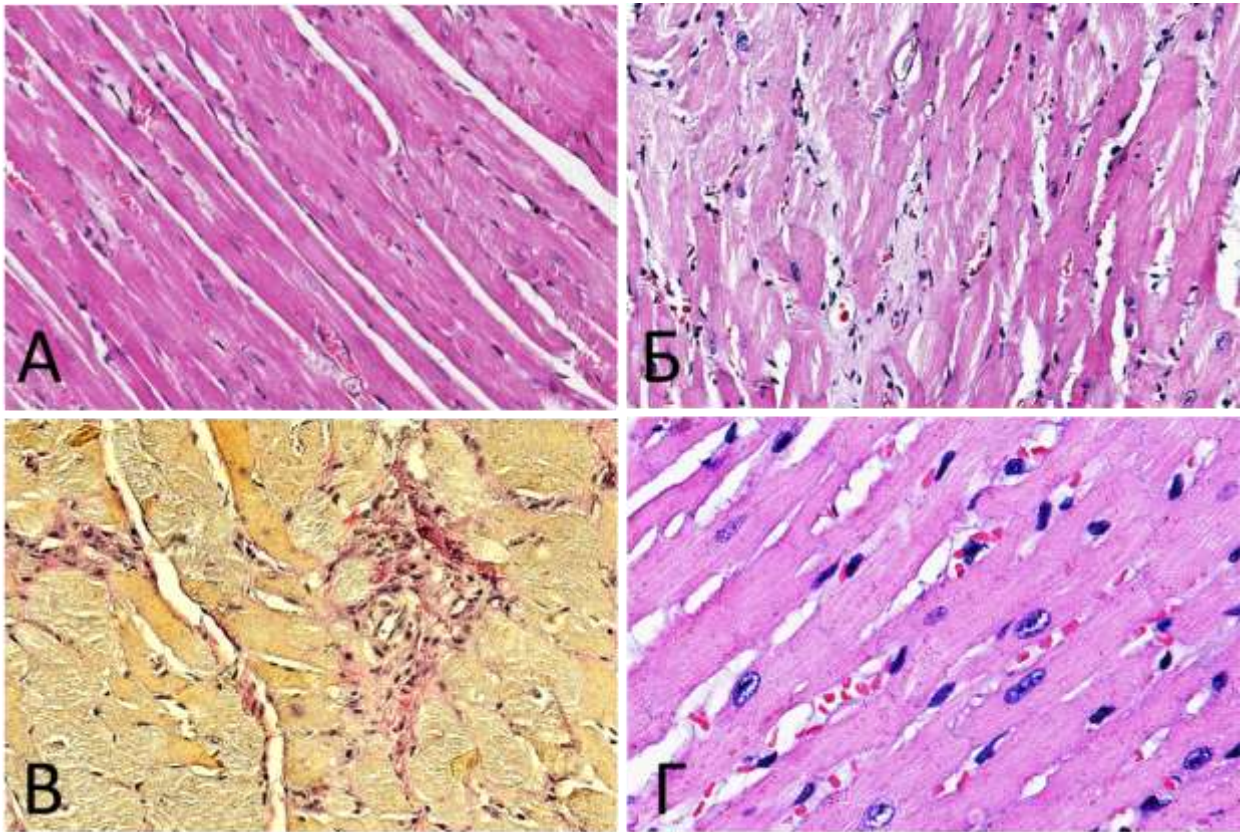


Рисунок 33. Миокард крысы линии SHR с ХПН длительностью 2 месяца. А – гипертрофия и дистрофия волокон кардиомиоцитов. Б, В – диффузный и перикапиллярный склероз. Г – миокард ложноперированной крысы линии SHR. Окраска: А, Б, Г – гематоксилином и эозином, В – пикрофуксином по ван Гизону. А, Б, В – Ув. 200; Г – Ув. 400.

Площадь диффузного склероза у крыс линии SHR с нефрэктомией ( $1228 \pm 711,6$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с группой крыс стока Wistar с нефрэктомией ( $2007,3 \pm 1175,5$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,121$ ) была меньше. Схожие изменения выявляются и у ложноперированных крыс (SHR –  $1160,4 \pm 670,5$  мкм<sup>2</sup>; Wistar –  $2019,6 \pm 550,6$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,035$ ). Данный факт можно объяснить преобладанием процессов гипертрофии кардиомиоцитов над изменениями в межклеточном матриксе у крыс с генетической артериальной гипертензией (таблица 17).

При сравнении изменений в миокарде крыс линии SHR с ХПН и ложноперированными крысами той же линии обращают на себя внимание менее выраженные дистрофические изменения при том, что степень гипертрофии

кардиомиоцитов также высока (толщина кардиомиоцита  $16,01 \pm 2,35$  мкм;  $p = 0,000$  в сравнении с животными с НЭ) (таблица 18).

Таблица 17 – Площадь диффузного склероза в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН

ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М $\pm$ ст.откл		ЛО, М $\pm$ ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	Wistar n=11	SHR n=9	Wistar n=5	SHR n=8	Wistar	SHR
Пскл, мкм <sup>2</sup>	2007,3 $\pm 1176,5$	1228 $\pm 711,6$ $p=0,121$	2019,6 $\pm 550,6$	1160,4 $\pm 670,5$ $p=0,035$	0,982	0,852

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; Пскл – площадь склероза.

Общая площадь кардиомиоцитов в препаратах крыс линии SHR с ХПН была меньше ( $17502 \pm 422$  мкм<sup>2</sup>), чем у крыс стока Wistar с ХПН ( $18142 \pm 58$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,796$ ), а в группах ложнооперированных животных у крыс линии SHR общая площадь кардиомиоцитов была еще меньше ( $14785,8 \pm 40$  мкм<sup>2</sup>), чем у крыс стока Wistar ( $22817,7 \pm 2234,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,000$ ).

У крыс спонтанно-гипертензивной линии показатель площади ядра в контрольной группе и группе с НЭ ( $36,1 \pm 7,2$  мкм<sup>2</sup> и  $35,9 \pm 12,4$  мкм<sup>2</sup>) была больше, чем в соответствующих группах животных стока Wistar ( $33,9 \pm 7,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,000$  и  $31,4 \pm 7,8$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,000$ ) при том, что в каждом отдельном кардиомиоците в группах крыс SHR с НЭ и ложнооперированных животных преобладают одноядерные кардиомиоциты (98% и 88% соответственно) в сравнении с соответствующими группами крыс стока Wistar (93 и 81%) (рисунок 34).

Вместе с этим у крыс линии SHR с ХПН увеличивается значение отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита (ТЯкмц, мкм/Ткмц, мкм) ( $0,30 \pm 0,07$ ) (в сравнении с ложнооперированными животными линии SHR ( $0,24 \pm 0,06$ ;  $p = 0,000$ ) и крыс с нефрэктомией стока Wistar ( $0,27 \pm 0,04$ ;  $p = 0,637$ )).

Таблица 18 – Средние показатели толщины кардиомиоцита, площади ядра кардиомиоцита и индекса отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита

ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	Wistar n=11	SHR n=9	Wistar n=5	SHR n=8	Wistar	SHR
Пкмц, мкм <sup>2</sup>	18142 ±5870,5	17502 ±4223,3 p=0,796	22817,7 ±2234,9	14785,8 ±4096,5 p=0,000	0,055	0,215
Ткмц, мкм	12,5±1,5	16,9±2,3 p=0,000	11,9±2,073	16,0±2,35 p=0,000	0,131	0,167
ПЯкмц, мкм <sup>2</sup>	31,4±7,8	35,9±12,4 p=0,118	33,9±7,9	36,1±7,2 p=0,612	0,257	0,978
ТЯкмц, мкм	3,4±0,5	4,6±0,9 p=0,000	3,8±0,6	3,4±0,7 p=0,000	0,055	0,000
ТЯкмц, мкм/Ткмц, мкм	0,27±0,04	0,30±0,07 p=0,637	0,32±0,1	0,24±0,06 p=0,000	0,032	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; Ткмц – толщина кардиомиоцита; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; ТЯкмц – толщина ядра кардиомиоцита; ПЯкмц – площадь ядра кардиомиоцита; ТЯкмц, мкм/Ткмц – индекс отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита.

Это обусловлено прежде всего увеличением показателя средней толщины ядра в кардиомиоцита у крыс линии SHR с ХПН (4,6±0,9 мкм) в сравнении с ложнооперированными крысами этой же линии (3,4±0,7мкм; p = 0,000). То есть можно предположить, что при ХПН темп гипертрофии волокон кардиомиоцитов у крыс линии SHR снижен (рисунок 35).

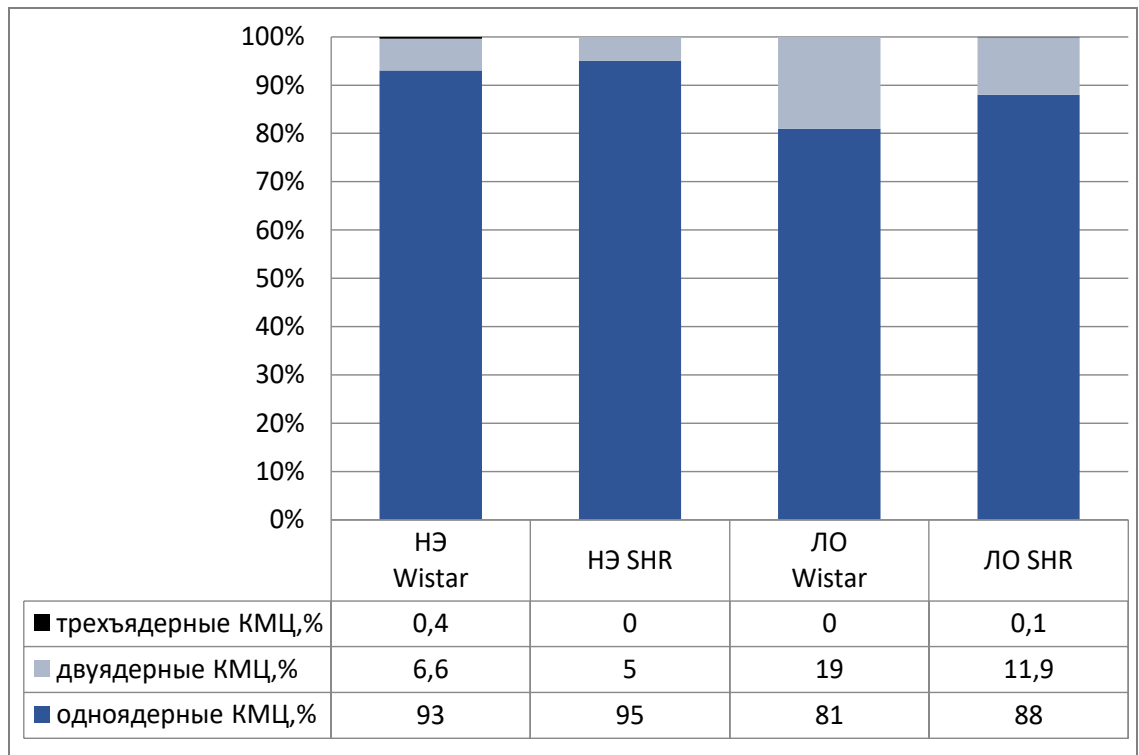


Рисунок 34. Соотношение количества ядер в КМЦ (%) в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН.

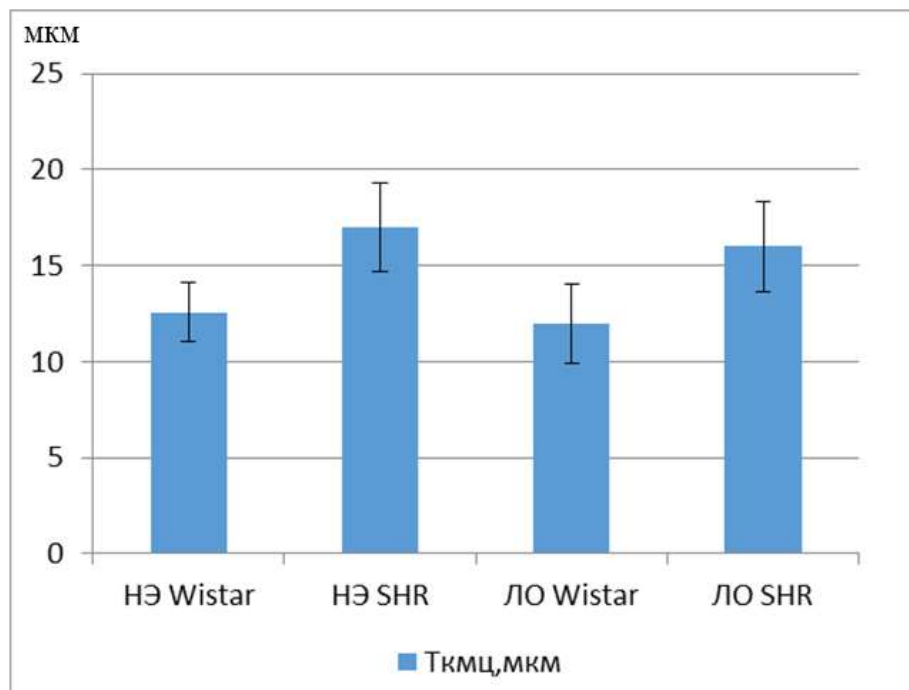


Рисунок 35. Сравнение показателей толщины кардиомиоцитов (Ткмц) в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН.

Увеличение площади ядер и преобладание эндомитоза в кардиомиоцитах у крыс линии SHR косвенно свидетельствуют об увеличении количества ДНК (полиплоидизации), а также усилении транскрипционной и метаболической активности. Увеличение копий генома может рассматриваться как компенсаторная реакция, направленная на сохранение ДНК от окислительного стресса в клетках миокарда, работающего на пределе своих возможностей (Бродский В. Я., 1995).

#### 3.3.4. Морфологические характеристики перестройки микроциркуляторного русла в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН

Общая площадь поперечного сечения открытых капилляров у крыс линии SHR с нефрэктомией равна  $826,9 \pm 78,9$  мкм<sup>2</sup>, что в половину меньше, чем у крыс стока Wistar ( $1902,8 \pm 202,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,000$ ) (таблица 19). При этом количество капилляров в миокарде у крыс линии SHR с НЭ больше ( $n = 351$ ), чем у соответствующей группы крыс стока Wistar ( $n = 247$ ).

Показатель объёмного отношения капилляров к площади кардиомиоцитов (Пкап/Пкмц) практически вдвое меньше у крыс с НЭ линии SHR (0,047), чем у крыс стока Wistar (0,105). Такие изменения капиллярного русла в гипертрофированном миокарде крыс линии SHR с НЭ свидетельствуют о недостаточном объёме и снижении транскапиллярного обмена.

#### 3.3.5. Морфологические изменения интрамиокардиальных сосудов артериального типа в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН

В эксперименте у крыс стока 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±7,17 мкм ( $p = 0,000$ ), а диаметра просвета сосудов – 40,3±28,1 мкм, что больше, чем у крыс стока Wistar – 31,6±15,6 мкм ( $p = 0,049$ ).

Таблица 19 – Средние показатели изменения микроциркуляторного русла в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН

ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	Wistar n=11	SHR n=9	Wistar n=5	SHR n=8	Wistar	SHR
Пкап, мкм <sup>2</sup>	1902,8 ±202,9 n = 247	826,9±78,9 p=0,000 n = 351	730,4 ±58,2 n = 412	727,3±58,2 p=0,089 n = 352	0,000	0,246
Пкмц, мкм <sup>2</sup>	18142 ±5870,5	17502±4223,3 p=0,796	22817,7 ±2234,9	14785,8±4096,5 p=0,000	0,055	0,215
Пкап, мкм <sup>2</sup> /Пкмц, мкм <sup>2</sup>	0,104	0,046	0,032	0,040		

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; Пкап – площадь просветов капилляров; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; Пкап, мкм<sup>2</sup>/Пкмц, мкм<sup>2</sup> – отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов.

Однако среднее значение индекса Керногана у крыс линии SHR принимает большее значение (0,40±0,1) в сравнении с крысами стока Wistar (0,31±0,15;  $p = 0,031$ ). При этом сумма показателей толщины стенки сосуда и внутреннего диаметра сосудов в группах принимала близкие значения. Различия заключались в том, что площадь периваскулярного склероза (ПВС) у крыс с нефрэктомией линии SHR была в 4 раза больше (10838,3 ± 0,1 мкм<sup>2</sup>), чем у крыс стока Wistar (2455,3 ± 1190,7 мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,004$ ). У ложнооперированных животных линии SHR площадь периваскулярного склероза была вдвое больше (9155,4 ± 4070,69 мкм<sup>2</sup>),



чем у ложнооперированных крыс стока Wistar ( $4455,2 \pm 2807,6 \text{ мкм}^2$ ,  $p = 0,020$ ) (рисунок 36, таблица 20).

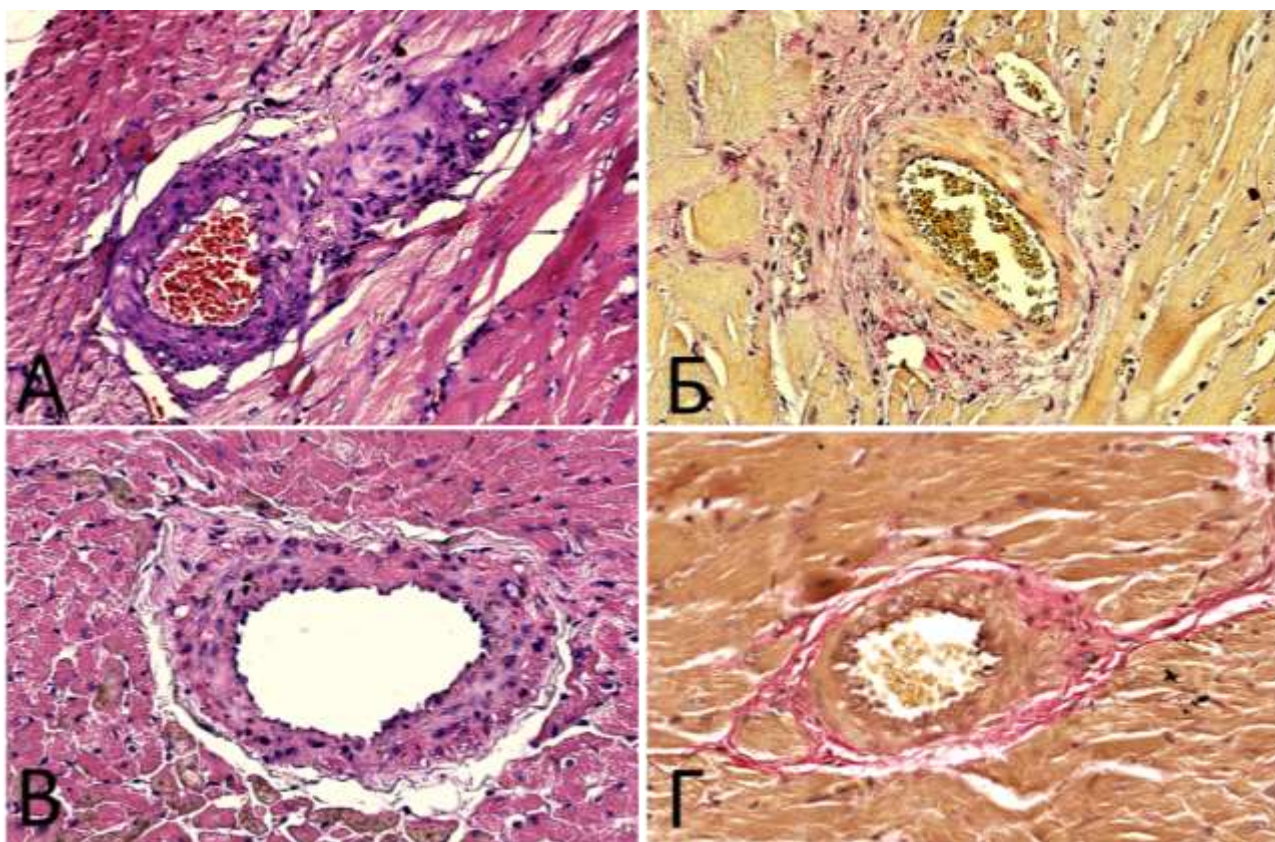


Рисунок 36. Периваскулярный склероз в миокарде крыс после нефрэктомии: А, Б – крысы линии SHR; В, Г – крысы стока Wistar. Окраска: А, В – гематоксилином и эозином; В, Г – пикрофуксином по ван Гизону. Ув. 200.

Вместе с этим площадь, занятая соединительной тканью при диффузном склерозе у крыс линии SHR с нефрэктомией ( $1228 \pm 711,6 \text{ мкм}^2$ ) в сравнении с группой крыс стока Wistar с нефрэктомией ( $2007,3 \pm 1175,5 \text{ мкм}^2$ ;  $p = 0,121$ ), была меньше. Схожие изменения выявляются и у ложнооперированных крыс (SHR –  $1160,4 \pm 670,5 \text{ мкм}^2$ ; Wistar –  $2019,6 \pm 550,6 \text{ мкм}^2$ ;  $p = 0,035$ ). Данный факт можно объяснить преобладанием процессов гипертрофии кардиомиоцитов над изменениями в межклеточном матриксе у крыс с генетической артериальной гипертензией.

Таблица 20 – Средние значения показателей толщины стенки, диаметра просветов сосудов артериального типа и индекса Керногана в миокарде крыс Wistar и SHR при ХПН

ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, M $\pm$ ст.откл		ЛО, M $\pm$ ст.откл		Межгрупповые различия, p.	
	Wistar n=11	SHR n=9	Wistar n=5	SHR n=8	Wistar	SHR
ТСс, мкм	22,7 $\pm$ 7,51	15,1 $\pm$ 7,1 p = 0,000	19,7 $\pm$ 8,5	14,7 $\pm$ 9,4 p = 0,000	0,000	0,595
ДПс, мкм	31,6 $\pm$ 15,6	40,3 $\pm$ 28,1 p = 0,049	77,3 $\pm$ 14,3	36,3 $\pm$ 28,4 p = 0,000	0,000	0,294
Индекс Керногана	0,31 $\pm$ 0,15	0,40 $\pm$ 0,1 p = 0,031	0,17 $\pm$ 0,06	0,2 $\pm$ 0,15 p = 0,000	0,000	0,000
ПВС, мкм <sup>2</sup>	2455,3 $\pm$ 1190,7	10838,3 $\pm$ 4252,6 p = 0,004	4455,2 $\pm$ 2807,6	9155,4 $\pm$ 4070,69 p = 0,020	0,201	0,507

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; ТСс – толщина стенки; ДПс – диаметр просвета; ИК – индекс Керногана, толщина стенки сосуда/диаметр просвета сосуда.

### 3.3.6. Резюме

1. Морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR при ХПН характеризуются более высокой степенью компенсаторной гипертрофии и выраженными дистрофическими изменениями.

2. Изменения микроциркуляторного русла у крыс линии SHR сопровождаются значительным снижением общей площади и увеличением количества капилляров. При этом отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов резко снижается.



3. Снижение коронарного кровотока у крыс линии SHR происходит главным образом в результате развития выраженного периваскулярного склероза, приводящего к увеличению жесткости сосудистой стенки.

4. Морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR в наибольшей степени обусловлены изначально высоким уровнем АД и развиваются еще до экспериментальной ХПН.

5. При нефрэктомии 5/6 морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR еще более выражены, что может быть обусловлено возрастанием активности РААС (ангиотензин II, альдостерон) и развитием ХПН более тяжелой степени, чем у крыс стока Wistar.

### 3.4. Морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR при применении малобелковой диеты (длительность ХПН 2 месяца)

Четвертая часть эксперимента выполнена на крысах линии SHR с нефрэктомией длительностью 2 месяца. Две группы (с нефрэктомией и ложнооперированные животные) получали малобелковую диету, две контрольные группы (с нефрэктомией и ложнооперированные животные) получали стандартный корм. Цель данной части эксперимента – изучить морфологические изменения в миокарде крыс линии SHR с ХПН длительностью 2 месяца при применении малобелковой диеты

#### 3.4.1 Результаты биохимических анализов крови крыс линии SHR при применении малобелковой диеты

К концу второго месяца после нефрэктомии у крыс линии SHR в группе, получавшей малобелковую диету, 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 с нефрэктомией, получавшими стандартный корм ( $0,14 \pm 0,181$  мкмоль/л;  $p = 0,508$  и  $20,7 \pm 11,7$  мкмоль/л;  $p =$

0,186). У крыс с нефрэктомией, получавших малобелковую диету, отмечено снижение уровня фосфора в сыворотке крови до  $2,2 \pm 0,1$  ммоль/л, при этом регистрируется повышение концентрации кальция в сыворотке крови до  $2,5 \pm 0,09$  ммоль/л в сравнении с крысами в группе с НЭ получавшими стандартный рацион ( $2,44 \pm 0,08$  ммоль/л;  $p = 0,181$  и  $2,58 \pm 0,06$  ммоль/л;  $p = 0,000$  соответственно) (таблица 21).

Таблица 21 – Средние значения уровня креатинина, мочевины, кальция и фосфора в плазме крови крыс линии SHR при применении малобелковой диеты

SHR ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, $M \pm \text{ст.откл}$		ЛО, $M \pm \text{ст.откл}$		Межгрупповые различия, $p$ .	
	+МБД $n=3$	Без МБД $n=9$	+МБД $n=5$	Без МБД $n=8$	+МБД	Без МБД
Креатинин, мкмоль/л	$0,07 \pm 0,009$	$0,14 \pm 0,181$ $p=0,508$	$0,036 \pm 0,002$	$0,037 \pm 0,001$ $p=0,920$	0,003	0,005
Мочевина, ммоль/л	$10,7 \pm 2,5$	$20,7 \pm 11,7$ $p=0,186$	$4,5 \pm 0,6$	$7,04 \pm 0,6$ $p=0,000$	0,008	0,014
Кальций, ммоль/л	$2,5 \pm 0,09$	$2,44 \pm 0,08$ $p=0,181$	$2,4 \pm 0,003$	$2,35 \pm 0,123$ $p=0,517$	0,017	0,100
Фосфор, ммоль/л	$2,2 \pm 0,1$	$2,58 \pm 0,06$ $p=0,000$	$2,07 \pm 0,002$	$1,87 \pm 0,31$ $p=0,327$	0,000	0,096

Примечание: ЛО – ложнопериованные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета.

#### 3.4.2. Масса миокарда и толщина стенки левого желудочка крыс линии SHR при применении малобелковой диеты

У крыс с ХПН, перенесших НЭ, при применении малобелковой диеты показатели массы сердца значительно ниже ( $861,3 \pm 36,8$  мг) в сравнении с крысами, 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;  $p=0,072$ ).

При сравнении массы сердца у ложнооперированных крыс видно, что разница в значении этого показателя у них не велика ( $1038,6 \pm 120,9$  мг у крыс, получавших малобелковую диету, и  $1089,7 \pm 50,3$  мг у крыс, получавших стандартный рацион соответственно). Также значительно снижается степень гипертрофии стенки левого желудочка, которая составляет  $1857,4 \pm 273,4$  мкм, тогда как у крыс с нефрэктомией, не получавших малобелковую диету, этот показатель составляет  $2209,9 \pm 258,4$  мкм ( $p=0,000$ ), и практически его значение равно показателю в контрольной группе  $1878,1 \pm 277,3$  мкм ( $p=0,000$ ) (рисунок 37; таблица 22).

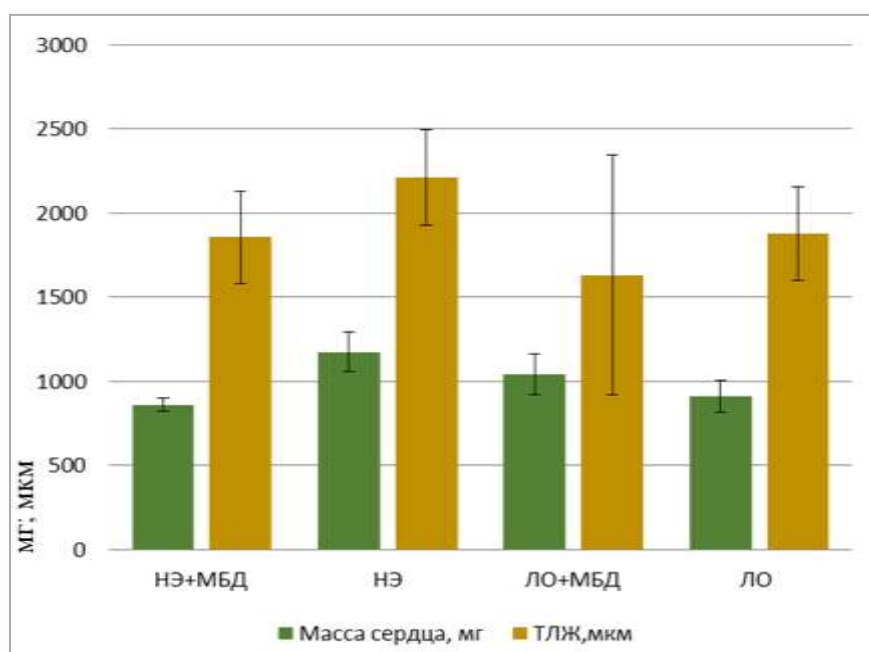


Рисунок 37. Изменения массы сердца и толщины стенки левого желудочка (ТЛЖ) у крыс линии SHR с нефрэктомией и ложнооперированных крыс при применении малобелковой диеты.

Таблица 22 – Средние показатели массы сердца, толщины стенки левого желудочка и системного артериального давления у крыс линии SHR при применении малобелковой диеты

SHR ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=3	Без МБД n=9	+МБД n=5	Без МБД n=8	+МБД	Без МБД
Масса сердца, мг	861,3± 36,8	1174,5 ±116,5 p=0,001	1038,6 ±120,9	1089,7 ±50,3 p=0,100	0,072	0,000
ТЛЖ, мкм	1857,4 ±273,4	2209,9 ±258,4 p=0,000	1632,8 ±712,3	1878,1 ±277,3 p=0,035	0,144	0,000
АД, мм рт.ст.	-	190,1±3,5	-	159,1±14,1	-	0,002

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; ТЛЖ – толщина стенки левого желудочка.

#### 3.4.3. Морфологические изменения кардиомиоцитов в миокарде крыс SHR с нефрэктомией при применении малобелковой диеты

У крыс SHR с нефрэктомией, получавших малобелковую диету, дистрофические изменения в кардиомиоцитах менее выражены, чем у крыс с нефрэктомией, получавших стандартный корм. Очаги миоцитолита и контрактуры отсутствуют. Капилляры миокарда полнокровны, просветы некоторых зияют (рисунок 38).

У крыс с нефрэктомией, получавших малобелковую диету, отмечается снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов ( $13,9 \pm 2,9$  мкм) в сравнении с животными с нефрэктомией, получавшими стандартный корм ( $16,9 \pm 2,3$  мкм;  $p=0,000$ ). В сравнении с группой ложнооперированных животных, получавших

малобелковую диету, отмечены близкие значения показателей толщины кардиомиоцитов ( $11,4 \pm 1,97$  мкм;  $p = 0,167$ ).

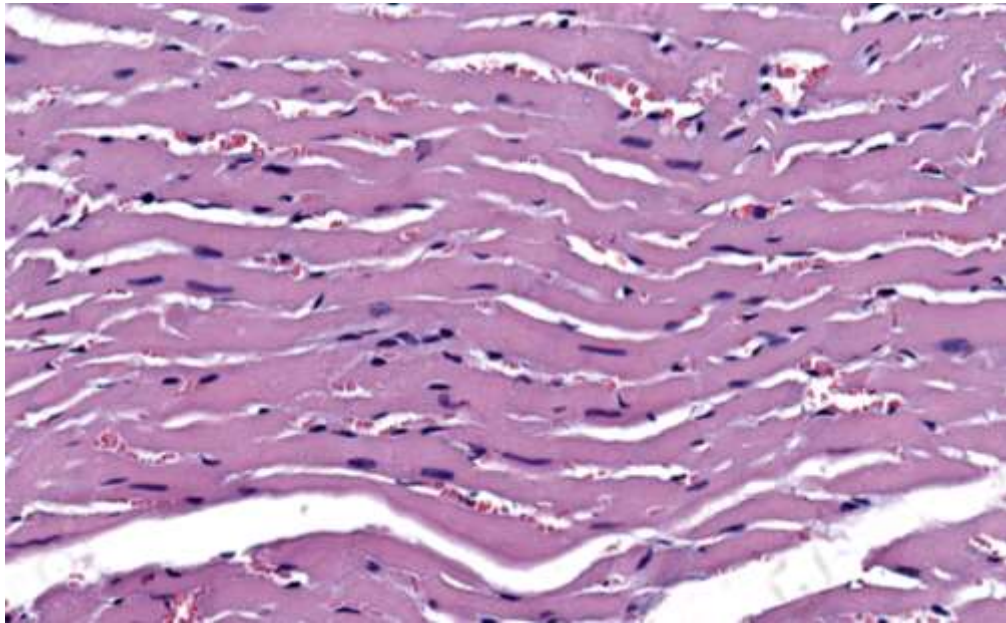


Рисунок 38. Миокард крысы линии SHR с нефрэктомией, получавшей малобелковую диету. Умеренная гипертрофия кардиомиоцитов. Миоцитолиз отсутствует. Окраска гематоксилином и эозином. Ув. 200.

Также обращает на себя внимание разница в показателях толщины кардиомиоцитов в группах ложнооперированных животных: при применении МБД показатель толщины кардиомиоцитов значимо ниже, чем у крыс, получавших стандартный рацион ( $11,4 \pm 1,97$  мкм против  $16,0 \pm 2,35$  мкм соответственно;  $p = 0,000$ ) (рисунок 39; таблица 23).

Среднее значение площади ядра кардиомиоцита у крыс с НЭ, получавших малобелковую диету, была несколько ниже ( $33,8 \pm 89,9$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с животными с НЭ, получавшими стандартный рацион ( $35,9 \pm 12,4$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,018$ ). Также снижение показателя площади ядра кардиомиоцита выявлено при сравнении групп ложнооперированных крыс ( $28,7 \pm 5,2$  мкм<sup>2</sup> в группе ЛО крыс, получавших малобелковую диету, против  $36,1 \pm 7,2$  мкм<sup>2</sup> соответственно;  $p = 0,021$ ), тем не менее разница показателей не выявила статистической значимости.

Таблица 23 – Средние показатели толщины кардиомиоцита, площади ядра кардиомиоцита и индекса отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита

SHR ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=3	Без МБД n=9	+МБД n=5	Без МБД n=8	+МБД	Без МБД
Ткмц, мкм	13,9±2,9	16,9±2,3 p=0,000	11,4±1,97	16,0±2,35 p=0,000	0,167	0,000
ТЯкмц, мкм	3,4±0,5	4,6±0,9 p=0,000	3,6±1,09	3,4±0,7 p=0,441	0,000	0,311
ПЯкмц, мкм <sup>2</sup>	33,8±9,9	35,9±12,4 p=0,018	28,7±5,2	36,1±7,2 p=0,021	0,978	0,186
ТЯкмц, мкм/ Ткмц, мкм	0,24±0,05	0,30±0,007 p=0,000	0,31±0,08	0,24±0,06 p=0,000	0,000	0,000

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; Ткмц – толщина кардиомиоцита; ТЯкмц – толщина ядра кардиомиоцита; ПЯкмц – площадь ядра кардиомиоцита; ТЯкмц, мкм/Ткмц – индекс отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита.

Заметно снижение показателя ядерно-цитоплазматического отношения (отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита) в группе животных с НЭ, получавших малобелковую диету (0,24±0,05) в сравнении с животными, получавшими стандартный корм (0,30±0,007; p=0,000). Показатели отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита в группах ложнооперированных животных также значительно различаются (0,31±0,08 в группе ЛО+МБД и 0,24±0,06 в группе ложнооперированных крыс, получавших стандартный рацион соответственно; p = 0,000). Такое снижение показателя отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита в данных группах обусловлено в большей степени снижением степени гипертрофии кардиомиоцитов (рисунок 40).

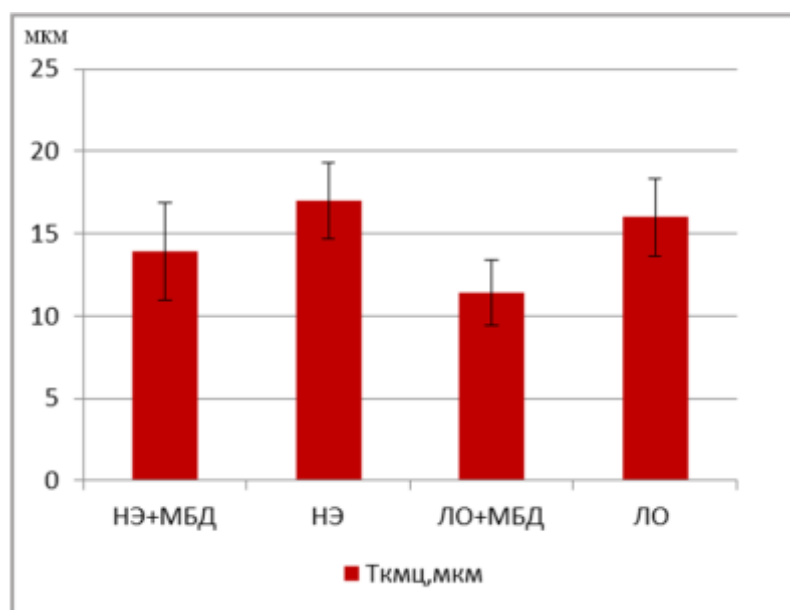


Рисунок 39. Изменение толщины кардиомиоцитов (Ткмц) у крыс линии SHR с нефрэктомией и ложнооперированных крыс при применении малобелковой диеты.

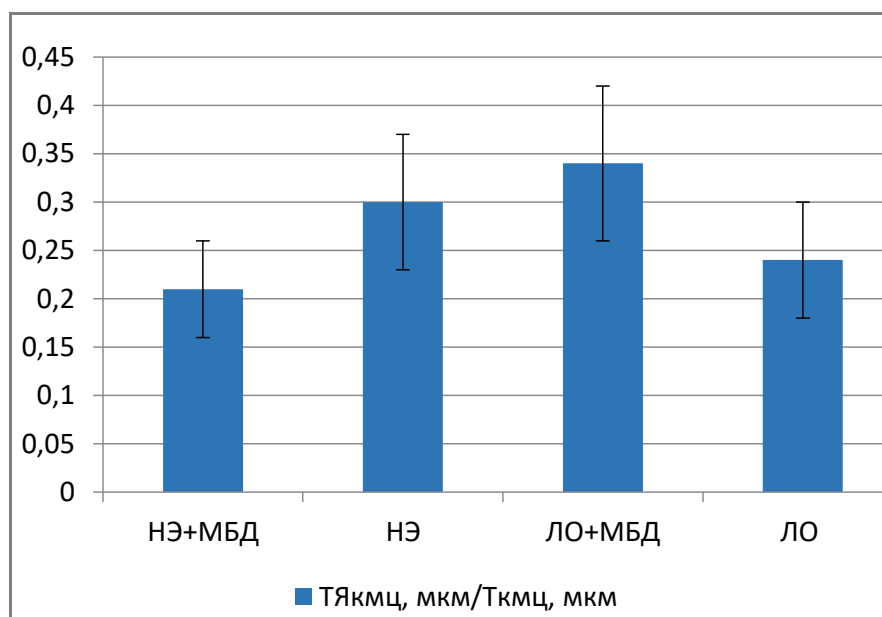


Рисунок 40. Показатель отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита (ТЯкмц, мкм/Ткмц, мкм) у крыс линии SHR с нефрэктомией и ложнооперированных крыс при применении малобелковой диеты.

При подсчете количества ядер в каждом отдельном кардиомиоците в группах животных с НЭ преобладают одноядерные кардиомиоциты (96% в группе

крыс, получавших малобелковую диету и 69% в группе крыс, получавших стандартный рацион). Вместе с тем, в группах ложнооперированных животных процент количества двуядерных кардиомиоцитов увеличивается. Однако в группе ЛО крыс, получавших малобелковую диету, он несколько ниже (8,6%), тогда как в группе ЛО животных, получавших стандартный рацион – доля двуядерных кардиомиоцитов составляет 11,9%, а трехъядерных кардиомиоцитов – 0,1% (рисунок 41).

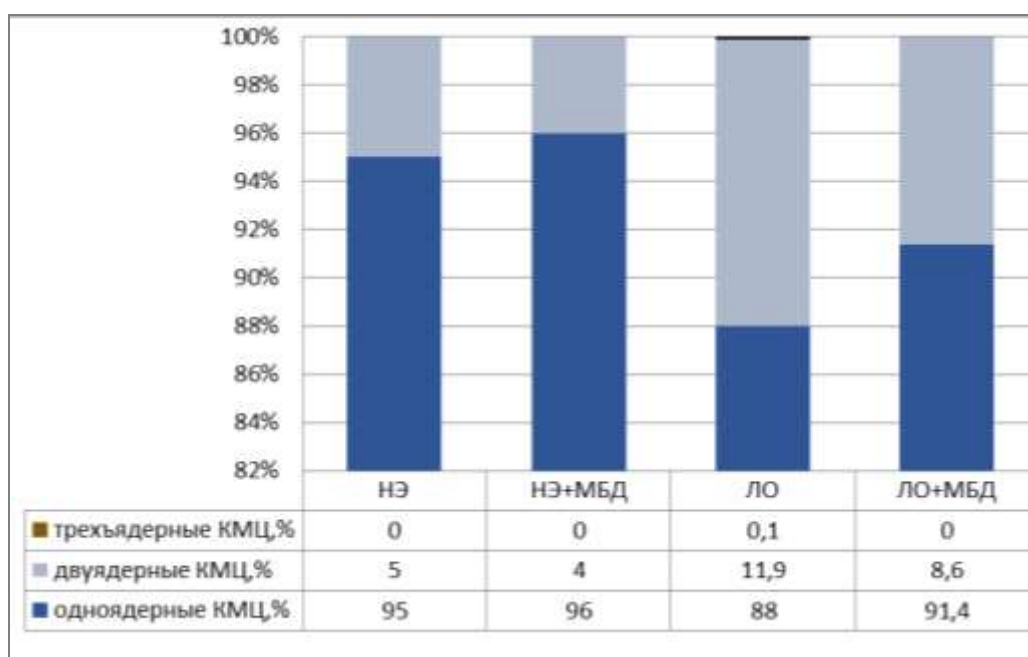


Рисунок 41. Отношение одноядерных и многоядерных кардиомиоцитов (%) у крыс SHR с нефрэктомией и ложнооперированных крыс, получавших малобелковую диету и находящихся на стандартной диете.

#### 3.4.5. Морфологические характеристики перестройки микроциркуляторного русла в миокарде крыс линии SHR при применении малобелковой диеты

В группе крыс с НЭ, получавших малобелковую диету, площадь открытых капилляров больше ( $1302,5 \pm 69,1$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с животными, получавшими



стандартный корм ( $826,9 \pm 78,9$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,004$ ) и соответствующей контрольной группой ( $672,4 \pm 105,2$  мкм<sup>2</sup>). При этом количество открытых капилляров в группе с НЭ, получавшей малобелковую диету также увеличивается –  $n=572$  (НЭ без МБД –  $n=351$ ) и превышает значение соответствующего показателя в группе ЛО животных, получавших малобелковую диету ( $n=339$ ) (рисунок 42; таблица 24).

Таблица 24 - Средние показатели площади склероза, площади капилляров, площади кардиомиоцитов и их отношения

SHR ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М $\pm$ ст.откл		ЛО, М $\pm$ ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=3	Без МБД n=9	+МБД n=5	Без МБД n=8	+МБД	Без МБД
Пкап, мкм <sup>2</sup>	1302,5 $\pm 69,1$ n = 572	826,9 $\pm 78,9$ p=0,004 n = 351	672,4 $\pm 105,2$ n = 339	727,3 $\pm 58,2$ p=0,083 n = 352	0,000	0,000
Пкмц, мкм <sup>2</sup>	21267,5 $\pm 3237,7$	17502 $\pm 4223,3$ p=0,796	16278,4 $\pm 2231,5$	14785,8 $\pm 4096,5$ p=0,432	0,006	0,215
Пкап, %/ Пкмц, %	0,061	0,047	0,041	0,049		
Пскл, мкм <sup>2</sup>	607,6 $\pm 306,7$	1228 $\pm 711,6$ p=0,005	1190,3 $\pm 735,46$	1160,4 $\pm 670,5$ p=0,034	0,001	0,852

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; Пкмц – площадь кардиомиоцитов; Пскл – площадь склероза; Пкап, мкм<sup>2</sup>/Пкмц, мкм<sup>2</sup> – отношение площади просветов капилляров к площади кардиомиоцитов.

У животных с НЭ и ложнооперированных животных, получавших малобелковую диету, показатель площади кардиомиоцитов больше ( $21267,5 \pm 3237,7$  мкм<sup>2</sup> и  $16278,4 \pm 2231,5$  мкм<sup>2</sup>) в сравнении с крысами, находившимися на стандартной диете ( $17502 \pm 4223,3$  мкм<sup>2</sup>;  $p=0,006$  и

14785,8±4096,5 мкм<sup>2</sup>;  $p=0,215$  соответственно). Также показатель площади склероза у крыс с НЭ, получавших малобелковую диету (607,6±306,7), в сравнении с животными с НЭ (стандартный рацион) (1228±711,6;  $p=0,005$ ) ниже.

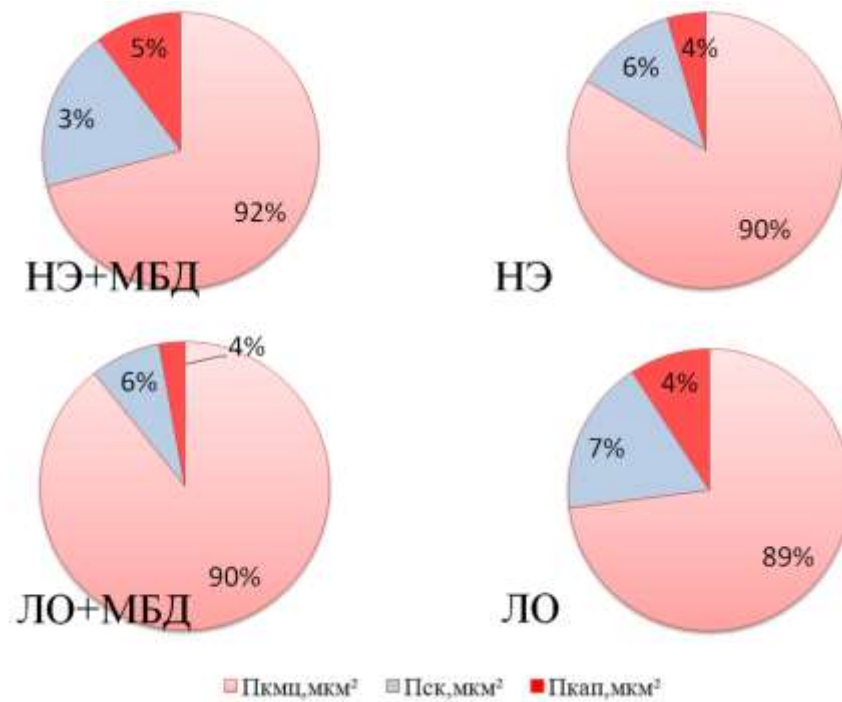


Рисунок 42. Процентное соотношение площади функционирующих капилляров (Пкап), площади кардиомиоцитов (Пкмц) и площади склероза (Пскл) в миокарде крыс SHR с нефрэктомией, получавших малобелковую диету и крыс, получавших стандартный корм.

При сопоставлении компонентов миокарда в процентном соотношении отмечается увеличение показателя отношения площади капилляров к площади кардиомиоцитов (0,061) у крыс с НЭ, получавших малобелковую диету по отношению к соответствующему показателю в группе крыс с НЭ, получавших стандартный корм (0,047).

Данный факт обусловлен главным образом снижением площади, занятой соединительной тканью до 3% (607,6±306,7 мкм<sup>2</sup>) в совокупности с увеличением общей площади поперечного сечения капилляров до 5% (1302,5±69,1 мкм<sup>2</sup>) (при

увеличении количества открытых капилляров) у крыс SHR, получавших малобелковую диету.

#### 3.4.6. Морфологические изменения капиллярного русла и сосудов артериального типа в миокарде крыс линии SHR при применении малобелковой диеты

У животных с НЭ в обеих группах (получавших малобелковую диету и получавших стандартный корм) при гистологическом исследовании выявляются признаки спазма сосудов (округлая форма сосуда, извитой ход внутренней эластической мембраны). Сохранялись микроскопические признаки повреждения эндотелия (эндотелиоциты располагались под углом к стенке сосуда), развивался периваскулярный склероз (рисунок 43).

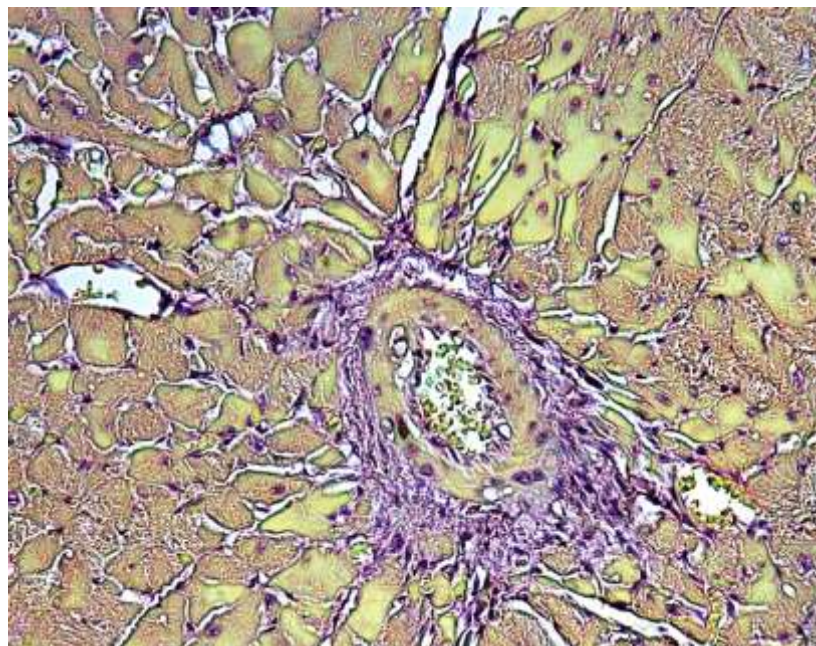


Рисунок 43. Периваскулярный склероз и повреждение эндотелия у крысы линии SHR с нефрэктомией, получавшей малобелковую диету. Окраска: пикрофуксином по ван Гизону. Ув. 400.

При применении малобелковой диеты у крыс с НЭ индекс Керногана был ниже, чем у крыс с НЭ, получавших стандартный рацион ( $0,31 \pm 0,15$  мкм против

0,40±0,1 мкм соответственно;  $p = 0,050$ ). Также в обеих группах животных с НЭ не были выявлены различия в показателях внутреннего диаметра сосудов (в группе НЭ+МБД – 41,7±24,6 мкм и НЭ без МБД – 40,3±28,1 мкм;  $p = 0,736$ ). В сравнении с соответствующей группой ложнооперированных животных, получавших малобелковую диету, у последних увеличивается как внутренний диаметр сосудов (70,5±43,2 мкм;  $p = 0,000$ ), так и толщина стенки сосуда (29,5±6,04 мкм;  $p = 0,000$ ) (таблица 25).

Таблица 25 – Изменение толщины стенки сосудов и их внутреннего диаметра, индекса Керногана, площади периваскулярного склероза у крыс линии SHR при применении малобелковой диеты и стандартного рациона

SHR ХПН 2 месяца	НЭ 5/6, М±ст.откл		ЛО, М±ст.откл		Межгрупповые различия, р.	
	+МБД n=3	Без МБД n=9	+МБД n=5	Без МБД n=8	+МБД	Без МБД
ТСс, мкм	17,7±11,5	15,1±7,1 $p=0,003$	29,5±6,04	14,4±9,4 $p=0,000$	0,000	0,595
ДПс, мкм	41,7±24,6	40,3±28,1 $p=0,736$	70,5±43,2	36,3±28,4 $p=0,000$	0,000	0,294
Индекс Керногана	0,31±0,15	0,40±0,1 $p=0,050$	0,32±0,15	0,2±0,15 $p=0,003$	0,963	0,000
ПВС, мкм <sup>2</sup>	4141,6 ±80,7	10838,3 ±4252,6 $p=0,000$	3789,2 ±832,1	9155,4± 4070,6 $p=0,000$	0,312	0,507

Примечание: ЛО – ложнооперированные крысы; НЭ – нефрэктомия; МБД – малобелковая диета; ТСс – толщина стенки; ИК – индекс Керногана, толщина стенки сосуда/диаметр просвета сосуда; ПВС – площадь периваскулярного склероза;

Заметна разница показателей площади периваскулярного склероза у крыс с НЭ, получавших малобелковую диету (4141,6 ±80,7 мкм<sup>2</sup>), в сравнении с

животными, получавшими стандартный корм ( $10838,3 \pm 4252,6$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,000$ ). Схожие изменения наблюдаются в группах ложнооперированных крыс ( $3789,2 \pm 832,1$  мкм<sup>2</sup> у крыс, получавших МБД, и  $9155,4 \pm 4070,6$  мкм<sup>2</sup>;  $p = 0,000$  получавших стандартный корм).

### 3.4.7. Резюме

1. У животных линии SHR с нефрэктомией, а также у ложнооперированных животных на фоне применения малобелковой диеты происходит улучшение биохимических показателей (снижение показателей креатинина и мочевины в сыворотке крови, нормализация уровней кальция и фосфора), т.е. коррекция уремии, азотемии и минеральных нарушений.

2. При применении малобелковой диеты 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.

3. У крыс линии SHR при применении малобелковой диеты снижается степень гипертрофии кардиомиоцитов, а также показатель площади их ядер как в группах с нефрэктомией, так и у ложнооперированных животных. Показатели отношения толщины ядра кардиомиоцита к толщине кардиомиоцита в группах крыс с нефрэктомией, получавших малобелковую диету и ложнооперированных крыс равны.

4. При применении малобелковой диеты у крыс SHR в группе с нефрэктомией количество одноядерных кардиомиоцитов сопоставимо с животными с нефрэктомией, получавшими стандартный корм. Аналогичные изменения выявлены в группах ложнооперированных животных независимо от их пищевого рациона.

5. При применении малобелковой диеты у крыс SHR с нефрэктомией выявлено увеличение площади поперечного сечения капилляров и их количества, а также значение показателя отношения площади капилляров к площади кардиомиоцитов

6. При применении малобелковой диеты у животных с нефрэктомией отмечено увеличение общей площади поперечного сечения капилляров и их количества в сравнении с животными с нефрэктомией, получавшими стандартный корм.

7. Значительное уменьшение площади склероза у крыс линии SHR с нефрэктомией, получавших малобелковую диету (диффузного и периваскулярного), обусловлено главным образом уменьшением степени уремии (снижение токсического действия) и гипоксии.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ ИССЛЕДОВАНИЯ

В результате выполненного комплексного морфологического исследования миокарда крыс экспериментальной ХПН на сроках 2 и 4 месяца после НЭ значимые морфологические изменения были выявлены во всех структурных компонентах миокарда (кардиомиоциты, строма, сосуды).

В экспериментальных моделях ХПН (нефрэктомия 5/6) патогенез ренальной АГ обусловлен снижением количества функционирующих нефронов, и, как результат, снижением способности почек выводить воду и соль. Следовательно, соль и вода, накапливаясь во внеклеточной жидкости, способствуют увеличению объёма циркулирующей крови и СВ. При краткосрочном подъёме АД происходит снижение общего периферического сопротивления сосудов благодаря барорецепторным механизмам в крупных артериях и аорте. Однако при длительной АГ барорецепторы адаптируются и более не препятствуют повышению АД. В дальнейшем происходит прогрессивное увеличение общего периферического сопротивления (сужение артериол), которое направлено на нормализацию сердечного выброса и местного кровотока в тканях. Результатом сужения просвета артериол является понижение давления в капиллярах. Следующим этапом является реабсорбция тканевой жидкости в кровяное русло и нарастание гипертензии, что в совокупности способствует выведению избыточного объёма жидкости из сосудистого русла почками. Также происходит накопление продуктов обмена – мочевины и креатинина. Эти субстанции активно не реабсорбируются в канальцевой системе почек. Как следствие, тяжёлый ацидоз в совокупности с нарастающей уремией и нарушениями минерального обмена являются финальными звеньями описанного выше патогенетического каскада (Kochansky C.J., 2000).

Таким образом, при оценке миокарда крыс через 2 и 4 месяца после НЭ мы обнаружили морфологические изменения, обусловленные главным образом:

- 1) гипертензией и возросшим общим периферическим сопротивлением сосудов;
- 2) метаболическими нарушениями (азотемией, уремией, гиперфосфатемией и гипокальциемией).

На ранних сроках ХПН изменения в миокарде характеризовались нарастающей гипертрофией кардиомиоцитов, обусловленной прогрессирующей АГ. На более поздних сроках ХПН на фоне прогрессирующей гипертрофии кардиомиоцитов нарастали дистрофические изменения (миоцитоллизис, контрактурные изменения), а также диффузный и периваскулярный фиброз, что было расценено как результат токсического действия на миокард прогрессирующей уремии и гипокальциемии. Аналогичные результаты были продемонстрированы другими авторами, которые использовали 5/6 нефрэктомии у крыс как экспериментальную модель ХПН (Bongartz L.G., 2012).

Компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов сопровождалась увеличением объема их ядер. Между объемом ядра гипертрофированной клетки и количеством копий ДНК в нем существует прямая линейная зависимость (Linzbach A.J., 1960). Увеличение объема ядра гипертрофированного кардиомиоцита свидетельствует об усилении активности генов, отвечающих за синтез сократительных и регуляторных белков, что также подтверждается результатами наблюдений других исследователей (Nozyński J., 2009; Olivetti G., 1992). При этом было замечено, что к 4-ем месяцам ХПН в гипертрофированных кардиомиоцитах прирост объема цитоплазмы не сопровождался резким увеличением объема ядра, о чем свидетельствовало прогрессирующее снижение показателя ядерно-цитоплазматического отношения.

Немногие авторы отмечали присутствие митоза в кардиомиоцитах (Wegner, Molbert, 1966; Sasaki, Morishita, 1968; Grajek S., 1993), при этом амитоз описывался часто (Adler C.P., 1975; Ferrans V.J., Rodríguez E.R., 1987, Хряпенкова Т. Г., 2010). Активная пролиферация кардиомиоцитов после повреждения была зарегистрирована у амфибий и рыб. При этом наблюдали экспрессию генов,



характерных для эмбрионального периода (Tbx-5, GATA-4, GATA-5, Nkx-2,5) (Poss, K. D., 2002; Mohammadi M., Badder K., 2017). У млекопитающих такая особенность продемонстрирована на мышцах линии Murphy Roth Large (MRL) (в ядрах кардиомиоцитов была выявлена S-фаза митотического цикла) (Leferavich, J. M., 2001). В исследованиях, посвященных изучению пролиферативной активности кардиомиоцитов в миокарде человека, есть указания на то, что митотическое деление возможно (Reiss, K., 1996). Наибольшим пролиферативным потенциалом обладают кардиомиоциты предсердий – 40% от общего числа кардиомиоцитов могут вступить в митоз (Румянцев П. П., 1982). Однако вопрос о пролиферативных процессах и возможности митоза в кардиомиоцитах человека до сих пор окончательно не решен (Jan Kajstura et al., 1998). Полагают, что число кардиомиоцитов устанавливается в раннем периоде жизни человека и остается постоянным (Bergmann O. et al., 2015). В нашем исследовании было отмечено увеличение количества кардиомиоцитов с одним крупным центрально расположенным ядром и появление трехъядерных и многоядерных кардиомиоцитов (до шести ядер в одном кардиомиоците). В единичных кардиомиоцитах регистрировались ядра с ядерного маркера пролиферации Ki-67. Таким образом, мы наблюдали два вида внутриклеточного деления (эндомиоз, амитоз) и митоз. Выявленные морфологические признаки усиления регенеративных процессов в кардиомиоцитах с преобладанием эндомиоза можно представить, как один из компенсаторно-приспособительных механизмов при прогрессировании ХПН.

О преобладании повреждения при ХПН над компенсаторными возможностями миокарда свидетельствует наличие склероза. К концу 2-го месяца у крыс с нефрэктомией площадь склероза практически не отличалась от контрольной группы, однако к 4-му месяцу ХПН она увеличилась вдвое (19% от общей площади препарата). Полученные данные сопоставимы с результатами аналогичных исследований (Mall G., 1988; Hatori N., 2000).

Одной из основных причин склероза в миокарде при ХПН принято считать прогрессирующую гипоксию (гемическую, циркуляторную и тканевую), при которой метаболизм переходит на анаэробный путь гликолиза. При этом возрастает потребность в большей концентрации глюкозы в крови. Происходит накопление молочной кислоты. АТФ расщепляется до АДФ и затем до аденозина, который проходит через мембрану кардиомиоцита и попадает в кровеносное русло (Dyck J.R.2006; Carvajal K.,2003). Вследствие этого формируется энергетическая недостаточность миокарда, что является предпосылками к гибели кардиомиоцитов при хронической гипоксии, и замещение их соединительной тканью. Параллельно в условиях хронической гипоксии в результате активации фибробластов активно синтезируется коллаген I и III типов, обуславливающий развитие в миокарде метаболического склероза, как диффузного, так и периваскулярного (Eghbali M.,1990). Было показано, что в миокарде человека с сердечной недостаточностью на кардиомиоцитах и стромальных клетках миокарда увеличивается количество рецепторов к инсулин-подобному фактору роста, что делает эти клетки более чувствительными к другим факторам роста тоже (Olivetti G.,1996).

Такие нарушения минерального обмена, как гиперфосфатемия и гипокалиемия у пациентов с ХПН также являются косвенными причинами развития склеротических изменений. Избыточное потребление фосфора с пищей у таких пациентов приводит к увеличению синтеза фактора роста фибробластов 23 (FGF-23) остеоцитами (Yilmaz M.I. et al., 2010; Craver L. et al., 2007). При увеличении концентрации в сыворотке крови FGF-23 ингибируется синтез кальцитриола в почках, вследствие чего понижается всасывание фосфора в кишечнике и, как следствие, уровень кальция в крови, являющейся стимулом для усиления секреции паратгормона. Изменение концентрации FGF-23 и усиление синтеза коллагена I и III типа способствуют развитию диффузного склероза в миокарде (Шурыгина И. А., 2012). В связи с этим профилактика

гиперфосфатемии и гипокальциемии у пациентов с ХПН является важной задачей в современной кардионепротекивной стратегии (Milovanova L. et al. 2012).

При ИГХ-исследовании с антителами к маркеру пролиферации Ki-67 в ядрах стромальных клеток миокарда животных с НЭ также выявлены признаки пролиферативной активности.

При ХПН описывается утолщение внутренней оболочки средних и малых артерий сердца, что приводит к изменению коронарного кровотока и уменьшению перфузии миокарда. В патогенезе утолщения интимы многими авторами отмечена роль высокой концентрации паратгормона (Rambausek M., 1982; Amann K., 1994, 1995). Результаты нашего исследования сосудистого русла миокарда показали, что при ХПН происходит значительное уменьшение внутреннего диаметра просвета сосудов артериального типа, которое было обусловлено:

- 1) увеличением толщины стенки сосудов за счет гипертрофии и пролиферации ГМЦ, спазмом;
- 2) периваскулярным фиброзом.

Наиболее выраженные изменения развивались к 4-м месяцам ХПН (индекс Керногана –  $0,49 \pm 0,1$ ).

Даже незначительное изменение диаметра просвета сосуда приводит к существенным изменениям объема крови, протекающей за единицу времени. Данный факт обусловлен ламинарным движением крови по сосудам и наличием параболического профиля слоев крови (центральные слои движутся намного быстрее, чем пристеночные). При этом в мелких сосудах деления профиля кровотока на слои не происходит, кровь в них движется очень медленно. По закону Пуазеля:

$$F = \frac{\pi \Delta P r^4}{8 \eta l}, \quad (1)$$

где  $F$  – скорость кровотока,  $\Delta P$  – градиент давления в сосуде,  $r$  – радиус поперечного сечения просвета сосуда,  $l$  – длина сосуда,  $\eta$  – вязкость крови.

Из этого следует, что первостепенное влияние на величину кровотока в сосуде оказывает диаметр его просвета. А повышение индекса Керногана

некоторые авторы рассматривают как независимый предиктор высокого риска развития сердечно-сосудистых осложнений (Rizzoni D., 2003).

Отмечена роль пролиферации эндотелиальных клеток в уменьшении просвета интрамуральных артерий, при этом во многих исследованиях, посвященных процессам ангиогенеза в миокарде, отмечается снижение пролиферативной активности в эндотелии сосудов (Okruhlicová L., 2000; Arnal J.F., 1993). В нашем исследовании регистрировалась экспрессия Ki-67 в ядрах эндотелиоцитов у крыс с ХПН продолжительностью 2 и 4 месяца. Усиление пролиферативной активности в эндотелиоцитах при ХПН связывают с нарастающей гипоксией и эндотелиальной дисфункцией на фоне прогрессирующей уремии. При эндотелиальной дисфункции происходит снижение уровня выработки эндотелиального сосудорасширяющего фактора (оксида азота (NO)) эндотелиоцитами артериол. Оксид азота вырабатывается в результате действия силы трения тока крови об эндотелиальную выстилку сосудов при повышении внутрисосудистого давления. Данный механизм очень важен для регулирования внутреннего диаметра сосудов (Амбросова, Т. Н., 2013; Гетьман, О. И., 2011). Также отмечена роль оксида азота в снижении степени гипертрофии и пролиферации гладкомышечных клеток в стенках сосудов (Розендорфф К., 2007; Reddy Y.S., 2015). Важнейшим из пептидов, выделяющимся при повреждении эндотелия и приводящим к развитию длительного и стойкого спазма, является эндотелин – 1 (ЭТ-1) (Dhaun N., 2006). Результатом взаимодействия ЭТ-1 с рецепторами ЭТ<sub>А</sub> (локализованы на гладкомышечных клетках (ГМК) сосудов) и ЭТ<sub>В</sub> (локализованы на эндотелиоцитах и ГМК сосудов) является гипертрофия и пролиферация гладкомышечных клеток в стенках сосудов, развитие стойкого спазм, активация выделения NO эндотелиоцитами. Отсутствие рецептора ЭТ<sub>В</sub> в эндотелии сосудов сердца оказывает сосудосуживающее действие на артерии сердца (Розендорфф К.; 2007).

Таким образом, выявленные в нашем исследовании морфологические изменения в стенках сосудов миокарда крыс (увеличение толщины за счет

пролиферации и гипертрофии гладкомышечных клеток, признаки эндотелиальной дисфункции, развитие спазма и периваскулярный фиброз) могут свидетельствовать о значительном структурном нарушении коронарных артерий при увеличении сроков длительности ХПН, что несомненно влияет на трофические процессы в миокарде.

Нами было установлено, что при увеличении длительности ХПН, несмотря на прогрессирующие склеротические изменения, количество капилляров в оставшемся гипертрофированном миокарде увеличивается, что достигается путем значительной перестройки микроциркуляторного русла.

У крыс с НЭ длительностью 2 месяца основными изменениями явились: увеличение площади, занятой капиллярами (к 2 месяцам ХПН до 9%), увеличение площади сечения отдельно взятого капилляра в более чем 4 раза и снижение количества функционирующих капилляров. При этом процент площади, занятой кардиомиоцитами, снижался (82%) за счет нарастания склероза (9%), соответственно отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов значительно увеличилось (0,109). В совокупности, выявленные структурные изменения могут быть основой для усиления капиллярного кровотока в миокарде, при этом, однако, все равно сохраняется тенденция к прогрессированию недостаточности миокарда (Waller С., 2008).

При увеличении длительности ХПН до 4 месяцев показатели количества функционирующих капилляров, среднего значения площади сечения одного капилляра и общая площадь капилляров увеличивались и практически достигали соответствующих значений в контрольной группе. Однако, учитывая выраженные склеротические изменения в миокарде к концу 4 месяца в группе с НЭ (площадь склероза – 19%, площадь кардиомиоцитов – 71%, площадь функционирующих капилляров – 10%), отмечалось нарастание отношения площади капилляров к площади кардиомиоцитов (0,129).

Функциональное состояние капиллярного русла характеризуется количеством «открытых», т.е. функционирующих в данный момент времени

капилляров. Установлено, что в норме отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов равняется 0,050 – 0,075, т.е. объем капилляров составляет 5 – 7 % от объема кардиомиоцитов (Непомнящих Л.М. и др., 1986). При краткосрочном увеличении потребности миокарда в кислороде происходит открытие нефункционирующих капилляров. В случае хронической гипоксии, которая является стимулом для продукции сосудистых факторов роста, наблюдается неоангиогенез. При прогрессировании ХПН и высоких темпах развития гипертрофии миокарда количество функционирующих капилляров уменьшается. Это может быть следствием быстрого развития гипертрофии кардиомиоцитов, в результате чего капиллярное русло просто не успевает за нарастающей мышечной массой. Помимо этого, известно, что в сопровождении прогрессирующей АГ повышается напряженность стенки миокарда, что способствует увеличению периваскулярной компрессии (Кобалава Ж.Д., 2009). А кроме того, показано, что у пациентов с патологией почек происходит ингибирование ангиогенеза за счет снижения выработки факторов роста сосудов, увеличения выработки антагонистов к этим факторам и снижения количества рецепторов к сосудистым факторам роста. (Hara A., 2006; Kang D.H., 2001; Yuan H.T., 2002).

Уже на ранних стадиях ХПН, когда развивается протеинурия (альбуминурия), происходит усиленная реабсорбция белка в почечных канальцах. В свою очередь нарастающая концентрация мочевины в крови приводит к развитию оксидативного стресса и активации ядерного транскрипционного фактора NF- $\kappa$ B, выработки медиаторов (цитокинов, адгезивных молекул, хемокинов, факторов роста и др.), что способствует развитию повреждения в интерстиции почек и фиброза (Мухин Н.А., 2009; Satoh M., 2003).

На поздних стадиях ХПН, когда СКФ значительно снижена, повышенное потребление животного белка приводит к значительному повышению уровня мочевины и креатинина в крови. Таким пациентам показано назначение диеты с ограничением животного белка и фосфора, основная цель которой – уменьшение нагрузки на функционирующие нефроны, уменьшение азотемии и,

соответственно, замедление прогрессирования ХПН. Диета с малым потреблением белка (0,6-0,8 г/кг/сут.) должна включать все незаменимые аминокислоты, которые не синтезируются в организме (поступают только с пищей). В этом отношении наиболее ценными белками являются белок мяса птицы и яичный белок. Однако на сегодняшний день существуют препараты с оптимальным соотношением аминокислот, которые могут компенсировать до половины суточной потребности белка. Одним из таких препаратов является Кетостерил. В него включены не только аминокислоты, но и кетокислоты, не содержащие азот (в них аминогруппа заменена на кетогруппу). В организме они трансформируются в необходимые аминокислоты, захватывая азот, благодаря чему этот препарат способствует снижению уровня мочевины. Исследования последних десятилетий продемонстрировали значительную роль назначения малобелковой диеты у пациентов с ХПН как на ранних стадиях ее развития (стадия гиперфильтрации), так и на поздних стадиях ХПН, когда СКФ значительно снижена и развивается уремия.

В нашем исследовании, в главе, посвященной изучению миокарда крыс с нефрэктомией при применении малобелковой диеты, отмечалось снижение концентрации азота и мочевины в крови, нормализация фосфорно-кальциевого обмена. На этом фоне отмечалась нормализация цифр АД (данный показатель соответствовал таковому в группе ложнооперированных крыс). Учитывая, что одним из главных факторов в развитии структурно-функционального ремоделирования миокарда при ХПН является артериальная гипертензия, закономерным оказалось снижение массы сердца и толщины стенки ЛЖ миокарда у крыс, получавших малобелковую диету. При гистологическом исследовании миокарда крыс с нефрэктомией получавших малобелковую диету, отмечалось снижение степени гипертрофии кардиомиоцитов и исчезновение контрактурно-литических изменений в их цитоплазме, что может быть связано прежде всего с нормализацией обмена кальция. Одним из важных изменений, связанным с нормализацией обмена кальция, является увеличение внутреннего диаметра

сосудов артериального типа. Морфологическим подтверждением этому стало отсутствие признаков спазма при том, что толщина стенки сосудов не становилась меньше. Однако, учитывая тот факт, что объем кровотока прямо пропорционален величине внутреннего диаметра сосуда, можно говорить о положительном влиянии малобелковой диеты на пропускную способность артериального русла миокарда и увеличении коронарного кровотока.

Также в нашем эксперименте у животных с нефрэктомией, получавших малобелковую диету, площадь «открытых» капилляров снижалась, однако количество «открытых» капилляров увеличивалось, и площадь их составила 5% (площадь кардиомиоцитов 83%). При этом объёмное отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов составило 0,060, что свидетельствует о восстановлении адекватного кровообращения в микроциркуляторном русле миокарда. Такие изменения можно объяснить снижением давления окружающих кардиомиоцитов в которых была менее выражена гипертрофия и контрактуры.

Уменьшение площади склероза (диффузного и периваскулярного) было связано с улучшением коронарного кровотока и микроциркуляции, а также снижением степени уремии.

У крыс линии SHR (инбредная линия – являются потомками беспородных самцов Wistar со спонтанной гипертензией и самок с повышенным АД из колонии в Киото, Япония) цифры систолического АД составляют не менее 150 мм рт. ст. (Kamoto K., 1963). Установлено, что на ранних стадиях АГ у крыс SHR увеличен сердечный выброс при нормальном общем периферическом сопротивлении сосудов. По мере прогрессирования АГ за счет гипертрофии стенок сосудов ОПСС повышается и сердечный выброс возвращается к норме (Smith T.L., 1979). Одним из преимуществ крыс линии SHR является стадийность развития у них АГ, как и у человека, и каждая стадия продолжается не менее нескольких недель (Folkow B., 1993). Так нарушения функции сердца отмечают уже через 28 дней после НЭ 5/6, а гипертензию, гипертрофию и фиброз уже после 16 дней (Raine A.E., 1993).



В одинаковой степени у крыс с НЭ стока Wistar и линии SHR развивается гиперфосфатемия. Гипокальциемия наблюдается только у крыс с НЭ стока Wistar ( $0,92 \pm 0,09$  ммоль/л), тогда как у крыс с НЭ линии SHR уровень кальция в сыворотке крови находится в пределах нормальных значений. Нормализация уровня кальция во внеклеточной жидкости при ХПН может быть достигнута путем усиленной выработки паратгормона, увеличения количества фосфатов в плазме крови, развития метаболического ацидоза. У крыс линии SHR, по данным литературы, выявлены модификации в строении каналов мембран митохондрий, из-за чего быстро наступает перегрузка митохондриального матрикса ионами кальция. В результате происходит усиленное выделение транспортной цепью продуктов аэробного метаболизма с образованием высокотоксичных продуктов (взаимодействие супероксида с NO и образование пероксинитрита, способного разрушать белковые, липидные молекулы и нуклеотиды) (Zamzami N. et al., 1997; Ellenby E. et al., 1997; Skulachev V.P., 2000).

Обнаруженные изменения (гипертрофия кардиомиоцитов и одновременное уменьшение их общей площади в препаратах) можно характеризовать как специфическую компенсаторно-приспособительную реакцию, что, по результатам схожих исследований, связано с усилением апоптоза в кардиомиоцитах у крыс линии SHR (метод с использованием TUNEL = Terminal Deoxynucleotidyl Transferase-Mediated dUTP (2'-Deoxyuridine 5'-Triphosphate)). Также снижение апоптоза отмечено в группах экспериментальных животных, в чей рацион входили ингибиторы ангиотензинпревращающего фермента (Li Z., et al., 1997). Важно, что при развитии уремии отмечают усиленное образование провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 $\beta$ , ФНО- $\alpha$ , ИЛ-6), что опосредует прогрессирование гипертрофии миокарда, усиление диффузного фиброза и запуск программ апоптоза кардиомиоцитов (Meldrum D.R., 1998). Провоспалительные цитокины способствуют активации iNO – синтазы, являются стимуляторами синтеза NO в кардиомиоцитах, который оказывает прямое токсическое действие и приводит к гибели кардиомиоцитов (Gibbons G.H. et al., 1994).

У крыс линии SHR ОПСС изначально повышено и, выраженный периваскулярный склероз (обеспечивает жесткость сосудистой стенки) способствует поддержанию ОПСС на еще более высоком уровне, что закономерно приводит к снижению коронарной перфузии (Shimokawa H. et al., 1996). К этому можно добавить, что у крыс линии SHR темпы развития периваскулярного склероза опережают процессы гипертрофии стенок сосудов, что приводит к их перекалибровке.

Патогенез периваскулярного склероза при ХПН и уремии связан с воздействием биомаркеров системного воспаления (повышение уровня С-реактивного пептида, интерлейкина-6, TNF- $\alpha$ , активных форм кислорода) на эндотелий сосудов, что приводит к его повреждению, развитию окислительного стресса и эндотелиальной дисфункции (Honda H. et al, 2006; Stinghen A.E. et al., 2010; Carmona A. et al, 2011). На этом фоне отмечают усиление выработки медиаторов воспаления и факторов роста, в том числе TNF- $\beta$ -1, который закономерно обуславливает усиленный синтез фибробластами коллагена I и III типов и развитие периваскулярного и диффузного склероза.

Значительный негативный вклад в развитие периваскулярного склероза и эндотелиальной дисфункции при ХПН, помимо уремических токсинов, вносит повышение уровня ангиотензина II (Lijnen P.J. et al., 2000). В миокарде под влиянием ангиотензина II на рецепторы 1-ого типа увеличивается синтез коллагена фибробластами (опосредованно через повышение концентрации TGF- $\beta$ -1). В опытах на крысах было показано, что повышенная концентрация в плазме крови альдостерона (в результате активации РААС) также приводит к развитию периваскулярного склероза (Weber K.T. et al., 1993; Sopel J.M. et al., 2010). Альдостероновые рецепторы выявлены на мембранах кардиомиоцитов, эндотелиальных клетках и фибробластах стромы миокарда. При связи альдостерона (в сочетании с АТII) с кортикоидными рецепторами 1-ого типа регистрируется усиленная активация фибробластов и синтез коллагена I и III типов, что более выражено в периваскулярной зоне вокруг артерий миокарда

мелкого и среднего калибра (Brilla C.G. et al., 1992; Weber K.T. et al., 1992). Имеет значение тот факт, что при опосредованном действии альдостерона отмечено развитие локального воспаления в интима сосудов и в периваскулярной зоне. Также отмечено образование АТII в интерстиции миокарда (усиление экспрессии информационной рибонуклеиновой кислоты АПФ в кардиомиоцитах), который увеличивает количество рецепторов к АТII в сердечно-сосудистой системе, усиливая действие РААС (Delcayre C. et al., 2002). Стоит отметить, что применение блокаторов рецепторов к АТII приводит к снижению фиброза в миокарде и уменьшает степень гипертрофии миокарда стенки левого желудочка (Billet S. et al., 2008; Schmieder R.E. et al., 2007).

Результаты четвертой части эксперимента, выполненной на крысах линии SHR с длительностью ХПН 2 месяца, также показывают положительный кардиопротективный эффект от применения малобелковой диеты. В первую очередь это связано со снижением степени уремии (показателей креатинина и мочевины сыворотки крови), а также нормализацией фосфорно-кальциевого обмена. Данные изменения в наибольшей степени опосредованы положительными эффектами от применения препарата Кетостерил, в котором в виде кальциевых солей представлены соединения, включающие метионин и кетокислоты. Таким образом, восполняется дефицит кальция (о чем также свидетельствуют отсутствие очагов миоцитолита и контрактурных изменений в кардиомиоцитах), ликвидируется избыточное содержание фосфора в сыворотке крови. При этом следует отметить снижение степени уремии у ЛО животных в сравнении с получавшими стандартный рацион, что может служить предпосылками к применению малобелковой диеты у пациентов с артериальной гипертензией и, тем самым, пролонгировать начальную стадию почечной недостаточности.

Описанные изменения являются решающими в предотвращении нарастания степени гипертрофии кардиомиоцитов у крыс с генетической предрасположенностью к артериальной гипертензии, у которых изначально

определяются высокие цифры АД (ложнооперированные крысы). Снижение цифр АД как у животных с НЭ, так и у ложнооперированных крыс оказывало прямое влияние на ремоделирование сердца (снижение показателя толщины стенки левого желудочка и массы сердца) и степень гипертрофии кардиомиоцитов.

В ходе эксперимента были выявлены особенности изменений ядер кардиомиоцитов у крыс линии SHR с НЭ как в группе, получавшей МБД, так и в группе, получавшей стандартный рацион. В обеих группах наблюдалось увеличение количества одноядерных кардиомиоцитов (т.е. преобладал эндомитоз) и увеличение площади ядер. Также процент одноядерных кардиомиоцитов и площадь ядер возрастали в группе ложнооперированных животных, получавших малобелковую диету. Выявленные морфологические признаки усиления регенеративных процессов в кардиомиоцитах у крыс линии SHR могут свидетельствовать о неизбежном включении компенсаторно-приспособительных механизмов при прогрессировании ХПН. Однако степень их выраженности будет зависеть от стадии почечной недостаточности, а также эффективности терапии в случае ее применения.

Несомненно, положительное влияние снижения АД и гипертрофии кардиомиоцитов на микроциркуляторное русло миокарда. При применении малобелковой диеты у крыс SHR с НЭ отмечено увеличение общей площади поперечного сечения капилляров и их количества в сравнении с животными с НЭ, получавшими стандартный корм. При исследовании микропрепаратов миокарда крыс SHR с НЭ определялось большое количество «открытых» капилляров с широким полнокровным просветом. Также увеличение их количества и средней площади поперечного сечения было зарегистрировано при морфометрическом анализе. 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.

Также нами было установлено, что несмотря на применение малобелковой диеты 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 ложнооперированных животных выявлена существенная разница в показателе внутреннего диаметра просвета сосудов у животных, получавших малобелковую диету ( $70,5 \pm 43,2$  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 линии SHR с НЭ при применении малобелковой диеты.

У крыс линии SHR ОПСС изначально повышено и выраженный периваскулярный склероз приводит к жесткости сосудистой стенки, что способствует поддержанию ОПСС на еще более высоком уровне (Shimokawa H. et al., 1996). При применении малобелковой диеты как у крыс SHR с НЭ, так и в группе ложнооперированных животных было выявлено значительное снижение площади периваскулярного склероза в сравнении с соответствующими группами животных, получавшими стандартный рацион. Данные изменения в наибольшей степени могут быть связаны со снижением степени уремии (Stinghen A.E. et al., 2010; Carmona A. et al, 2011) и синтеза коллагена в периваскулярной зоне под влиянием АТII в результате гипотензивного эффекта при применении малобелковой диеты (Lijnen P.J. et al., 2000).

Аналогичные изменения (уменьшение площади склероза) регистрируются в строме миокарда у крыс линии SHR при применении малобелковой диеты, что особенно заметно в группе животных с НЭ (показатель площади диффузного склероза у них был наименьший из всех групп исследования в данном эксперименте). При этом положительный эффект малобелковой диеты, 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.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты диссертационного исследования показывают, что артериальная гипертензия является основным фактором риска развития гипертрофии левого желудочка при ХПН. Основными морфологическими изменениями в миокарде при нарастающей ХПН являются гипертрофия кардиомиоцитов, очаговый миоцитоллиз, периваскулярный и диффузный склероз. Количество капилляров снижается, а общая их площадь и отношение площади капилляров к площади кардиомиоцитов увеличиваются. Стенки внутримиекардиальных артерий утолщаются за счет мышечного слоя, что сопровождается уменьшением диаметра их просвета. Особенности регенераторных процессов в миокарде при ХПН заключаются в увеличении количества кардиомиоцитов, содержащих одиночные крупные ядра, и многоядерных кардиомиоцитов (рассматривается как результат эндомитоза и амитоза, соответственно). При наличии генетической предрасположенности к артериальной гипертензии у крыс линии SHR описанные выше изменения более выражены - отмечается увеличение степени гипертрофии кардиомиоцитов, периваскулярного, диффузного склероза и индекса Керногана. Обнаруживаются дистрофические изменения кардиомиоцитов (миоцитоллиз), которые отражают эндогенную интоксикацию. Ремоделирование миокарда при ХПН и высоком АД имеют общие механизмы, что в значительной степени связано с вторичной гипертензией.

Из литературных данных следует, что при эффективной коррекции АД возможно снижение степени гипертрофии левого желудочка. Этот факт обуславливает важность подбора адекватной гипотензивной терапии (W.S. Aronow, 2017). В настоящем исследовании установлено, что применение малобелковой диеты способствует снижению цифр АД у животных в модели экспериментальной ХПН, что может быть обусловлено снижением уровня креатинина и мочевины (кетоналоги не одержат аминокислоты) в сыворотке крови, нормализацией фосфорно-кальциевого обмена (кетокислоты и метионин

представлены в виде кальциевых солей). Показано, что применение малобелковой диеты в модели ХПН оказывает кардиопротективный эффект, что выражается в снижении степени выраженности гипертрофии кардиомиоцитов, увеличении площади открытых капилляров на фоне увеличения их количества, увеличении диаметра просвета артерий миокарда и снижении площади периваскулярного и диффузного склероза.

Важно отметить положительный эффект малобелковой диеты у крыс линии SHR, у которых исходно высокие показатели АД обусловлены генетической предрасположенностью. Как показано в отдельных работах, у крыс линии SHR по мере прогрессирования АГ повышается ОПСС за счет гипертрофии мышечного слоя и на более поздних сроках присоединяется выраженный периваскулярный склероз, что в конечном итоге способствует поддержанию ОПСС на еще более высоком уровне (Smith T.L., 1979; Shimokawa H. et al., 1996). При применении малобелковой диеты как у крыс SHR с нефрэктомией, так и в группе ложнооперированных крыс было выявлено значительное снижение площади периваскулярного склероза в сравнении с соответствующими группами животных, получавшими стандартный рацион. Эти изменения могут быть связаны со снижением степени уремии (Stinghen A.E. et al., 2010; Carmona A. et al., 2011) и синтеза коллагена в периваскулярной зоне под влиянием ангиотензина II в результате гипотензивного эффекта при применении малобелковой диеты (Lijnen P.J. et al., 2000).

Продemonстрировано, что развитие почечной недостаточной в модели ХПН сопровождается выраженными структурными изменениями со стороны миокарда, которые нарастают по мере увеличения срока от момента развития почечной недостаточности. При этом одним из основных проявлений этого является увеличение толщины стенки левого желудочка, что на микроскопическом уровне проявляется гипертрофией кардиомиоцитов. Как было показано, в клинических исследованиях этот компонент является одним из основных проявлений поражения миокарда также и у пациентов с ХБП (Карабаева А.Ж., 2014). С одной



стороны это является наиболее распространённой патологией сердца у этих больных, а с другой стороны – независимым предиктором кардиальной смерти (Foley R.N., 1995). Так, в условиях лечения диализом по данным Фолей и соавторов, дилатация левого желудочка и увеличение индекса массы миокарда левого желудочка, являются независимыми предикторами высокой смертности даже у больных с нормальной систолической, функцией. В наблюдениях Левим и соавторов ГЛЖ выявляется у 20% больных при снижении СКФ до 60-50 мл/мин, у 31-35% при снижении СКФ до 49-25 мл/мин и значительно чаще (42-45%) при снижении СКФ до 25-16 мл/мин (Levin A., 1996). Более того по данным отечественных авторов гипертрофия стенки формируется уже на диализной стадии (Бадаева С.В., 2007). В то же время важно отметить активацию компенсаторно-приспособительных функций в миокарде крыс с нефрэктомией. Компенсаторная гипертрофия кардиомиоцитов сопровождается увеличением количества и объёма их ядер. Между объёмом ядра гипертрофированной клетки и количеством копий ДНК в нем существует прямая линейная зависимость (Linzbach A.J., 1960). Увеличение объёма ядра гипертрофированного кардиомиоцита свидетельствует об усилении активности генов, отвечающих за синтез сократительных и регуляторных белков, что также подтверждается результатами наблюдений других исследователей (Nozyński J., 2009; Olivetti G., 1992). Таким образом, выбранная модель экспериментальной почечной недостаточности позволяет в большей степени воспроизвести основные компоненты патогенеза ХПН и продемонстрировать особенности поражения миокарда на гистологическом уровне и, таким образом, оценить возможность их коррекции в эксперименте.

## 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 внутримиокардиальных 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, индекса 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 ЛИТЕРАТУРЫ

1. Автандилов Г. Г. Медицинская морфометрия. Руководство. — М.: Медицина, 1990. — 384 с.
2. Амбросова, Т. Н. Эндотелиальная дисфункция при гипертонической болезни / Т. Н. Амбросова // Міжнародний медичний журнал. — 2013. — Т. 19. — № 4. — С.16 — 21.
3. Бибков, Б. Т. О состоянии заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2003 гг. / Б. Т. Бибков, Н. А. Томилина // Нефрология и диализ. — 2005. — №3. — С. 204-265.
4. Бибков, Б. Т. Состояние заместительной терапии больных с хронической почечной недостаточностью в Российской Федерации в 1998–2007 гг. (Аналитический отчет по данным Российского регистра заместительной почечной терапии) / Б. Т. Бибков, Н. А. Томилина // Нефрология и диализ. — 2009. — № 11 (3). — Р. 144 — 233.
5. Гетьман, О. И. Роль факторов повреждения эндотелия в формировании аутоиммунных реакций у больных с артериальной гипертензией / О. И. Гетьман // Вестник неотложной и восстановительной медицины. — 2011. — Т. 12. — № 1. — С.88 — 90.
6. Деніна, Р. В. Особливості ендотеліальної дисфункції у хворих із повторними інфарктами міокарда і хронічною серцевою недостатністю / Р. В. Деніна // Галицький лікарський вісник. — 2011. — Т. 18. — № 2. — С.33 — 37.
7. Захарьевская М. А. Патологическая анатомия сосудистого нефросклероза. К морфологии гипертонической болезни. — М.: Академия медицинских наук СССР, 1952 — 135 с.
8. Кактурский Л. В. Внезапная сердечная смерть (морфологическая диагностика) / Л. В. Кактурский, М. Г. Рыбакова, И. А. Кузнецова // Библиотека патологоанатома. — СПб.: ГПАБ, 2008. — Вып. 100 — 80 с.

9. Карабаева, А. Ж. Ренин-ангиотензин-альдостероновая система при хронической болезни почек / А. Ж. Карабаева, И. Г. Каюков, А. М. Есаян, А. В. Смирнов // Нефрология. — 2006. — Т. 10(4). — С. 12 — 28.
10. Кобалава, Ж. Д. Артериальная гипертензия. Ключи к диагностике и лечению / Ж. Д. Кобалава, Ю. В. Котовская, В. С. Моисеев // ГЭОТАР-Медиа. — 2009. — С. 164 — 226.
11. Мационис, А. Э. Морфологический анализ патологических изменений в почках в зависимости от длительности артериальной гипертензии / А. Э. Мационис, М. М. Батюшин, П. Е. Повитайтите, А. С. Литвинов // Нефрология. — 2007. — Том 11, №3. — С. 53 — 56.
12. Мухин, Н. А. Нефрология: национальное руководство. — 2009. — ГЭОТАР-Медиа. — С. 720 — 739.
13. Непомнящих Л. М. Основные формы острых повреждений кардиомиоцитов по данным поляризационной микроскопии миофибрилл / Непомнящих Л. М. // Бюл. экспер. биол. — 1996. — Т. 120. — № 1. — С.4 — 13.
14. Непомнящих, Л. М. Морфометрия и стереология гипертрофии сердца / Л. М. Непомнящих, Е. Л. Лушникова, Г. И. Непомнящих // Новосибирск: Наука, 1986. — 304 с.
15. Непомнящих, Л. М. Регенераторно-пластическая недостаточность кардиомиоцитов при нарушении синтеза белков / Л. М. Непомнящих // Бюл. Эспер. Биол. и мед. — 2001. — Т. 131. — № 1. — С. 11 — 21.
16. Непомнящих, Л. М. Морфологические проявления «атеросклеротического сердца» (патологоанатомическое и экспериментальное исследование) / Л. М. Непомнящих, В.Д. Розенберг // Бюллетень СО РАМН. — 2006. — № 2 (120). — С. 118 — 125.
17. Николаев, А. Ю. Эритропоэтин: применение на ранней и диализной стадиях хронической почечной недостаточности. / А. Ю. Николаев, Л. В. Козловская // Нефрология. — 2001. — Т3(7). — С. 14 — 26.

18. Пушкарева, Т. А. Критерии оценки дисфункции эндотелия артерий и пути ее коррекции (обзор литературы) /Т. А. Пушкарева, Л. Б. Корякина, А. А. Рунович и др. // Клиническая лабораторная диагностика. — 2008. — № 5. — С. 1 — 8.
19. Ройтман, А. П. Динамика лабораторных маркеров эндотелиальной дисфункции при лечении больных с нестабильной стенокардией / А. П. Ройтман, Б. М. Танхилевич, В. В. Долгов и др. // Клиническая медицина. — 2012. — № 9. — С.43 — 46.
20. Румянцев, П. П. Кардиомиоциты в процессах репродукции, дифференцировки и регенерации. — Л.: Наука, 1982. — 288 с.
21. Рыбакова, М. Г. Патогенетические механизмы внезапной сердечной смерти / М. Г. Рыбакова, И. А. Кузнецова // Ученые записки СПбГМУ им. акад. И.П. Павлова. —2012. — Т. 19. — №2. — С. 64 — 67.
22. Смирнов, А. В. Превентивный подход в современной нефрологии / А. В. Смирнов, И. Г. Каюков, А. М. Есаян и др. // Нефрология. — 2004. — №8(3). — С. 7 — 14.
23. Смирнов, А.В. Эпидемиология и социально-экономические аспекты хронической болезни почек / А. В. Смирнов, В. А. Добронравов, И. Г. Каюков и др. // Нефрология. — 2006. — № 10(1). — С. 7 — 13.
24. Хряпенкова, Т. Г. Межклеточные взаимодействия мезенхимальных мультипотентных стромальных клеток и дифференцированных клеток сердца и почки: дисс. ... канд. биол. наук: 03.03.04 / Хряпенкова Татьяна Геннадиевна. — М., 2010. — 120 с.
25. Шляхто, Е. В. Клеточные аспекты патогенеза гипертрофической кардиомиопатии: роль полиплоидии кардиомиоцитов и активации в миокарде ядерного антигена пролиферирующей клетки / Е. В. Шляхто, Л. А. Бокерия, М. Г. Рыбакова, Е. Н. Семернин, Г. В. Селиванова, Т. Д. Власова, К. В. Борисов, В. Н. Парфенов, А. Я. Гудкова // Цитология. — 2007. — Т. 49. — № 10. — С. 817 — 823.

26. Шперлинг, И. Д. Число и размеры желудочковых кардиомиоцитов человека и количество ядер в них / И.Д. Шперлинг, Л.А. Аракелян // Цитология. — 1989. — № 4. — С. 426 — 430.
27. Шулуток, Б.И. Патология почек: Клинико-морфологическое исследование. Б.И.; Изд-во: С-Пб.: Санкт-Петербургского санитарно-гигиенического мединститута, 1993 г.
28. Шулуток, Б.И. Нефрология 2002. Современное состояние проблемы / Изд-во: Ренкор, 2002 г.
29. Шутов, А.М. Диагностика гипертрофии левого желудочка / А.М. Шутов, В.М. Ермоленко // Нефрология и диализ. — 2002. — №4(2). — С. 128 — 131.
30. Шурыгин, М. Г. Ангиогенез как адаптивный механизм при ишемии / М. Г. Шурыгин, И. А. Шурыгина, Дремина Н. Н и др. // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. — 2013. — № 5 (93). — С. 192 — 195.
31. Шурыгина, И. А. Фибробласты и их роль в развитии соединительной ткани // И. А. Шурыгина, М. Г. Шурыгин, Н. Н. Дремина и др. / Сибирский медицинский журнал (г. Иркутск). — 2012. — Т. 110. — № 3. — С. 8 — 12.
32. Ягода, А. В. Цитокины при малых аномалиях сердца: роль в формировании эндотелиальной дисфункции / А. В. Ягода, Н. Н. Гладких // Клиническая медицина. — 2007. — Т. 85. — № 7. — С.31 — 33.
33. Agarwal R. Blood pressure components and the risk for end-stage renal disease and death in chronic kidney disease. / R. Agarwal // Clin J Am Soc Nephrol. — 2009. — P. 4830 — 837.
34. Agarwal, R. Prevalence treatment, and control of hypertension in chornic hemodialysis patients in the United States / R. Agarwal, A.R. Nissenson, D. Batlle, D.W. Coyne, J.R. Trout et al. // Am J Med. — 2003. — Vol. 115. — P. 291 — 297.
35. Aiello, S. Nitric oxide / L-arginine in uremia / S. Aiello, M. Noris, G. Remuzzi, M. Negri // Miner Electrolyte Metab. — 1999. — Vol. 25 (4-6), — P. 384 — 390.



36. Alraies M. C. Adult heart transplant: indications and outcomes / M. C. Alraies, P. Eckman // *Journal of Thoracic Disease*. — 2014. — Vol. 6 (8), — P. 1120 — 1128.
37. Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States, National Institutes of Health, National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney Diseases. U.S. Renal Data System, USRDS 2011 // Bethesda, MD. — 2011.
38. Anversa, P. Myocardial response to infarction in the rat. Morphometric measurement of infarct size and myocyte cellular hypertrophy. / P. Anversa // *Am. J. Pathol.* — Vol. 118. — P. 484 — 492.
39. Aparicio M. Ketoacid therapy in predialysis chronic kidney disease patients: final consensus / M. Aparicio, V. Bellizzi, P. Chauveau, A. Cupisti, T. Ecker, D. Fouque et al. // *J Ren Nutr.* 2012. — Vol. 22 (2). — P. 22 — 24.
40. Arcasoy, M. O. The non-haematopoietic biological effects of erythropoietin / M. O. Arcasoy // *Br. J. Haematol.* — 2008. — Vol. 141(1). — P. 14 — 31.
41. Aronow, Wilbert S. Treatment of hypertensive emergencies / Wilbert S. Aronow // *Annals of Translational Medicine* / — 2017. — Vol 5(1) — P. 1 — 4.
42. Ashrith, G. Revascularization Options in Patients with CKD / G. Ashrith, M.A. Elayda // *Chronic Kidney DiseaseTex Heart Inst J.* — 2010. — Vol. 37(1). — P. 9 — 18.
43. Bantle J.P. Effects of High and Low Fat Dairy Food on Cardio-Metabolic Risk Factors: A Meta-Analysis of Randomized Studies / J.P. Bantle, J.J. Wylie-Rosett // *PLoS One.* — 2008. — Vol. 8 (10):e76480.
44. Barsotti, G. Nutritional treatment of renal failure in type 1 diabetic nephropathy / G. Barsotti, F. Ciardella, E. Morelli, A. Cupisti, A. Mantovanelli, S. Giovannetti // *Clin Nephrol.* 1988. — Vol.29. — P. 280 — 287.
45. Beeuwkes. R. III: The vascular organization of the kidney / R. Beeuwkes // *Annu Rev Physiol.* — 1980. — Vol. 42. — P. 531 — 542.

46. Bergmann, O. Dynamics of Cell Generation and Turnover in the Human Heart / O. Bergmann, S. Zdunek, A. Felker et al. // *Cell*. — 2015. — Vol. 18; 161(7). — P.1566 — 1575.
47. Billet, S. Role of angiotensin II AT1 receptor activation in cardiovascular diseases / S. Billet, F. Aguilar, C. Baudry et al. // *Kidney Int*. — 2008. — Vol. 4. — P. 1379-1384.
48. Blantz, R.C. The complex role of nitric oxide in the regulation of glomerular ultrafiltration / R.C. Blantz, A. Deng, M. Lortie et al. // *Kidney Int*. — 2002. — Vol. 61(3). — P. 782 — 785.
49. Brenner B.M. Dietary protein intake and the progressive nature of kidney disease: the role of hemodynamically mediated glomerular injury in the pathogenesis of progressive glomerular sclerosis in aging, renal ablation, and intrinsic renal disease / B.M. Brenner, T.W. Meyer, T.H. Hostetter // *N Engl J Med*. 1982. — Vol. 307(11). — P. 652 — 659.
50. Brilla, C.G. Aldosterone-mediated stimulation of collagen synthesis in cultured cardiac fibroblasts / C.G. Brilla, G. Zhou, K.T. Weber // *J. Hypertension*. — 1992. — Vol.10. — P. 7.
51. Bristow, M.R. Cardiac-resynchronization therapy with or without an implantable defibrillator in advanced chronic heart failure / M.R. Bristow, L.A. Saxon, J. Boehmer, S. Krueger, D.A. Kass, T. De Marco // *N Engl J Med*. — 2004. — Vol. 20; 350 (21). — P. 2140 — 2150.
52. Bro, S. Cardiac structure and function in a mouse model of uraemia without hypertension / S. Bro, E. Bollano, A. Brüel, K. Olgaard, L.B. Nielsen // *Scand J Clin Lab Invest*. — 2008. — Vol. 68. — P. 660 — 666.
53. Baudino, T.A. Cardiac fibroblasts: friend or foe? / T.A. Baudino, W. Carver, W. Giles, T.K. Borg // *Am J Physiol Heart Circ Physiol*. 2006. — Vol. 291. — P. 1015 — 1026.
54. Bell, P.D. Macula densa cell signaling / P.D. Bell, J.Y. Lapointe, J. Peti-Peterdi // *Annu Rev Physiol*. — 2003. — Vol. 65. — P. 481 — 500.

55. Carmona, A. Induction of systemic inflammation and thickening of subepicardial arteries in an animal model of uremia. / A. Carmona, B. Gleizer da Silva Rigon, M. P. B. S. Barroso // *J. Bras. Nefrol.* — 2011. — Vol. 33. — P.4.
56. Carvajal, K. Heart metabolic disturbances in cardiovascular diseases / K. Carvajal, R. Moreno-Sánchez // *Arch Med Res.* — 2003. — Vol. 34(2). — P. 89 — 99.
57. Chinnaian, K.M. Role of Angiotensin II in the Evolution of Diastolic Heart Failure / K.M. Chinnaian, D. Alexander, P.A. McCullough // *J Clin Hypertens (Greenwich).* — 2005. — Vol. 7. — P. 740 — 747.
58. Chinnaian, K.M. Curriculum in cardiology: integrated diagnosis and management of diastolic heart failure / K.M. Chinnaian, D. Alexander, M. Maddens, P.A. McCullough // *Am Heart J.* — 2007. — Vol. 153. — P. 189 — 200.
59. Craver, L. Mineral metabolism parameters throughout chronic kidney disease stages 1-5-achievement of K / DOQI target ranges / L. Craver, M.P. Marco, I. Martínez et al. // *Nephrol Dial Transplant.* — 2007. — Vol. 22(4). — P. 1171 — 1176.
60. Creemers, E.E. Molecular mechanisms that control interstitial fibrosis in the pressure-overloaded heart / E.E. Creemers, Y.M. Pinto // *Cardiovasc Res.* — 2011. — Vol. 89. — P. 265 — 272.
61. Cachofeiro, V. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease / V. Cachofeiro, M. Goicochea, S.G. de Vinuesa, P. Oubina, V. Lahera et al // *Kidney Int Suppl.* — 2006. — Vol. 74. — P. 4 — 9.
62. Cerasola, G. Epidemiology and pathophysiology of left ventricular abnormalities in chronic kidney disease: a review / G. Cerasola, E. Nardi, A. Palermo, G. Mule, S. Cottone // *J Nephrol.* — 2011. — Vol. 24. — P. 1 — 10.
63. D'Alessandro, C. Dietary protein restriction for renal patients: don't forget protein-free foods / C. D'Alessandro, A. Rossi, M. Innocenti, G. Ricchiuti, L. Bozzoli, G. Sbragia et al // *J Ren Nutr.* — 2013. — Vol. 23. — P. 367 — 371.

64. Delcayre, C. Molecular mechanisms of myocardial remodelling. The role of aldosterone / C. Delcayre, B. Swynghedauw // *J. Mol. Cell. Cardiology*. — 2002. — Vol. 34. — P. 1577 — 1584.
65. Di Lullo, L. Left Ventricular Hypertrophy in Chronic Kidney Disease Patients: From Pathophysiology to Treatment / L. Di Lullo, A. Gorini, D. Russo // *Cardiorenal Med*. — 2015. — Vol. 5. — P. 254 — 266.
66. Diez, J. Losartan dependent regression of myocardial fibrosis is associated with reduction of left ventricular chamber stiffness in hypertensive patients / J. Diez, R. Queregeta, B. Lopez, A. Gonzalez, M. Larman, et al. // *Circulation*. — 2002. — Vol. 105. — P. 2512 — 2517.
67. Dounousi, E. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD / E. Dounousi, E. Papavasiliou, A. Makedou, K. Ioannou, K.P. Katopodis, et al. // *Am J Kidney Dis*. — 2006. — Vol. 48. — P. 752 — 760.
68. Dyck, J.R. Absence of malonyl coenzyme A decarboxylase in mice increases cardiac glucose oxidation and protects the heart from ischemic injury / J.R. Dyck, T.A. Hopkins, S. Bonnet // *Circulation*. — 2006. — Vol. 114 (16). — P. 1721 — 1728.
69. Davies, M.R. Pathophysiological mechanisms of vascular calcification in end-stage renal disease / M.R. Davies, K.A. Hruska. // *Kidney Int*. — 2001. — Vol. 60. — P. 472 — 479.
70. Eghbali, M. Collagen and the myocardium: fibrillar structure, biosynthesis and degradation in relation to hypertrophy and its regression / M. Eghbali, K.T. Weber // *Mol Cell Biochem*. — 1990. — Vol. 17; 96(1). — P. 1 — 14.
71. Folkow, B. Early structural changes in hypertension: pathophysiology and clinical consequences / B. Folkow // *J Cardiovasc Pharmacol*. — 1993. — Vol. 22 (1). — P. 1 — 6.
72. Foley, R.N. Chronic kidney disease and the risk for cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States Medicare population, 1998 to 1999 /

R.N. Foley, A.M. Murray, S. Li et al. // J Am Soc Nephrol. — 2005. — Vol.16 (2). — P. 489 — 495.

73. Franco, F. Magnetic resonance imaging and invasive evaluation of development of heart failure in transgenic mice with myocardial expression of tumor necrosis factor-alpha / F. Franco, G.D. Thomas, B. Giroir, D. Bryant, M.C. Bullock et al. // Circulation. — 1999. — Vol. 99. — P. 448.

74. Francis, G.S. Comparison of neuroendocrine activation in patients with left ventricular dysfunction with and without congestive heart failure: a substudy of the studies of left ventricular dysfunction (SOLVD) / G.S. Francis, C. Benedict, D.E. Johnstone, P.C. Kirlin, J. Nicklas et al. // Circulation. — 1990. — Vol. 82. — P. 1724 — 1729.

75. Fujihara C.K. Losartan-hydrochlorothiazide association promotes lasting blood pressure normalization and completely arrests long-term renal injury in the 5/6 ablation model / C.K. Fujihara, D.M. Malheiros, R. Zatz // Am J Physiol Renal Physiol. — 2007. — Vol. 292. — P. 1810 — 1818.

76. Fung, J.W.H. Prognostic value of renal function in patients with cardiac resynchronization therapy / J.W.H. Fung, C.C. Szeto, J.Y.S Chan. et al. // Int J Cardiol. — 2007. — Vol. 122. — P. 10 — 16.

77. Gagnon R.F. A reproducible model for chronic renal failure in the mouse / R.F. Gagnon, W.P. Duguid // Urol Res. — 1983. — Vol. 11. — P. 11 — 14.

78. Gagnon R.F. Characterization of a mouse model of chronic uremia / R.F. Gagnon, B. Gallimore // Urol Res. — 1988. — Vol. 16 — P. 119 — 126.

79. Gheorghiade, M. Effects of tolvaptan, a vasopressin antagonist, in patients hospitalized with worsenin heart failure: a randomized controlled trial / M. Gheorghiade, W.A. Gattis, C.M. O'Connor, K.F. Adams Jr, U. Elkayam et al. // JAMA. — 2004. — Vol. 291. — P.1963 — 1971.

80. Gibbons, G.H. The emerging concept of vascular remodeling / G.H. Gibbons, V.J. Dzau // N Engl J Med. — 1994. — Vol. 19; 330(20). — P. 1431 — 1438.

81. Giordano C. Protein restriction in chronic renal failure. (Nephrology Forum). *Kidney Int.* — 1982. — Vol. 22. — P.401 — 408.
82. Giovannetti S., Maggiore Q. A Low-nitrogen diet with proteins of high biological value for severe chronic uraemia. *Lancet.* — 1964. — Vol. 1(7341). — P.1000 — 1003.
83. Glassock, R.J. Left ventricular mas in chronic kidney disease and ESRD / R.J. Glassock, R. Pecoits-Filho, S.H. Barberato // *Clin J Am Soc Nephrol.* — 2009. — Vol. 4. — P. 79 — 91.
84. Goicoechea, M. Serum fibrinogen levels are an independent predictor of mortality in patients with chronic kidney disease stages 3 and 4 / M. Goicoechea, S.G. de Vinuesa, F. Gomez-Campdera, I. Aragoncillo, U. Verdalles et al. // *Kidney Int.* — 2008. — Vol.74. — P. 67 — 70.
85. Guidi, E. Hypertension in man with a kidney transplant: role of familial versus other factors / E. Guidi, G. Bianchi, E. Rivolta, C. Ponticelli, F. Quarto di Palo et al // *Nephron.* — 1985. — Vol.41. — P. 14 — 21.
86. Guidi, E. Hypertension may be transplanted with the kidney in humans: a long-term historical prospective follow-up of recipients grafted with kidneys coming from donors with or without hypertension in their families / E. Guidi, D. Menghetti, S. Milani, G. Montagnino, P. Palazzi et al. // *J Am Soc Nephrol.* — 1996. — Vol.7. — P. 1131 — 1138.
87. Go, A.S. Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization / A.S. Go, G.M. Chertow, D. Fan et al. // *N Engl J Med.* — 2004. — Vol. 355 — P. 1296 — 1305.
88. Goldsmith, S.R. Hemodynamic effects of infused arginine vasopressin in congestive heart failure / S.R. Goldsmith, G.S. Francis, A.W. Jr Cowley, I.F. Goldenberg, J.N. Cohn // *J Am Coll Cardiol* 8. — 1986. — Vol.8. — P. 779 — 783.
89. Hara, A. Blockade of VEGF accelerates proteinuria, via decrease in nephrin expression in rat crescentic glomerulonephritis / A. Hara, T. Wada, K. Furuichi et al. // *Kidney Int.* — 2006. — Vol. 69(11). — P. 1986 — 1995.

90. Honda, H. Serum albumin, C-reactive protein, interleukin 6, and fetuin A as predictors of malnutrition, cardiovascular disease, and mortality in patients with ESRD / H. Honda, A.R. Qureshi, O. Heimbürger, P. Barany, K. Wang et al. // *Am J Kidney Dis.* — 2006. — Vol. 47(1). — P. 139 — 148.
91. Hruska K. A. Renal osteodystrophy, phosphate homeostasis, and vascular calcification. / Hruska K. A., Saab G, Mathew S, Lund R. // *Semin Dial.* — 2007. — Vol. 20. — P. 309 — 315.
92. Hamour, I.M. Chronic kidney disease after heart transplantation / I.M. Hamour, F. Omar, H.S. Lyster, A. Palmer, N.R. Banner // *Nephrol Dial Transplant.* — 2009. — Vol. 24. — P.1655 — 1662.
93. Herman, D.S. Truncations of titin causing dilated cardiomyopathy / D.S. Herman, L. Lam, M.R. Taylor, L. Wang, P. Teekakirikul et al. // *N Engl J Med.* — 2012. — Vol. 366. — P. 619 — 628.
94. Isakova, T. FGF23 or PTH: which comes first in CKD? / T. Isakova, M.S. Wolf // *Kidney Int.* — 2010. — Vol.78 (10). — P. 947 — 949.
95. Kajstura, J. Myocyte proliferation in end-stage cardiac failure in humans / J. Kajstura, A. Leri et al. // *Proc Natl Acad Sci U S A.* — 1998. — Vol. 21;95(15). — P. 8801 — 8805.
96. Kochansky, C.J. Determination of uremic toxins in biofluids: creatinine, creatine, uric acid and xanthines / C.J. Kochansky, T.G. Strein // *J Chromatogr B Biomed Sci Appl.* — 2000. — Vol. 29; 747 (1–2). — P. 217 — 227.
97. Kohan, D.E. Endothelin, hypertension, and chronic kidney disease: new insights / D.E. Kohan // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* — 2010. — Vol. 19. — P. 134 — 139.
98. Konstam, M.A. Left ventricular remodeling in heart failure / M.A. Konstam, D.G. Kramer, A.R. Patel, M.S. Maron, J.E. Udelson // *JACC Cardiovasc Imaging.* — 2011. — Vol. 4(1). — P. 98 — 108.
99. Kamoto, K. Development of a strain of spontaneously hypertensive rats. / K. Kamoto, K. Aoki // *Japan Circ J.* — 1963. — Vol. 27(3). — P. 282 — 293.

100. Kang, D.H. Impaired angiogenesis in the remnant kidney model: I. Potential role of vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 / D.H. Kang, A.H. Joly, S.W. Oh et al. // J Am Soc Nephrol. — 2001. — Vol. 12(7). — P. 1434 — 1447.
101. Kang, D.H. Impaired angiogenesis in the aging kidney: vascular endothelial growth factor and thrombospondin-1 in renal disease / D.H. Kang, S. Anderson, Y.G. Kim et al. // Am J Kidney Dis. — 2001. — Vol. 37(3) — P. 601 — 611.
102. Kawahara, C. Prognostic value of serial measurements of highly sensitive cardiac troponin I in stable outpatients with nonischemic chronic heart failure / C. Kawahara, T. Tsutamoto, H. Sakai, K. Nishiyama, M. Yamaji et al. // Am Heart J. — 2008. — Vol. 162. — P. 639 — 645.
103. Lacroix, M. A long-term high-protein diet markedly reduces adipose tissue without major side effects in Wistar male rats / M. Lacroix, C. Gaudichon, A. Martin, C. Morens, V. Mathé, D. Tomé, J.F. Huneau. // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. — 2004. — Vol. 287. — P. 934-42.
104. Leferavich, J. M. Heart regeneration in MRL mice / J. M. Leferavich, K. Bedelbaeva, S. Samulewicz et al. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 2001. — Vol. 98. — P. 9830 — 9835.
105. Levin, A. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline in hemoglobin / A. Levin, C.R. Thompson, J. Ethier, E.J. Carlisle, S. Tobe et al. // Am J Kidney Dis. — 1999. Vol. 34. — P. 125 — 134.
106. Li, Z. Increased cardiomyocyte apoptosis during the transition to heart failure in the spontaneously hypertensive rat / Z. Li, O.H. Bing, X. Long, et al. // Am J Physiol. — 1997. — Vol. 272(5). — P. 2313 — 2319.
107. Lijnen, P.J. Induction of cardiac fibrosis by angiotensin II / P.J. Lijnen, V.V. Petrov, R.H. Fagard // Methods Find Exp Clin Pharmacol. — 2000. — Vol. 22 (10). — P. 709 — 723.
108. Linzbach, A.J. Heart failure from the point of view of quantitative anatomy / A.J. Linzbach // Am J Cardiol. — 1960. — Vol. 5. — P. 370 — 382.



109. London, G.M. Pathophysiology of left ventricular hypertrophy in dialysis patients / G.M. London, A.P. Guerin, S.J. Marchais // *Blood Purif.* — 1994. — Vol. 12(4-5). — P. 277 — 283.
110. Lopez, B. Myocardial fibrosis in chronic kidney disease: potential benefits of torsemide / B. Lopez, A. Gonzalez, N. Hermida, C. Laviades, J. Diez // *Kidney Int Suppl.* — 2008. — 111. — P. 19 — 23.
111. Lubanski, M.S. Role of the renin-angiotensin-aldosterone system beyond blood pressure regulation: molecular and cellular mechanisms involved in end-organ damage during arterial hypertension / M.S. Lubanski, P.A. McCullough. // *Cardioangiol.* — 2006. — Vol. 57. — P. 743 — 759.
112. Ma, L.J. Model of robust induction of glomerulosclerosis in mice: importance of genetic background / L.J. Ma, A.B. Fogo // *Kidney Int.* — 2003. — Vol. 64. — P. 350 — 355.
113. Mackay, L.L. The degree of compensatory renal hypertrophy following unilateral nephrectomy: II. the influence of the protein intake / L.L. Mackay, T. Addis., E.M. Mackay // *J Exp Med.* — 1938. — Vol. 31; 67(4). — P. 515 — 519.
114. MacRae, J.M. The cardiovascular effects of arteriovenous fistulas in chronic kidney disease: a cause for concern? / J.M. MacRae, A. Levin, I. Belenkie // *Semin Dial.* — 2006. — Vol. 19. — P. 349 — 352.
115. Maeshima, Y. Angiogenesis and chronic kidney disease / Y. Maeshima, H. Makino // *Fibrogenesis Tissue Repair.* — 2010. — Vol. — P. 13.
116. Manabe, I. Gene expression in fibroblasts and fibrosis involvement in cardiac hypertrophy / I. Manabe, T. Shindo, R. Nagai // *Circ Res.* — 2002. — Vol. 91. — P. 1103 — 1113.
117. Maschio, G. Effects of dietary protein and phosphorus restriction on the progression of early renal failure / G Maschio., L. Oldrizzi, N. Tessitore, A. D'Angelo et al. // *Kidney Int.* — 1982. — Vol. 22. — P. 371 — 376.

118. McCullough, P.A. Interface between renal disease and cardiovascular illness. Braunwald's Heart Disease, 8th Ed / D.P. Zipes, P. Libby, R.O. Bonow, E. Braunwald, W.B. Saunders // Inc. — 2006.

119. McCullough, P.A. Accelerated Atherosclerotic Calcification and Mönckeberg's Sclerosis: A Continuum of Advanced Vascular Pathology in Chronic Kidney Disease / P.A. McCullough, V. Agrawal, E. Danielewicz, G.S. Abela // Clin J Am Soc Nephrol. — 2008. — Vol. 3. — P. 1585 — 1598.

120. McCullough, P.A. CKD and cardiovascular disease in screened high-risk volunteer and general populations: The Kidney Early Evaluation Program (KEEP) and National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 1999-2004 / P.A. McCullough, S. Li, C.T. Jurkovitz et al. // Am J Kidney Dis. — 2008. — Vol. 51(4). — P. 38 — 45.

121. Middleton, R.J. The unrecognized prevalence of chronic kidney disease in diabetes / R.J. Middleton, R.N. Foley, J. Hegarty et al. // Nephrol Dial Transplant. — 2005. — Vol. 21(1). — P. 88 — 92.

122. Milovanova, L. Phosphorus and Calcium Metabolism Disorders Associated with Chronic Kidney Disease Stage III-IV (Systematic Review and Meta-Analysis) Chronic Kidney Disease and Renal Transplantation / L. Milovanova, Y. Milovanov, A. Plotnikova // InTech. — 2012. — Vol.1. — P. 95 — 118.

123. Mancini, D.M. Effect of erythropoietin on exercise capacity in patients with moderate to severe chronic heart failure / D.M. Mancini, S.D. Katz, C.C. Lang, J. LaManca, A. Hudaihed et al. // Circulation. — 2003. — Vol. 107. — P. 294 — 299.

124. Martin, F.L. Experimental mild renal insufficiency mediates early cardiac apoptosis, fibrosis, and diastolic dysfunction: a kidney-heart connection / F.L. Martin, P.M. McKie, A. Cataliotti, S.J. Sangaralingham, J. Korinek, et al. // Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. — 2012. — Vol. 302. — P. 292 — 299.

125. Meldrum, D.R. Tumor necrosis factor in the heart / D.R. Meldrum // Am J Physiol. — 1998. — Vol. 274(3Pt 2). — P. 577 — 595.

126. Movilli, E. Long-term effects of arteriovenous fistula closure on echocardiographic functional and structural findings in hemodialysis patients: a prospective study / E. Movilli, B.F. Viola, G. Brunori, P. Gaggia, C. Camerini, et al. // *Am J Kidney Dis.* — 2010. — Vol. 55. — P. 682 — 689.

127. Newburgh, L.H. High nitrogen diets and renal injury: The Dependence of the Injury upon the Nature of the Nitrogenous Substance / L.H. Newburgh, M.W. Johnston // *J Clin Invest.* — 1931. — Vol. 10(1). — P. 153 — 160.

128. Nozyński, J. Differences in antiapoptotic, proliferative activities and morphometry in dilated and ischemic cardiomyopathy: study of hearts explanted from transplant recipients / J. Nozyński, M. Zakliczyński, D. Konecka-Mrówka et al. // *Transplant Proc.* — 2009. — Vol. 41(8). — P. 3171 — 3178.

129. Ojo, A.O. Chronic renal failure after transplantation of a nonrenal organ / A.O. Ojo, P.J. Held., F.K. Port et al. // *N Engl J Med.* — 2003. — Vol. 349(10) — P. 931 — 940.

130. Olivetti, G. Cardiac hypertrophy and ischemic cardiomyopathy do not affect the proportion of mononucleated and multinucleated myocytes in the human heart / G. Olivetti, E.A. Cigola // *J Mol Cell Cardiol.* — 1996. — Vol. 28(7). — P. 1463 — 1477.

131. Olivetti, G. Myocyte cellular hypertrophy and hyperplasia contribute to ventricular wall remodeling in anemia-induced cardiac hypertrophy in rats / Olivetti G., Quaini F., Lagrasta C. et al. // *Am J Pathol.* — 1992. — Vol. 141(1). — P. 227 — 239.

132. Poss, K. D. Heart regeneration in zebrafish / K. D. Poss, L. G. Wilson, M. T. Keating // *Science.* — 2002. — Vol. 298. — P. 2188 — 2190.

133. Patel, A.M. Renal failure in patients with left ventricular assist devices / A.M. Patel, G.A. Adeseun, I. Ahmed et al. // *Clin J Am Soc Nephrol.* — 2013. — Vol. 8. — P. 484 — 496.

134. Raine, A.E. Impairment of cardiac function and energetics in experimental renal failure / A.E. Raine, A.M. Seymour, A.F. Roberts, G.K. Radda, J.G. Ledingham // *J Clin Invest.* — 1993. — Vol. 92(6). — P. 2934 — 2940.

135. Rostand, S.G. Dialysis-associated ischemic heart disease: insides from coronary angiography / S.G. Rostand, K.A. Kirk, E.A. Rutsky // *Kidney Int.* — 2010. — Vol. 25. — P. 653.
136. Reiss, K. Overexpression of insulin-like growth factor-1 in the heart is coupled with myocyte proliferation in transgenic mice / K. Reiss, W. Cheng, A. Ferber et al. // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* — 1996. — Vol. 93(16). — P. 8630 — 8635.
137. Saleh, F.N. Parathyroid hormone and left ventricular hypertrophy / F.N. Saleh, H. Schirmer, J. Sundsfjord, R. Jorde // *Eur Heart J.* — 2003. — Vol. 24. — P. 2054 — 2060.
138. Sarnak, M.J. The effect of a lower target blood pressure on the progression of kidney disease: long-term follow-up of the modification of diet in renal disease study / M.J. Sarnak, T. Greene, X. Wang et al. // *Ann Intern Med.* — 2005. — Vol. 1; 142(5). — P. 342 — 351.
139. Schiffrin, E.L. Chronic kidney disease: Effects on the cardiovascular system / E.L. Schiffrin, M.L. Lipman, J.F. Mann // *Circulation.* — 2007. — Vol. 116. — P. 85- 97.
140. Schluter, K.D. Trophic effects of catecholamines and parathyroid hormone on adult ventricular cardiomyocytes / K.D. Schluter, H.M. Piper // *Am J Physiol.* — 1992. — Vol. 263. — P. 1739 — 1746.
141. Schmieder, R.E. Renin-angiotensin system and cardiovascular risk / R.E. Schmieder, K.F. Hilgers, M.P. Schlaich et al. // *Lancet.* — 2007. — Vol. 369. — P. 1208 — 1219.
142. Schoppet, M. Exploring the biology of vascular calcification in chronic kidney disease: what's circulating? / M. Schoppet, R.C. Shroff, L.C. Hofbauer, C.M. Shanahan // *Kidney Int.* — 2008. — Vol. 73. — P. 384 — 390.
143. Segura, J. Chronic kidney disease as a situation of high added risk in hypertensive patients / J. Segura., J.A. García-Donaire, M. Praga et al. // *J Am Soc Nephrol.* — 2006. — Vol. 17(4). — P. 136 — 140.

144. Shimokawa, H. Chronic treatment with interleukin-1 beta induces coronary intimal lesions and vasospastic responses in pigs in vivo. The role of platelet-derived growth factor / H. Shimokawa, A. Ito, Y. Fukumoto, T. Kadokami, R. Nakaike, M. Sakata et al. // J Clin Invest. — 1996. Vol. 97. — P. 769 — 776.
145. Sidney, L.E. Concise Review: Evidence for CD34 as a Common Marker for Diverse Progenitors / L.E. Sidney, M.J. Branch, S.E. Dunphy, S.D. Harminder, A. Hopkinsona // Stem Cells. — 2014. — Vol. 32(6). — P. 1380 — 1389.
146. Smith, T.L. Central hemodynamics in the developmental stage of spontaneous hypertension in the unanesthetized rat / T.L. Smith, P.M. Hutchins // Hypertension. — 1979. — Vol. 1(5). — P. 508 — 517.
147. Sopel, M.J. Myocardial fibrosis in response to Angiotensin II is preceded by the recruitment of mesenchymal progenitor cells / M.J. Sopel, N.L. Rosin, T.D. Lee, J.F. Légaré // Lab Invest. — 2011. — Vol. 91(4). — P. 565 — 578.
148. Stinghen, A.E. Immune mechanisms involved in cardiovascular complications of chronic kidney disease / A.E. Stinghen, S. Bucharles, M.C. Riella, R. Pecoits-Filho // Blood Purif. — 2010. — Vol. 29. — P. 114 — 120.
149. Swynghedauw, B. Molecular mechanism of myocardial remodeling / B. Swynghedauw // Physiol. Rev. — 1999. — Vol. 79. — P. 215 — 262.
150. Satoh, M. Uremic toxins overload accelerates renal damage in a rat model of chronic renal failure / M. Satoh, H. Hayashi, M. Watanabe. // Nephron Exp Nephrol. — 2003. — Vol. 95(3). — P. 111 — 118.
151. Takeuchi M. Measurement of left ventricular mass by real-time three-dimensional echocardiography: Validation against magnetic resonance and comparison with two-dimensional and m-mode measurements / M. Takeuchi, T. Nishikage, V. Mor-Avi, L. Sugeng, L. Weinert et al. // J Am Soc Echocardiogr. — 2009. — Vol. 21. — P. 1001 — 1005.
152. Terawaki H. Oxidative stress is enhanced in correlation with renal dysfunction: examination with the redox state of albumin / H. Terawaki, K. Yoshimura,

T. Hasegawa, Y. Matsuyama, T. Negawa et al // *Kidney Int.* — 2004. — Vol. 66. — P. 1988 — 1993.

153. Tom, K. Long-term adaptive responses to dietary protein restriction in chronic renal failure / Tom K., Young V.R., Chapman T., Masud T., Akpele L. // *Am J Physiol.* — 1995. — Vol. 268(4 Pt 1). — P. 668 — 677.

154. Van Duijnhoven, E.C.M. Effect of closure of the arteriovenous fistula on left ventricular dimensions in renal transplant patients / E.C.M. Van Duijnhoven, E.C.M. Cheriex, J.H.M. Tordoir, J.P. Kooman, van J.P. Hooff. // *Nephrol Dial Transplant.* — 2001. — Vol. 16. — P. 368 — 372.

155. Villar, E. Poor prognosis of heart transplant patients with end-stage renal failure. / Villar E., Boissonnat P., Sebbag L., Hendawy A. et al. // *Nephrol Dial Transplant.* 2007. — Vol. 22(5). — P. 1383 — 1389.

156. Wasserstein A.G. Changing patterns of medical practice: protein restriction for chronic renal failure. *Ann Intern Med.* — 1993. — Vol. 119 (1). — P. 79 — 85.

157. Weber, K.T. Myocardial fibrosis and the renin-angiotensin-aldosterone system / K.T. Weber, C.G. Brilla // *J. Cardovasc. Pharmacology.* — 1992. — Vol. 20. — P. 48 — 54.

158. Weber, K.T. Myocardial fibrosis: role of angiotensin II and aldosterone / K.T. Weber, S.E. Campbell, E. Guarda, G. Zhou, K. Sriram // *Basic Res Cardiol.* — 1993. — Vol. 88(1). — P. 107 — 124.

159. Whaley-Connell, A. The role of oxidative stress in the metabolic syndrome / A. Whaley-Connell, J.R. Sowers, P.A. McCullough. // *Rev Cardiovasc Med.* — 2011. — Vol. 12. — P. 21 — 29.

160. Waller, C. Functional mechanisms of myocardial microcirculation in left ventricular hypertrophy: a hypothetical model of capillary remodeling post myocardial infarction / C. Waller, K.H. Hiller, D. Pfaff et al. // *Microvasc Res.* — 2008. — Vol. 75(1). — P. 104 — 111.

161. Wang, A.Y. Left ventricular filling pressure by Doppler echocardiography in patients with end-stage renal disease / W A. Yang, M. Wang, C.W. Lam, I.H. Chan, Y. Zhang et al. // *Hypertension*. — 2008. — Vol. 52. — P. 107 — 114.
162. Wang, M.C. Stepwise increase in arterial stiffness corresponding with the stages of chronic kidney disease / M.C. Wang, W.C. Tsai, J.Y. Chen, J.J. Huang // *Am J Kidney Dis*. — 2005. — Vol. 45. — P. 494 — 501.
163. Weber, K. Aldosterone in congestive heart failure / K. Weber // *N Engl J Med*. — 2001. — Vol. 345. — P. 1689 — 1697.
164. Wei, C.M. Endothelin in human congestive heart failure / C.M. Wei, A. Lerman, R.J. Rodeheffer, C.G. McGregor, R.R. Brandt et al. // *Circulation*. — 1994. — Vol. 89 — P. 1580 — 1586.
165. Yilmaz, M.I. FGF-23 and vascular dysfunction in patients with stage 3 and 4 chronic kidney disease / M.I. Yilmaz, A. Sonmez, M. Saglam et al. // *Kidney Int*. — 2010. — Vol. 78(7). — P. 679 — 685.
166. Yuan, H.T. Angiotensin correlates with glomerular capillary loss in anti-glomerular basement membrane glomerulonephritis / H.T. Yuan, P.G. Tipping, X.Z. Li et al. // *Kidney Int*. — 2002. — Vol. 61(6) — P. 2078 — 2089.
167. Yau-Huei, L. Cardiac Remodeling, Adaptations and Associated Myocardial Mechanics in Hypertensive Heart Diseases / L. Yau-Huei, L. Chi-In, W. Yih-Jer et al // *Zhonghua Minguo Xin Zang Xue Hui Za Zhi*. — 2013. — Vol. 29(1). — P. 64 — 70.
168. Zannata, C.M. Endothelin-1 levels and albuminuria in patients with type 2 diabetes mellitus / C.M. Zannata, F. Gerchman, L. Burtet, G. Nabinger, M.C. Jacques-Silva et al. // *Diabetes Res Clin Pract*. — 2008. — Vol. 80. — P. 299 — 304.
169. Zoja, C. Cellular responses to protein overload: key event in renal disease progression / C. Zoja, A. Benigni, G. Remuzzi. // *Curr Opin Nephrol Hypertens*. — 2004. — Vol. 13. — P. 31 — 37.