

КАЮКОВ И. Г.¹, БЕРЕСНЕВА О. Н.¹,
ПАРАСТАЕВА М. М.¹, ШВЕД Н. В.¹,
ИВАНОВА Г. Т.², КУЧЕР А. Г.¹

Влияние возраста и сокращения массы действующих нефронов на состояние миокарда и коронарного русла у молодых крыс

¹ Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет им. акад. И. П. Павлова

197022, Россия, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого 6-8

² Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН

199034, Россия, Санкт-Петербург, наб. Макарова, 6

e-mail: kvaka55@mail.ru

Реферат

Целью работы являлась оценка воздействия возраста и почечной дисфункции на состояние миокарда и артерий сердца у молодых крыс линии Wistar.

Материал и методы исследования. Исследование выполнено на самцах крыс линии Wistar (питомник Рапполово) в возрасте около 2,5 месяца. С целью создания модели почечной недостаточности была выполнена поэтапная с интервалом в одну неделю резекция $\frac{5}{6}$ почечной ткани. Срок наблюдения составлял 2 или 4 месяца после нефрэктомии (НЭ) или ложной операции. Для гистологического исследования препараты миокарда окрашивали гематоксилином/эозином и пикрофуксином по ван Гизону. Изучение патоморфологических изменений проводили светооптически. Выраженность патогистологических изменений оценивали с помощью количественной морфометрии в программе Video Test 5.2.

Результаты исследования и их обсуждение. У интактных крыс линии Wistar в возрасте около 6,5 месяца по сравнению с животными в возрасте 4,5 месяца наблюдаются отчетливое нарастание индекса массы миокарда левого желудочка и умеренное разрастание соединительной ткани в миокарде (в том числе в периваскулярных зонах). Такие изменения сопровождаются расширением просвета интрамуральных коронарных артерий в сочетании с некоторым уменьшением толщины стенок этих сосудов. Через 2 месяца после $\frac{5}{6}$ нефрэктомии прослеживается выраженный спазм и начальные признаки утолщения стенок коронарных артерий, наряду с нарастанием индекса массы миокарда левого желудочка и фибропластических проявлений в миокарде. При пролонгации срока после нефрэктомии еще на 2 месяца отмечается значительное увеличение площади соединительной ткани и утолщение стенок сосудов без нарастания индекса массы миокарда левого желудочка при расширении диаметра сосудистого просвета. Как возрастные, так и спровоцированные почечной дисфункцией проявления ремоделирования миокарда и коронарных артерий однозначно не ассоциируются с ростом артериального давления.

Выводы. У молодых крыс линии Wistar как увеличение возраста, так и сокращение массы действующих нефронов оказывают существенное самостоятельное воздействие на миокард и его сосудистую систему.

Ключевые слова: миокард, коронарные артерии, возраст, ремоделирование, сокращение массы действующих нефронов.

Введение

У пациентов с патологией почек (хроническая болезнь почек — ХБП) отмечается повышенный риск кардиоваскулярной заболеваемости и смертности [3, 14, 15, 23]. При этом коронарная патология (коронарная болезнь сердца — КБС) является одной из основных причин смерти у пациентов с ХБП, а выживаемость больных с хронической почечной дисфункцией, подвергшихся коронарной реваскуляризации, хуже, чем при отсутствии повреждений почек. Частота и тяжесть КБС нарастают по мере снижения скорости клубочковой фильтрации (СКФ). КБС при ХБП характеризуется диффузным вовлечением многих сосудов и их кальцификацией [4, 12].

Общеизвестно, что с возрастом нарастает распространенность хронических заболеваний [21].

В настоящее время принято считать, что возрастные изменения сердечно-сосудистой системы обладают специфическими морфологическими и функциональными признаками, отличающимися от изменений, возникающих при кардиоваскулярной патологии, например, атеросклерозе [19, 20, 24]. Однако вопрос о том, является ли атеросклероз атрибутом возрастных изменений или нет, остается предметом острых дискуссий [13].

В свою очередь, продолжительность жизни многих пациентов с почечной патологией в последние

годы увеличивается. Например, больные терминальной почечной недостаточностью (ТПН), постоянно получающие лечение диализом, могут прожить несколько десятилетий. При этом медиана ожидаемой продолжительности жизни у пациентов, начинающих заместительную почечную терапию в возрасте 25–29 лет, составляет 18,5 года [27].

С другой стороны, просматриваются четкие аналогии между влиянием возраста и почечной дисфункции на состояние структуры и функции центральных эластических артерий и сердца. В связи с этим изменения, возникающие в сердечно-сосудистой системе, при снижении функции почек в какой-то мере можно рассматривать как модель ускоренного старения данной системы [7]. Так или иначе, все указанное выше дает основание полагать, что у многих пациентов с ХБП сердечно-сосудистая система, в том числе коронарное кровообращение и миокард, оказывается под двойным ударом: возрастных изменений и повреждающих факторов, ассоциированных с почечной дисфункцией.

Изучение возрастных изменений сердечно-сосудистой системы может проводиться в клинике *post mortem* и с помощью инструментальных исследований. Развитие визуализирующих технологий (прежде всего сонографических) дало много ценной информации о ремоделировании сердца и сосудов с течением времени. Однако разные отделы кардиоваскулярной системы по-разному поддаются визуализации. Если размеры камер сердца, толщину некоторых участков миокарда и состояние крупных артерий у человека можно исследовать с высокой степенью надежности, то изучение ряда отделов артериальной системы, например, коронарных артерий, в такой ситуации встречает существенные трудности. Кроме того, у человека совершенно невозможно выполнение целого ряда наиболее информативных исследований, сопряженных с опасностью для жизни и здоровья. Другим ограничением является то, что чрезвычайно сложно собрать репрезентативные когорты пожилых людей, не страдающих артериальной гипертензией (АГ) или латентными вариантами атеросклероза. В полной мере это относится и к изучению морфологического материала. Поэтому наиболее надежную информацию о влиянии возраста и дисфункции почек на состояние коронарного русла можно получить только в экспериментальных исследованиях. Последствия снижения массы действующих нефронов (резекции большей части почечной ткани) в отношении ремоделирования артериальной системы сердца на крысах довольно подробно изучены, прежде всего, исследователями из Германии [5, 6, 8, 9, 10, 18, 28, 29]. В то же время данных о возрастных изменениях артерий у данного вида животных относительно мало [11, 16, 17]. Целенаправленной оценки комбинированного воздействия возраста и почечной дисфункции на состояние артерий сердца у крыс, насколько нам известно, не проводилось, что и определило целесообразность настоящего исследования.

Материал и методы исследования

Исследование выполнено на самцах крыс линии

Wistar (питомник Рапполово), содержащихся в виварии ПСПбГМУ им. акад. И. П. Павлова. Крысы включались в эксперимент в возрасте 2,5 мес. С целью создания модели почечной недостаточности была выполнена поэтапная с интервалом в одну неделю резекция $\frac{5}{6}$ почечной ткани [26, 1, 2]. В качестве наркоза использовали тиопентал натрия (50 мг/кг внутримышечно). Для сохранения надпочечников почки перед резекцией декапсулировали. Контролем служили ложнопериоперированные (ЛО) крысы.

В период эксперимента животные получали стандартный лабораторный корм, содержащий 20,16 % полноценного белка животного происхождения, 1,03 % кальция, 75,3 % углеводов. Срок наблюдения составлял 2 или 4 месяца после нефрэктомии (НЭ) или ложной операции.

Регистрация артериального давления (АД). За сутки до окончания эксперимента у бодрствующих крыс осуществляли измерение системного АД на хвосте манжеточным методом. Для этого животному, помещенному в индивидуальную камеру, на хвост надевали окклюзионную манжетку, соединенную с электроманометром ENEMA (Швеция). Уровень АД у животного соответствовал величине давления в манжетке в момент прекращения пульсовых колебаний. Электрограмму и кривую давления регистрировали на самописце при скорости протяжки ленты 10 мм/с. Для каждой крысы выполняли 4–5 замеров АД и рассчитывали среднее значение трех последних измерений.

Степень гипертрофии сердца оценивали по индексу массы миокарда левого желудочка (ИММЛЖ), определяемому как соотношение массы желудочка к массе животного (мг/г) [25].

Гистологические исследования. Для гистологического исследования фрагменты миокарда каждого животного фиксировались незамедлительно после получения образцов ткани в 4 %-забуференном PBS растворе ПФА, pH — 7,4, в течение 24 ч, при комнатной температуре. После стандартной обработки тканевых фрагментов (обезживание и пропитка) из парафиновых блоков были приготовлены серийные срезы толщиной 4–5 мкм. Препараты окрашивали гематоксилином, эозином и пикрофуксином по ван Гизону. Изучение патоморфологических изменений проводили светооптически. Выраженность патогистологических изменений оценивали с помощью количественной морфометрии в программе «Video Test 5.2». При оценке диаметра просвета сосуда, толщины стенки коронарных артерий и распространенности соединительной ткани в миокарде результаты измерений в каждом поле зрения (в том числе, у одного и того же животного) считались независимыми. Площадь, занятая соединительной тканью в периваскулярной области, соотносилась с числом исследованных сосудов. Рассчитывалось отношение «толщина стенки/диаметр просвета сосуда».

Статистическую обработку данных выполняли с использованием пакета прикладных программ «Statistica 6.0». Результаты исследований представлены как средняя ± стандартное отклонение ($\bar{X} \pm SD$). Значимость различий между группами оценивали с

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

помощью t-критерия Стьюдента. Значимыми считали различия при $p < 0,05$. Исследование выполнено в соответствии с международными стандартами по работе с экспериментальными животными.

Результаты исследования

Нефрэктомия уже через 2 месяца приводила к существенному росту АД (рис. 1). Однако дополнительные 2 месяца наблюдения животных с НЭ не приводили к дальнейшему повышению АД. При этом его уровень у крыс через 4 месяца после НЭ оказывался значимо выше, чем в соответствующем возрастном контроле (рис. 1). Различий в величинах АД у контрольных крыс разного срока наблюдения выявлено не было (рис. 1).

Тренд в отношении межгрупповых различий величины ИММЛЖ был практически аналогичным, выявленному для АД (рис. 2). Однако необходимо обратить внимание на то, что ИММЛЖ у ЛО крыс, наблюдавшихся в течение 4 месяцев, был статистически существенно больше, чем у животных с 2-месячным сроком наблюдения (рис. 2).

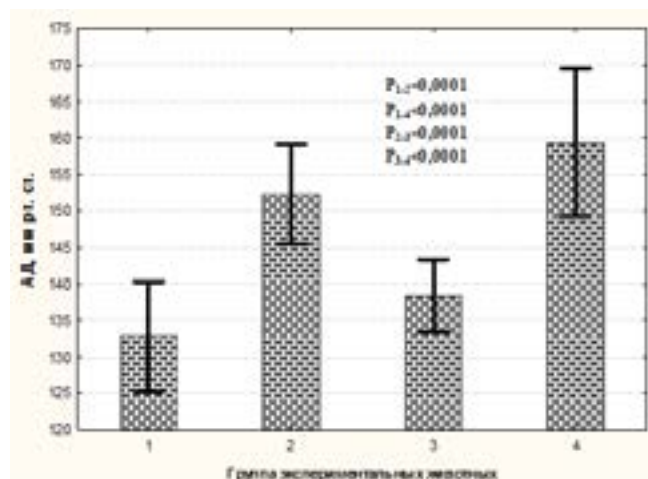


Рис. 1. Уровни артериального давления ($X \pm SD$) в группах сравнения: (1 — контроль, 2 мес; 2 — НЭ, 2 мес; 3 — контроль, 4 мес; НЭ, 4 мес). Представлены только статистически значимые различия

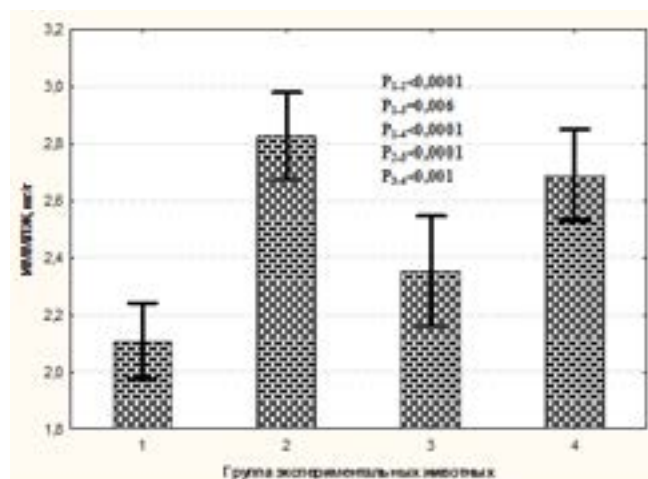


Рис. 2. Индекс массы миокарда левого желудочка ($X \pm SD$) в группах сравнения: (1 — контроль, 2 мес; 2 — НЭ, 2 мес; 3 — контроль, 4 мес; НЭ, 4 мес). Представлены только статистически значимые различия

У ЛО крыс, наблюдавшихся 4 мес по сравнению с такими же животными при 2-месячном наблюдении, отмечена значимо меньшая толщина сосудистой стенки при значительно большем диаметре сосудов (таблица). По величине отношения «толщина стенки/диаметр просвета» значимых различий между этими группами не выявлено. Дополнительные два месяца жизни здоровой крысы приводили к существенному разрастанию соединительной ткани в периваскулярной области и в миокарде в целом (таблица).

В то же время у животных с НЭ через 2 мес по сравнению с ЛО крысами, наблюдавшимися в течение такого же срока, имели место статистически значимо большие величины толщины сосудистой стенки, отношения «толщина стенки/диаметр просвета», площадей периваскулярного и миокардиальной соединительной ткани (таблица). Диаметр просвета сосудов при таком сопоставлении оказался существенно меньше у животных с НЭ (таблица).

При сравнении крыс через 2 и 4 мес после НЭ у последних отмечались меньшие значения отношения «толщина стенки/диаметр просвета сосуда» и большие величины всех остальных показателей представленных в таблице.

Почти такой же характер различий сохранялся при сравнении 4-месячных крыс с НЭ с соответствующим возрастным контролем. Однако в данной ситуации у животных с НЭ меньшими оказались величины диаметра просвета (таблица).

Таким образом, НЭ уже через 2 мес приводила к выраженному изменению артерий миокарда. Наблюдалось умеренное нарастание толщины сосудистой стенки при диспропорционально выраженном сужении просвета сосудов (таблица).

Данная картина может быть обусловлена преобладанием спазма коронарных артерий, о чем свидетельствуют извитой ход эластической мембраны и плотное расположение ядер эндотелиальных клеток. Умеренное утолщение стенки артерий, скорее, определяется гипертрофией гладкомышечных клеток, на что может указывать наличие у них крупных ядер. Такая гипертрофия, по-видимому, и приводила к некоторому нарастанию размеров меди. Визуально выявлялось увеличение площади соединительной ткани в периваскулярных областях, что подтверждалось данными морфометрии (таблица).

Увеличение продолжительности периода после НЭ приводило к отчетливому нарастанию толщины сосудистой стенки (наибольшие значения среди всех групп сравнения — таблица), по-видимому, за счет нарастания гипертрофии и гиперплазии гладкомышечных клеток (рис. 3). При этом диаметр просвета увеличивался и, практически, достигал значений двухмесячных ЛО крыс (рис. 3; таблица). В этой же группе отмечены максимальная выраженность развития соединительной ткани в периваскулярных зонах и в миокарде в целом (рис. 4; таблица).

Обсуждение результатов

Возрастные изменения аорты и ряда других крупных артерий изучены достаточно хорошо. В то же время данные о влиянии возраста на состоя-

Показатели морфометрии в группах сравнения

Таблица

| Группы сравнения | Толщина стенки сосуда, мкм | Диаметр просвета сосуда, мкм | Толщина стенки/диаметр просвета сосуда | Площадь периваскулярной соединительной ткани, мкм ² | Площадь соединительной ткани в миокарде, мкм ² |
|-------------------|--|--|--|--|---|
| Контроль 2 месяца | 19,50±9,66 (n=453) | 63,60±14,31 (n=277) | 0,30±0,68 (n=277) | 2424,9±138,8 (n=12) | 9,37±48,20 (n=55) |
| НЭ 2 месяца | 22,46±7,51 (n=329) P ₁₋₂ <0,0001 | 34,98±16,1 (n=221) P ₁₋₂ <0,0001 | 0,64±0,47 (n=221) P ₁₋₂ <0,0001 | 4987,7±144,1 (N=14) P ₁₋₂ <0,0001 | 3636,54±63,79 (n=48) P ₁₋₂ <0,0001 |
| Контроль 4 месяца | 17,47±5,16 (n=422) P ₁₋₃ <0,0001 P ₂₋₃ <0,0001 | 80,06±14,3 (n=221) P ₁₋₃ <0,0001 P ₂₋₃ <0,0001 | 0,22±0,36 (n=221) P ₁₋₃ =NS P ₂₋₃ <0,0001 | 4297,4±79,2 (N=11) P ₁₋₃ <0,0001 P ₂₋₃ <0,0001 | 2750,5±38,45 (n=36) P ₁₋₃ <0,0001 P ₂₋₃ <0,0001 |
| НЭ 4 месяца | 26,32±13,10 (n=414) P ₁₋₄ <0,0001 P ₂₋₄ <0,0001 P ₃₋₄ <0,0001 | 61,79±27,92 (n=187) P ₁₋₄ =NS P ₂₋₄ <0,0001 P ₃₋₄ <0,0001 | 0,43±0,47 (n=187) P ₁₋₄ <0,01 P ₂₋₄ <0,0001 P ₃₋₄ <0,0001 | 5791,6±216,8 (N=12) P ₁₋₄ <0,0001 P ₂₋₄ <0,0001 P ₃₋₄ <0,0001 | 7864,2±96,4 (n=42) P ₁₋₄ <0,0001 P ₂₋₄ <0,0001 P ₃₋₄ <0,0001 |

Примечание. НЭ — нефрэктомия; n — число исследованных полей зрения; N — число исследованных сосудов; NS — различия статистически незначимы

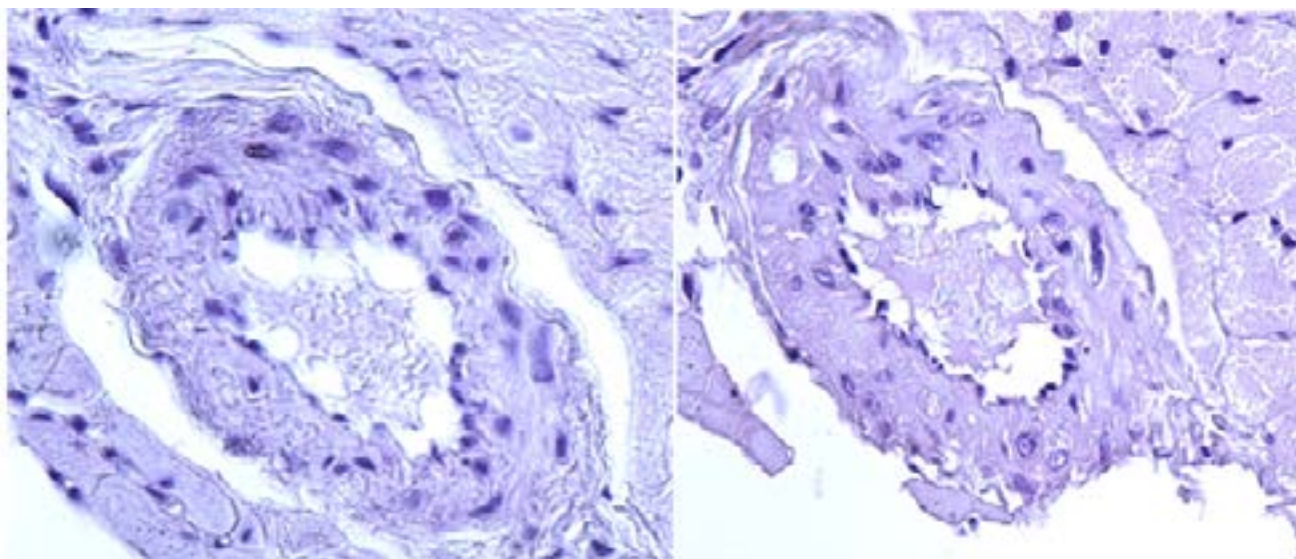


Рис. 3. Состояние сосудов через 4 месяца после НЭ. Гематоксилин/эозин, ×400

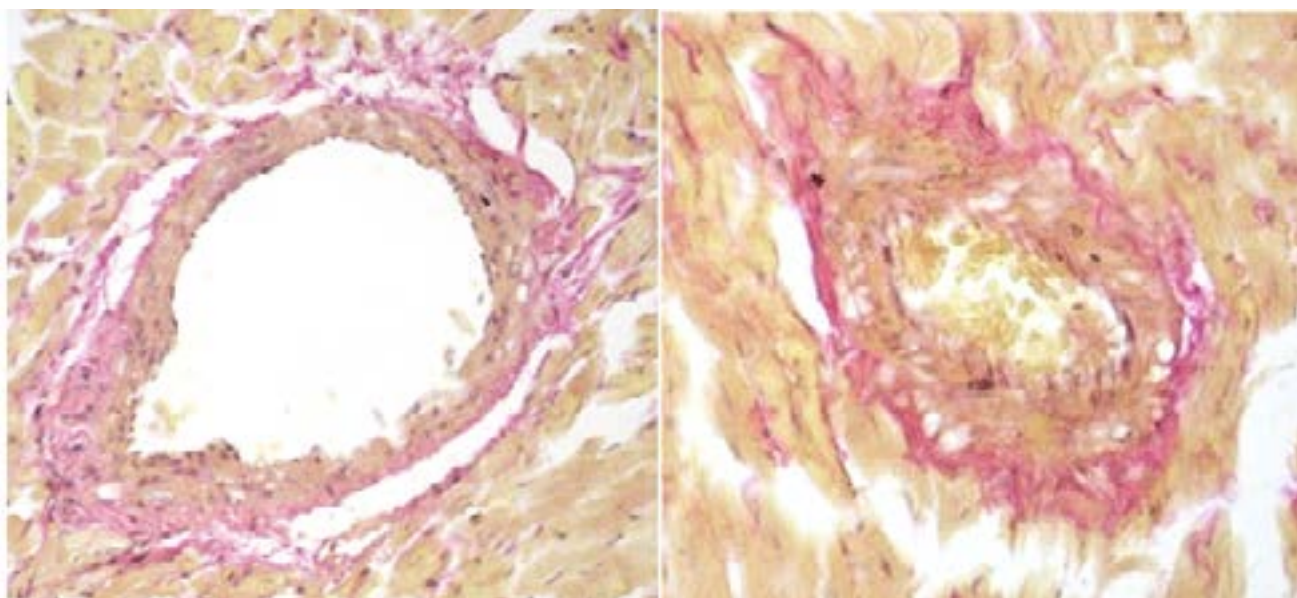


Рис. 4. Выраженное разрастание соединительной ткани в периваскулярном пространстве через 4 месяца после НЭ. Пикрофуксин по ван Гизону, ×400

ние коронарных артерий у крыс немногочисленны, фрагментарны, часто противоречивы и трудно интерпретируемы из-за разных сроков наблюдения и различий в использованных генетических линиях экспериментальных животных.

Наши данные свидетельствуют о том, что даже у здоровых молодых крыс увеличение биологического возраста на 2 месяца существенно сказывается на состоянии миокарда и коронарных артерий. При этом отмечается нарастание индекса массы миокарда левого желудочка, незначительное по абсолютной величине уменьшение толщины сосудистой стенки, расширение просвета артерий и умеренное, но отчетливое разрастание соединительной ткани в периваскулярных зонах и в миокарде в целом. К сожалению, полученные в настоящем исследовании результаты трудно сравнивать с данными других авторов из-за различий в сроках наблюдения и генетических линиях экспериментальных животных. В какой-то мере они согласуются со сведениями о том, что с возрастом площадь, занятая просветом главной левой коронарной артерии, почти удваивается. При этом зона, заполненная стенкой сосуда, достоверно не нарастает, а толщина ее значимо не изменяется, так же как содержание коллагена или отношения «коллаген/эластин» [17]. По другим данным, у возрастных крыс (возраст 21 месяца) линии Fischer 344 по сравнению с молодыми (возраст 4 месяца) отмечается нарастание отношения «толщина стенки/диаметр просвета», при отсутствии существенных изменений отношения «содержание коллагена/эластина» в стенке сосуда. То есть с возрастом происходит гипертрофическое ремоделирование стенок артерий. При этом уменьшается жесткость и миогенная функция коронарных резистивных сосудов [21]. Причем возрастная гипертрофия стенок коронарных артерий связана с накоплением экстрацеллюлярного матрикса и гладкомышечных клеток в меди [11]. Вопрос о наличии возрастной гипертрофии сердца — один из самых дискуссионных в современной патофизиологии старения [22]. Так или иначе, мы обнаружили отчетливое, хотя и не очень значительное нарастание ИММЛЖ с возрастом (рис. 2) у здоровых крыс, которое не было ассоциировано с повышением АД. В любом случае, полученные данные указывают на то, что даже непродолжительное увеличение возраста у сравнительно молодых крыс линии Wistar ассоциируется с отчетливыми проявлениями ремоделирования миокарда и его сосудов. Последнее не должно удивлять, поскольку было показано, что структурные изменения в артериальной системе («артериальная дегенерация» по терминологии авторов) проявляются уже на ранних стадиях постнатального развития у людей и прогрессируют с возрастом до самой смерти [30]. Заметим, что выявленное в наших исследованиях нарастание диаметра просвета коронарных артерий у контрольных крыс в биологическом возрасте около 6,5 месяца, вряд ли можно считать проявлением «артериальной дегенерации». Скорее, это отражает возрастные адаптивные изменения венечного русла, направленные на поддержание необходимого объема коронарного кровотока, в том

числе для противодействия нежелательным последствиям гипертрофии и фиброзирования миокарда, которое отчетливо проявляется уже в этом возрасте.

Как свидетельствуют наши данные, уже через короткий срок (2 месяца) после НЭ у животных развивались выраженные изменения в миокарде и интрамуральных коронарных артериях. Последнее сопровождалось ростом АД и довольно существенным нарастанием ИММЛЖ. В целом они согласуются с результатами других экспериментальных исследований. Во многих из них было показано, что уменьшение массы функционирующих нефронов у крыс вызывает не только гипертрофию левого желудочка, но и миокардиальный фиброз, утрату кардиомиоцитов, утолщение интрамикардиальных артериол и, в конечном итоге, капиллярный дефицит. Последний приводит к несоответствию между гипертрофией кардиомиоцитов и числом капилляров [5, 6, 9, 10, 18, 28, 29]. Особенностью, обнаруженной в нашем исследовании, можно считать то, что на сравнительно ранних сроках после НЭ (2 месяца) у молодых крыс одной из отличительных черт изменений коронарных артерий является их довольно выраженный спазм. Пролонгация срока после НЭ еще на 2 месяца не приводила к дальнейшему значимому росту АД или ИММЛЖ, но вызывала прогрессивное нарастание фибропластических изменений в миокарде, в том числе в периваскулярной зоне. При этом изменения сосудов у 4-месячных крыс с НЭ оказались довольно своеобразными. У них увеличивалась ширина просвета сосудов при нарастании проявлений гипертрофического ремоделирования стенок артерий. Возможно, данная ситуация отражает уменьшение роли артериального спазма, отмеченного на ранних (2 месяца) сроках после НЭ при повышении значимости адаптивных изменений, направленных на поддержание объема коронарного кровотока.

Заключение

У интактных крыс линии Wistar возраста около 6,5 мес по сравнению с животными в возрасте 4,5 месяца наблюдаются отчетливое нарастание индекса массы миокарда левого желудочка и умеренное разрастание соединительной ткани в миокарде (в том числе в периваскулярных зонах). Такие изменения сопровождаются расширением просвета интрамуральных коронарных артерий в сочетании с некоторым уменьшением толщины стенок этих сосудов.

Через 2 месяца после $5/6$ нефрэктомии прослеживаются выраженный спазм и начальные признаки утолщения стенок коронарных артерий наряду с нарастанием индекса массы миокарда левого желудочка и фибропластических проявлений в миокарде. При продлении срока после нефрэктомии еще на 2 месяца отмечается значительное увеличение площади соединительной ткани и утолщение стенок сосудов без нарастания индекса массы миокарда левого желудочка при расширении диаметра сосудистого просвета. Как возрастные, так и спровоцированные почечной дисфункцией проявления ремоделирования миокарда и коронарных артерий однозначно не ассоциируются с ростом артериального давления.

Литература

1. Береснева О. Н., Парастаева М. М., Иванова Г. Т. и др. Роль кетостерила в нефропротекции и кардиопротекции при экспериментальной уремии // *Нефрология*. 2006. № 1. С. 56–61.
2. Парастаева М. М., Береснева О. Н., Кучер А. Г. и др. Содержание белка в рационе, ремоделирование миокарда и кальций-фосфорный гомеостаз у крыс с нефрэктомией // *Вестник Санкт-Петербург. ун-та. Сер.: 11*. 2014. № 4. С. 196–204.
3. Смирнов А. В., Добронравов В. А., Каюков И. Г. Кардиоренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии // *Нефрология*. 2005. № 3. С. 7–15.
4. Afsar B., Turkmen K., Covic A., Kanbay M. An update on coronary artery disease and chronic kidney disease // *Int. J. Nephrol.* 2014. doi: 10.1155/2014/767424.
5. Amann K., Törnig J., Flechtenmacher C. et al. Blood-pressure-independent wall thickening of intramyocardial arterioles in experimental uraemia: evidence for a permissive action of PTH // *Nephrol. Dial. Transplant.* 1995. Vol. 10 (11). P. 2043–2048.
6. Amann K., Neimeier K. A., Schwarz U. et al. Rats with moderate renal failure show capillary deficit in heart but not skeletal muscle // *Am. J. Kidney Dis.* 1997. Vol. 30 (3). P. 382–388.
7. Amann K., Ritz E. Cardiovascular abnormalities in ageing and in uraemia-only analogy or shared pathomechanisms? // *Nephrol. Dial. Transplant.* 1998. Vol. 13. Suppl 7. P. 6–11.
8. Amann K., Gassmann P., Buzello M. et al. Effects of ACE inhibition and bradykinin antagonism on cardiovascular changes in uremic rats // *Kidney Int.* 2000. Vol. 58. P. 153–161.
9. Amann K., Törnig J., Buzello M. et al. Effect of antioxidant therapy with dl-alpha-tocopherol on cardiovascular structure in experimental renal failure // *Kidney Int.* 2002. Vol. 62. P. 877–884.
10. Amann K., Hofstetter J., Câmpian V. et al. Nonhypotensive dose of beta-adrenergic blocker ameliorates capillary deficits in the hearts of rats with moderate renal failure // *Virchows Arch.* 2006. Vol. 449. P. 207–214.
11. Cebova M., Kristek F. Age-dependent ultra structural changes of coronary artery in spontaneously hypertensive rats // *Gen. Physiol. Biophys.* 2011. Vol. 30. P. 364–372.
12. Choi H. Y., Park H. C., Ha S. K. How do we manage coronary artery disease in patients with CKD and ESRD? // *Electrolyte. Blood Press.* 2014. Vol. 12. P. 41–54.
13. Clarke E. M., Thompson R. C., Allam A. H. et al. Is atherosclerosis fundamental to human aging? Lessons from ancient mummies // *J. Cardiol.* 2014. Vol. 63. P. 329–334.
14. Foley R. N., Parfrey P. S. Cardiac disease in chronic uremia: clinical outcome and risk factors // *Adv. Renal Replace. Ther.* 1997. Vol. 4. P. 234–248.
15. Go A. S., Chertow G. M., Fan D. et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization // *N. Engl. J. Med.* 2004. Vol. 351. P. 1296–1305.
16. Hanna M. A., Taylor C. R., Chen B. et al. Structural remodeling of coronary resistance arteries: effects of age and exercise training // *J. Appl. Physiol.* 1985. Vol. 117. P. 616–623.
17. Julin C. M., Thomas D. P. Effects of age and exercise training on size and composition of the rat left main coronary artery // *J. Gerontol.* 1993. Vol. 48. P. B101–B107.
18. Koleganova N., Piecha G., Ritz E., Gross M. L. Calcitriol ameliorates capillary deficit and fibrosis of the heart in subtotally nephrectomized rats // *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009. Vol. 24. P. 778–787.
19. Lakatta E. G., Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises, part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease // *Circulation.* 2003. Vol. 107. P. 139–146.
20. Lakatta E. G., Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises, part II: the aging heart in health: links to heart disease // *Circulation.* 2003. Vol. 107. P. 346–354.
21. Leibowitz D. Left ventricular hypertrophy and chronic renal insufficiency in the elderly // *Cardiorenal. Med.* 2014. Vol. 4. P. 168–175.
22. Maifirino L. B., Araújo R. C., Faccini C. C. et al. Effect of exercise training on aging-induced changes in rat papillary muscle // *Arq. Bras. Cardiol.* 2009. Vol. 92. P. 356–360; 373–377; 387–392.
23. Ninomiya T., Kiyohara Y., Kubo M. et al. Chronic kidney disease and cardiovascular disease in a general Japanese population: the Hisayama Study // *Kidney Int.* 2005. Vol. 68. P. 228–236.
24. North B. J., Sinclair D. A. The intersection between aging and cardiovascular disease. // *Circ. Res.* 2012. Vol. 110. P. 1097–1108.
25. Okoshi K., Ribeiro H., Okoshi M. et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy // *Jpn. Heart J.* 2004. Vol. 45. P. 647–656.
26. Ormrod D., Miller T. Experimental uremia description of a model producing varying degrees of stable uremia // *Nephron.* 1980. Vol. 2. P. 249–254.
27. Pruthi R., Steenkamp R., Feest T. Renal Registry 16th annual report: chapter 8 survival and cause of death of UK adult patients on renal replacement therapy in 2012: national and centre-specific analyses // *Nephron Clin. Pract.* 2013. Vol. 125. P. 139–169.
28. Törnig J., Amann K., Ritz E. et al. Arteriolar wall thickening, capillary rarefaction and interstitial fibrosis in the heart of rats with renal failure: the effects of ramipril, nifedipine and moxonidine // *J. Am. Soc. Nephrol.* 1996. Vol. 7. P. 667–675.
29. Tyralla K., Adamczak M., Benz K. et al. High-dose enalapril treatment reverses myocardial fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy // *PLoS One.* 2011. № 6 (1). P. e15287. doi: 10.1371.
30. Wang M., Monticone R. E., Lakatta E. G. Arterial aging: a journey into subclinical arterial disease // *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* 2010. Vol. 19. P. 201–207.

Kayukov I. G.¹, Beresneva O. N.¹, Parastaeva M. M.¹,
Shved N. V.¹, Ivanova G. T.², Kucher A. G.¹

Influence of age and nephron mass reduction on the myocardium and coronary arteries in young rats

¹ First Pavlov State Medical University of St. Petersburg
197022, Lev Tolstoy str. 6-8, St. Petersburg, Russia

² Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences
199034, Makarova emb. 6, St-Petersburg, Russia
e-mail: kvaka55@mail.ru

Abstract

The aim of the study — to evaluate the effects of age and renal dysfunction on the myocardium and coronary vessels in young Wistar rats.

Materials and methods. The study was performed on male Wistar rats aged ~2.5 months. 5/6 nephrectomy (NE) was performed stepwise at intervals of one week. The observation period was 2 or 4 months after NE or sham operation. For histological examination, the heart sections were stained with hematoxylin & eosin and by van Gieson. The histological changes were studied by light microscopy and quantitatively assessed by morphometry program Video Test 5.2.

Results. At intact rats aged about 6.5 months as compared to animals at the age of 4.5 months there was a clear increase in the left ventricular mass index and moderate growth of connective tissue in the myocardium (including perivascular areas). These changes were accompanied by an extension of the lumen of the intramural coronary arteries, combined with a slight decrease in the thickness of the walls of these vessels. Two 2 months after 5/6 nephrectomy (NE) pronounced spasm and early signs of thickening of the coronary artery walls took place, along with an increase of the left ventricular mass index and myocardial fibroplastic manifestations. Longer postoperative observation periods (4 months) were associated with a significant expansion of the connective tissue, increasing of the vascular wall thickness and the diameter of the vascular lumen without increase of the index of left ventricular mass. Manifestations of myocardial and coronary vessel remodeling evoked by age and renal dysfunction are not unequivocally associated with an increase in blood pressure.

Conclusion. In young Wistar rats both slight increase in age and nephron mass reduction result in significant independent effects on the myocardium and its vasculature.

Keywords: rats, myocardium, coronary arteries, age, remodeling, nephron mass reduction.

References

1. Beresneva O.N., Parastayev M. M., Ivanov G. T. et al. Rol' ketosterila v nefroprotekcii i kardioprotekcii pri jeksperimental'noj uremii [The role ketosterit in nephroprotection and cardioprotection at experimental uraemia] // *Nefrologija [Nephrology]*. 2006. N1. P. 56–61. [In Russian].
2. Parastaeva M.M., Beresneva O.N., Kucher A.G. et al. Soderzhanie belka v racione, remodelirovanie miokarda i kal'cij-fosfornyj gomeostaz u krysa s nefrektomiej [Protein content in a diet, myocardium remodeling and calcium - phosphorus homeostasis at rats with a nephroectomy] // *Vestnik Sankt-Peterburgskogo Universiteta [Bulletin of the St. Petersburg University]*. 2014. N 4. P.196–204. [In Russian].
3. Smirnov A.V., Dobronravov V.A., Kajukov I.G. Kardiorenal'nyj kontinuum: patogeneticheskie osnovy preventivnoj nefrologii [Cardiorenal continuum: pathogenetic basis of preventive nephrology] // *Nefrologija [Nephrology]*. 2005. N3. P.7–15. [In Russian].
4. Afsar B., Turkmen K., Covic A., Kanbay M. An update on coronary artery disease and chronic kidney disease // *Int J Nephrol*. 2014.10. 2014:767424. doi: 10.1155/2014/767424
5. Amann K., Törnig J., Flechtenmacher C. et al. Blood-pressure-independent wall thickening of intramyocardial arterioles in experimental uraemia: evidence for a permissive action of PTH // *Nephrol Dial Transplant*. 1995. V.10 (11). P. 2043–2048.
6. Amann K., Neimeier K.A., Schwarz U. et al. Rats with moderate renal failure show capillary deficit in heart but not skeletal muscle // *Am J Kidney Dis*. 1997. V.30 (3). P. 382–388.
7. Amann K., Ritz E. Cardiovascular abnormalities in ageing and in uraemia-only analogy or shared pathomechanisms? // *Nephrol Dial Transplant*. 1998. V.13. Suppl 7. P. 6–11.
8. Amann K., Gassmann P., Buzello M. et al. Effects of ACE inhibition and bradykinin antagonism on cardiovascular changes in uremic rats // *Kidney Int*. 2000. V. 58. P.153–161.
9. Amann K., Törnig J., Buzello M. et al. Effect of antioxidant therapy with dl-alpha-tocopherol on cardiovascular structure in experimental renal failure // *Kidney Int*. 2002. V. 62. P. 877–884.
10. Amann K., Hofstetter J., Câmpian V. et al. Nonhypotensive dose of beta-adrenergic blocker ameliorates capillary deficits in the hearts of rats with moderate renal failure // *Virchows Arch*. 2006. V. 449. P. 207–214.
11. Cebova M., Kristek F. Age-dependent ultra structural changes of coronary artery in spontaneously hypertensive rats // *Gen Physiol Biophys*. 2011. V. 30. P. 364–372.
12. Choi H.Y., Park H.C., Ha S.K. How do we manage coronary artery disease in patients with CKD and ESRD? // *Electrolyte Blood Press*. 2014. V. 12. P. 41–54.
13. Clarke E.M., Thompson R.C., Allam A.H. et al. Is atherosclerosis fundamental to human aging? Lessons from ancient mummies // *J Cardiol*. 2014. V. 63. P. 329–334.
14. Foley R.N., Parfrey P.S. Cardiac disease in chronic uremia: clinical outcome and risk factors // *Adv Renal Replac*

Ther. 1997. V. 4. P. 234–248.

15. Go A.S., Chertow G.M., Fan D. et al. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization // *N Engl J Med.* 2004. V. 351. P. 1296–1305.

16. Hanna M.A., Taylor C.R., Chen B. et al. Structural remodeling of coronary resistance arteries: effects of age and exercise training // *J Appl Physiol.* 1985. V. 117. P. 616–623.

17. Julin C.M., Thomas D.P. Effects of age and exercise training on size and composition of the rat left main coronary artery // *J Gerontol.* 1993. V. 48. P. B101–107.

18. Koleganova N., Piecha G., Ritz E., Gross M.L. Calcitriol ameliorates capillary deficit and fibrosis of the heart in subtotally nephrectomized rats // *Nephrol Dial Transplant.* 2009. V. 24. P. 778–787.

19. Lakatta E.G., Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises, part I: aging arteries: a “set up” for vascular disease // *Circulation.* 2003. V. 107. P. 139–146.

20. Lakatta E.G., Levy D. Arterial and cardiac aging: major shareholders in cardiovascular disease enterprises, part II: the aging heart in health: links to heart disease // *Circulation.* 2003. V. 107. P. 346–354.

21. Leibowitz D. Left ventricular hypertrophy and chronic renal insufficiency in the elderly // *Cardiorenal Med.* 2014. V. 4. P. 168–175.

22. Maifrino L.B., Araújo R.C., Faccini C.C., et al. Effect of exercise training on aging-induced changes in rat papillary muscle // *Arq Bras Cardiol.* 2009. V. 92. P. 356–360, 373–377, 387–392.

23. Ninomiya T., Kiyohara Y., Kubo M. et al. Chronic kidney disease and cardiovascular disease in a general Japanese population: the Hisayama Study // *Kidney Int.* 2005. V. 68. P. 228–236.

24. North B.J., Sinclair D.A. The intersection between aging and cardiovascular disease. // *Circ. Res.* 2012. V. 110. P. 1097–1108.

25. Okoshi K., Ribeiro H., Okoshi M. et al. Improved systolic ventricular function with normal myocardial mechanics in compensated cardiac hypertrophy // *Jpn Heart J.* 2004. V. 45. P. 647–656.

26. Ormrod D., Miller T. Experimental uremia description of a model producing varying degrees of stable uremia // *Nephron.* 1980. V. 2. P. 249–254.

27. Pruthi R., Steenkamp R., Feest T. Renal Registry 16th annual report: chapter 8 survival and cause of death of UK adult patients on renal replacement therapy in 2012: national and centre-specific analyses // *Nephron Clin Pract.* 2013. V. 125. P. 139–169.

28. Törnig J., Amann K., Ritz E. et al. Arteriolar wall thickening, capillary rarefaction and interstitial fibrosis in the heart of rats with renal failure: the effects of ramipril, nifedipine and moxonidine // *J Am Soc Nephrol.* 1996. V. 7. P. 667–675.

29. Tyralla K., Adamczak M., Benz K. et al. High-dose enalapril treatment reverses myocardial fibrosis in experimental uremic cardiomyopathy // *PLoS One.* 2011. 6(1):e15287. doi: 10.1371.

30. Wang M., Monticone R.E., Lakatta E.G. Arterial aging: a journey into subclinical arterial disease // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* 2010. V. 19. P. 201–207.