

ЛОБОВ Г. И.<sup>1</sup>, ИСАЧКИНА А. Н.<sup>2</sup>,  
ГУРКОВ А. С.<sup>1</sup>

## Особенности регуляции сосудов микроциркуляторного русла у пациентов с хронической болезнью почек, получающих лечение перитонеальным диализом

<sup>1</sup> Институт физиологии им. И. П. Павлова РАН

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

<sup>2</sup> Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова

191015, Россия, г. Санкт-Петербург, ул. Кирочная, 41

e-mail: gilobov@yandex.ru

### Реферат

**Введение и цель работы.** Хроническая болезнь почек (ХБП) — распространенное неинфекционное заболевание, при котором развивается артериальная гипертензия (АГ). Механизмы развития АГ при ХБП являются сложными и недостаточно изученными. Это исследование было проведено с целью изучения механизмов повышения тонуса сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) у пациентов с ХБП, получающих лечение перитонеальным диализом.

**Материалы и методы.** Обследовано 76 пациентов отделения диализа. Кровоток по сосудам МЦР оценивали методом лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ). Данные ЛДФ-метрии использовали для расчетов нейрогенного (НТ), миогенного (МТ) и эндотелийзависимого тонуса (ЭЗТ) микрососудов. Концентрацию эндогенного оубаина (ЭО) и маринобуфагенина (МБГ) в плазме крови определяли методом конкурентного иммунофлуоресцентного анализа с применением антител к МБГ и ЭО. Активность Na/K-АТФазы эритроцитов определяли спектрофотометрическим методом.

**Результаты исследования.** У пациентов с ХБП повышен НТ, МТ и ЭЗТ сосудов МЦР (на  $21,4 \pm 3,88$ ,  $33,4 \pm 5,62$  и  $17,1 \pm 3,14$  % соответственно) по сравнению с контролем. Концентрация ЭО в плазме крови пациентов с ХБП была в среднем  $0,311 \pm 0,032$  нМ/л, а в контроле —  $0,296 \pm 0,031$  нМ/л. Содержание МБГ в плазме крови пациентов с ХБП составило 2,10; 0,89; 3,07 нМ/л (медиана, 25-й и 75-й процентиля), а в контроле — 0,347; 0,103; 0,487 нМ/л. Активность Na/K-АТФазы эритроцитов у пациентов с ХБП была  $1,54 \pm 0,18$  мкмоль Рн/мл/час (в контроле —  $3,07 \pm 0,44$  мкмоль Рн/мл/час). Показана корреляционная связь ( $r_s = 0,736$ ) величины МТ микрососудов с уровнем МБГ в плазме крови у пациентов с ХБП.

**Выводы.** Результаты нашего исследования показывают, что высокий НТ сосудов МЦР у пациентов с ХБП связан с повышением активности центральных структур симпатической нервной системы, увеличение ЭЗТ связано с эндотелиальной дисфункцией, а высокий уровень МТ является следствием увеличения содержания МБГ (но не ЭО) в плазме крови. Мы полагаем, что МБГ вызывает сокращение гладкомышечных клеток кровеносных сосудов посредством активации сигнальной функции Na/K-АТФазы.

**Ключевые слова:** микроциркуляторное русло, сосуды, тонус, маринобуфагенин, оубаин, Na/K-АТФаза.

### Введение

Хроническая болезнь почек (ХБП) — одно из распространенных неинфекционных заболеваний; по данным Американского фонда почки, ею страдают около 10 % населения США [9]. ХБП, независимо от причины, вызвавшей ее развитие, быстро прогрессирует и, как правило, сопровождается АГ. В свою очередь, АГ ускоряет развитие почечной недостаточности [13, 18]. У пациентов с ХБП существенно возрастает риск развития и других заболеваний сердечно-сосудистой системы [25].

Важнейшими факторами развития АГ при ХБП принято считать задержку натрия, сопровождающуюся увеличением объема внеклеточной жидкости, повышение содержания в плазме крови ангиотензина II и усиление активности симпатической нервной системы. Последние приводят к сужению резистивных сосудов и повышению общего периферического сопротивления. Наряду с ними, повышению тонуса

мелких артерий и артериол способствует и эндотелиальная дисфункция, сопровождающая ХБП [14, 26].

Несмотря на то, что факторы, приводящие к повышению артериального давления при ХБП, известны достаточно давно, реальный вклад каждого из них в развитие АГ остается неясным, прежде всего, в силу причин методического характера. Наименее изученным является сосудистый фактор, а точнее — тонус мелких артерий и артериол, определяющий общее периферическое сопротивление сосудистой системы [2, 17]. Тонус сосудов МЦР является производным нескольких регуляторных механизмов, он формируется, по меньшей мере, тремя составляющими: нейрогенным (НТ), миогенным (МТ) и эндотелийзависимым (ЭЗТ) компонентами [8]. У пациентов с ХБП нарушена нервная регуляция микрососудов (повышена активность симпатической нервной системы), модифицирована миогенная регуляция

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

(нарушена функция ионных насосов мембраны гладкомышечных клеток (ГМК) мелких артерий и артериол), кроме этого, наблюдается эндотелиальная дисфункция (дизрегуляция синтеза вазодилататоров и вазоконстрикторов, антикоагулянтов, цитокинов) [3, 22].

**Цель исследования** — изучение механизмов повышения тонуса сосудов МЦР у пациентов с ХБП 5д стадии, получающих лечение перитонеальным диализом.

### Материал и методы исследования

Были обследованы пациенты отделения диализа № 2 клиники Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова: 37 мужчин и 39 женщин в возрасте от 30 до 67 лет. У всех пациентов была выявлена и подтверждена результатами лабораторных исследований ХБП 5-й стадии. Пациенты получали лечение перитонеальным диализом. Режим перитонеального диализа был стандартным и предусматривал 4 обмена в сутки. Контрольную группу составили 22 добровольца (9 мужчин и 13 женщин) в возрасте от 22 до 53 лет, не имеющие патологии со стороны почек и сердечно-сосудистой системы. Протокол исследования был одобрен этическим комитетом и клиническим Советом СЗГМУ им. И. И. Мечникова.

Исследование кровотока в сосудах МЦР проводили в коже подушечки II пальца руки. На этом участке кожи представлены все виды регуляции сосудистого тонуса [17]. Исследование проводили с помощью лазерного доплеровского флоуметра (ЛДФ) ЛАКК-М (исполнение 2, ЛАЗМА, Россия). Метод ЛДФ, несмотря на то, что он является относительным способом контроля микроциркуляции (существует проблема «биологического нуля», калибровке измерений препятствуют гетерогенность распределения эритроцитов в ткани), имеет серьезные преимущества перед другими, в первую очередь, по той причине, что является неинвазивным [1, 7].

Регистрацию параметров микрокровотока проводили по утрам, с 9 до 11 часов, на протяжении не менее 8 минут. Для записи и первичной обработки информации применяли прилагаемое к аппарату стандартное программное обеспечение версии 3.0.2.376. Перед каждым исследованием и после него у пациентов измеряли артериальное давление тонометром Omron SpotArm™ i-Q142 (Omron Healthcare Co., Япония).

На основании данных об амплитудах колебаний соответствующих частот с учетом среднего артериального давления по ниже приведенной формуле рассчитывали величину нейрогенного (НТ) тонуса микрососудов [1]:

Нейрогенный тонус:  $HT = (\sigma \cdot P_{cp}) / A_n \cdot M$   
где M — показатель микроциркуляции;  $\sigma$  — среднеквадратическое отклонение колебаний перфузии;  $P_{cp}$  — среднее артериальное давление;  $A_n$  — амплитуда колебаний кровотока в нейрогенном диапазоне частот (0,02–0,05 Гц).

По аналогичным формулам рассчитывали величины миогенного (МТ) (частота колебаний микрокровотока — 0,06–0,15 Гц) и эндотелийзависимого (ЭЗТ) (частота колебаний микрокровотока — 0,0095–0,02 Гц) тонуса.

Показатель шунтирования (ПШ) рассчитывали по формуле [1]:

$$ПШ = МТ / НТ$$

У части пациентов с ХБП (17 человек) и у 12 добровольцев из контрольной группы была проведена проба с ацетилхолином (АХ), позволяющая оценить степень эндотелиальной дисфункции. Для ионофоретического введения АХ использовали аппарат для ионофореза Jono-X-Mixage Active Line. Электрод фиксировался на ладонной поверхности первой фаланги второго пальца руки, с которого осуществлялась регистрация ЛДФ-граммы. Применяли АХ в концентрации 0,1 %. Сила тока составляла 20 мкА, время ионофореза — 2 мин.

У каждого пациента в день обследования забирали 10 мл венозной крови для исследования концентрации кардиотонических стероидов и для определения активности Na/K-АТФазы эритроцитов. Концентрацию кардиотонических стероидов в плазме крови определяли методом конкурентного иммунофлуоресцентного анализа с применением антител к маринобуфагенину и оубаину.

Активность Na/K-АТФазы эритроцитов определяли спектрофотометрическим методом [20]. Обработку полученных результатов при нормальном распределении показателей и равенстве дисперсий проводили с использованием среднего арифметического (M) и стандартного отклонения ( $\pm SD$ ), для оценки различий применяли t-критерий Стьюдента. При асимметричном распределении показателей рассчитывали медиану, 25-й и 75-й процентиля и критерий Манна–Уитни. Коэффициент корреляции рассчитывали по методу Пирсона (при нормальном распределении) и Спирмена (при асимметричном распределении). Различия считали статистически значимыми при  $p < 0,05$ .

### Результаты исследования

Анализ величин показателя микроциркуляции (ПМ) в коже подушечки второго пальца руки, отражающего перфузию ткани, показал, что у пациентов с ХБП этот параметр достоверно меньше по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе (табл. 1).

В табл. 1 также представлены результаты вейвлет-анализа ЛДФ-грамм — усредненные амплитуды колебаний микрокровотока в нейрогенном (Ан), миогенном (Ам) и эндотелийзависимом диапазонах (Аэ), на основании которых в последующем были рассчитаны величины НТ, МТ и ЭЗТ сосудов МЦР в исследуемом участке кожи [1, 7].

Все компоненты тонуса микрососудов у пациентов с ХБП оказались достоверно большими по сравнению с соответствующими показателями у здоровых добровольцев. ПШ у пациентов с ХБП также был выше в среднем на  $9,8 \pm 1,06$  % по сравнению с контролем.

Параметры микрокровотока в коже подушечки второго пальца руки  
у пациентов с ХБП и в контрольной группе

Таблица 1

Показатель	Пациенты с ХБП	Контроль
ПМ (пф. ед.)	18,9±2,17*	21,6±2,50
σ (пф. ед.)	2,2±0,19*	2,5 ±0,24
Kv( %)	12,8±1,19*	11,9±1,25
Ан	1,33±0,17*	1,72±0,20
Ам	0,98±0,09*	1,22±0,16
Аэ	0,93±0,11**	1,21±0,12
НТ (отн. ед.)	8,10±0,74**	6,67±0,51
МТ (отн. ед.)	10,97±1,35**	8,23±1,22
ЭЗТ (отн. ед.)	11,58±1,27**	9,89±0,93
ПШ (отн. ед.)	1,35 ±0,14*	1,23 ±0,14
АД (мм рт. ст.)	129,3±8,72*/74,4±6,69*	121,2±6,31/71,6±5,62
АД ср (мм рт. ст.)	93,1±6,47*	88,6±6,26

Примечания: \* —  $p < 0,05$ , \*\* —  $p < 0,01$ .

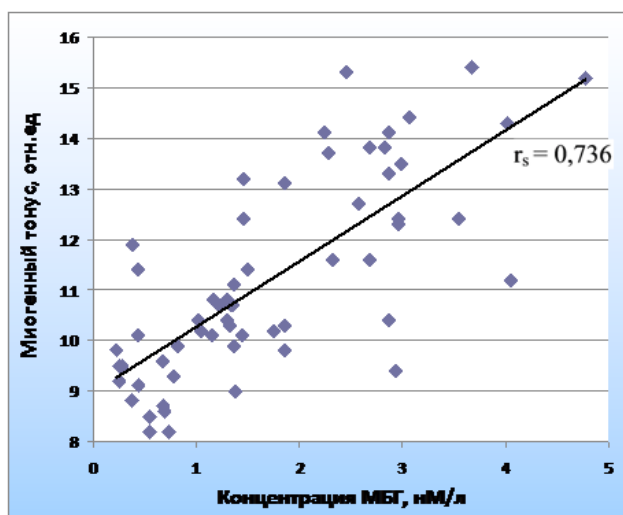


Рис. 1. Корреляционная зависимость между концентрацией маринобуфагенина в плазме крови и миогенным тонусом сосудов МЦР у пациентов с ХБП

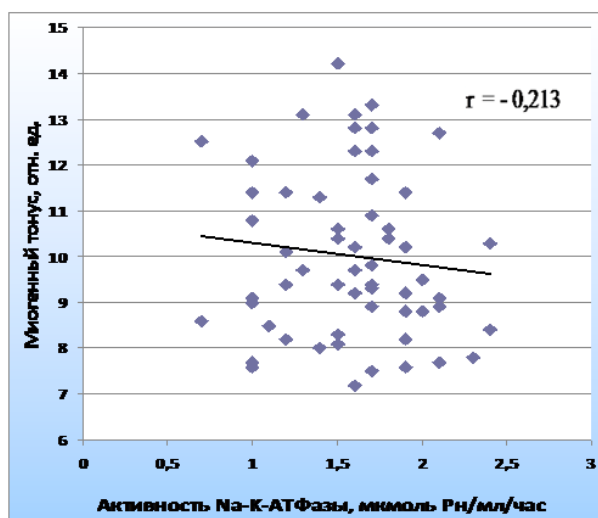


Рис. 2. Корреляционная зависимость между активностью Na/K-АТФазы и миогенным тонусом сосудов МЦР у пациентов с ХБП

Далее мы провели ряд исследований с целью изучения механизмов повышения различных компонентов тонуса микрососудов. В процессе анализа компонентов сосудистого тонуса у пациентов с ХБП было установлено, что наибольшие изменения наблюдались в величине МТ (+33,4±5,62 % по отношению к величине МТ в контроле).

В литературе имеются данные о том, что одной из причин повышения тонуса мелких артерий и артериол при моделировании ХБП у животных является ингибирование насосной функции Na/K-АТФы ГМК сосудов эндогенными кардиостероидами (КС), концентрация которых в плазме крови возрастает в несколько раз [5, 19].

Для уточнения роли КС в регуляции сосудистого тонуса при ХБП мы проанализировали содержание эндогенного оубаина (ЭО) и маринобуфагенина (МБГ) в плазме крови пациентов с ХБП и в контрольной группе. Параллельно провели также исследование активности Na/K-АТФазы эритроцитов пациентов с ХБП и здоровых добровольцев.

Концентрация ЭО в плазме крови пациентов с ХБП была в среднем 0,311±0,032 нМ/л, а в плазме добровольцев — 0,296±0,031 нМ/л. Содержание МБГ в плазме крови пациентов с ХБП составило 2,10; 0,89; 3,07 нМ/л (медиана, 25-й и 75-й процентиля), а в контроле — 0,347; 0,103; 0,427 нМ/л. Активность Na/K-АТФазы эритроцитов у пациентов с ХБП составила 1,54±0,18 ммоль Рн/мл/час, а в контроле — 3,07±0,44 ммоль Рн/мл/час.

Далее мы сопоставили результаты исследования содержания МБГ в плазме крови пациентов с ХБП и МТ сосудов МЦР. На рис. 1 представлена точечная диаграмма, отражающая связь концентрации МБГ и величины МТ у пациентов с ХБП. Эта связь оказалась положительной с коэффициентом корреляции +0,736. На рис. 2 представлена точечная диаграмма, отражающая связь активности Na/K-АТФазы с МТ сосудов МЦР. Эта связь оказалась отрицательной с коэффициентом корреляции -0,213.

Нейрогенный тонус сосудов МЦР кожи второго пальца руки  
на фоне действия пратсиола и гексаметония бензосульфоната

Таблица 2

	Пациенты с ХБП	Контроль
Исходный НТ, отн. ед.	8,14±0,76	6,63±0,54
НТ на фоне пратсиола, отн. ед.	5,01±0,54*	4,93±0,44*
НТ на фоне гексаметония бензосульфоната, отн. ед.	4,82±0,46*	4,76±0,42*

Примечание: различия достоверны по отношению к исходному уровню НТ; \* —  $p < 0,01$ .

## Результаты пробы с АХ

Таблица 3

Параметр	Пациенты с ХБП	Контроль
Исходный ПМ, пф. ед.	18,6±2,47*	21,2±2,86
Максимальный ПМ, пф. ед.	35,0±5,83*	48,2±6,14
Время достижения максимума ПМ, мин	4,62±0,53*	3,51±0,47

Примечание: различия достоверны по отношению к показателям в контроле; \* —  $p < 0,01$ .

## Результаты окклюзионной пробы

Таблица 4

Параметр	Пациенты с ХБП	Контроль
ПМисх (пф. ед.)	18,7±2,17*	21,4±2,42
ПМокл (пф. ед.)	3,2±0,26	3,0±0,41
ПМмакс (пф. ед.)	36,4±2,67*	53,7±4,19
Резерв кровотока (%)	206,3±18,11*	251,7±22,29
$T_{1/2}$ (с)	46,2±3,18*	33,7±2,49

Для выяснения механизма повышенного НТ сосудов МЦР у 19 пациентов с ХБП и 14 человек из контрольной группы было проведено исследование микрокровотока в коже второго пальца руки через 1 час после приема ими пратсиола в дозе 5 мг. Аналогичное исследование было проведено у 15 пациентов и 12 человек из контрольной группы после подкожного введения гексаметония бензосульфоната в дозе 12,5 мг. Результаты расчетов НТ микрососудов на фоне применения блокаторов представлены в табл. 2.

С целью оценки степени эндотелиальной дисфункции у пациентов с ХБП была проведена проба с АХ. При проведении пробы с АХ отмечалось довольно быстрое нарастание ПМ с последующим медленным восстановлением. По завершении пробы оценивали два параметра: максимальную величину ПМ и время достижения максимума ПМ. Результаты этой пробы представлены в табл. 3.

На заключительном этапе с целью оценки резервных возможностей микроциркуляторного русла у пациентов с ХБП (22 человека) и в контрольной группе (10 человек) была проведена окклюзионная проба (ОП). В табл. 4 отражены усредненные данные ОП.

## Обсуждение результатов

Исследование кровотока в сосудах МЦР кожи у пациентов с ХБП показало, что базальная перфузия тканей у этих больных снижена по сравнению

с контролем в среднем на 12,7±2,04 %. Наряду с уменьшением перфузии, выявлены и другие изменения микрокровотока: средняя амплитуда колебаний перфузии ( $\delta$ ) была уменьшена, в то же время коэффициент вариации ( $K_v$ ), характеризующий модуляцию микрокровотока, у пациентов с ХБП оказался несколько выше. Вместе взятые эти два показателя свидетельствуют об определенном напряжении механизмов модуляции микрокровотока в тканях кисти у пациентов с ХБП [13, 14].

Наибольшие изменения среди компонентов тонуса микрососудов у пациентов с ХБП были выявлены в МТ, который оказался на 33,4±5,62 % выше по сравнению с аналогичным показателем в контрольной группе. МТ является производным функционирования нескольких мембранных и цитозольных механизмов в ГМК сосудов.

Одним из важнейших факторов, определяющих степень сокращения ГМК, является мембранный потенциал. Деполяризация мембраны сопровождается входом в клетку  $Ca^{2+}$  и активацией регуляторных белков, приводящей к сокращению миоцитов, а гиперполяризация — к противоположным изменениям. Соответственно, модуляция активности ионных насосов мембраны (в особенности — электрогенных) может приводить к изменениям величины мембранного потенциала ГМК сосудов и изменению степени их сокращения [16].

Одним из важнейших электрогенных насосов в ГМК является Na/K-АТФаза, активность которой может модулироваться различными факторами, в т.ч. эндогенным оубаином [18] и другими КС [19]. Имеются данные, показывающие, что КС, образующиеся в значительных количествах при ХБП, ингибируют Na/K-АТФазу ГМК сосудов, что приводит к деполяризации мембраны, повышению концентрации цитоплазматического  $\text{Ca}^{2+}$  и развитию сокращения, клинически проявляющимся в виде увеличения МТ мелких артерий и артериол и развития АГ [19].

Ранее *ex vivo* было показано, что МБГ в концентрациях, сопоставимых с уровнем этого стероида в плазме крови *in vivo*, приводит к сужению изолированных легочных и брыжеечных артерий человека [23], а также ингибирует оубаинрезистентную  $\alpha 1$ -Na/K-АТФазу в аорте и почках [24]. Мы провели корреляционный анализ, сопоставив величины МТ у пациентов с ХБП с концентрацией МБГ в плазме крови. В результате анализа между этими двумя показателями была установлена положительная корреляционная связь с высоким коэффициентом корреляции (+0,759).

Основываясь на литературных данных, мы предположили, что у больных ХБП высокая концентрация МБГ в плазме крови может повышать МТ микрососудов и артериальное давление путем ингибирования транспортной функции  $\alpha 1$ -Na/K-АТФазы в ГМК. Поскольку исследование активности Na/K-АТФазы ГМК сосудов у пациентов практически невозможно, мы оценили у этих больных активность Na/K-АТФазы эритроцитов, на мембране которых имеется та же  $\alpha 1$ -изоформа Na/K-АТФазы, что и на мембране ГМК сосудов [5]. Активность Na/K-АТФазы эритроцитов у пациентов с ХБП оказалась в 2 раза ниже по сравнению с контрольной группой. Далее мы проанализировали корреляционную связь между МТ сосудов, определяемым состоянием ГМК сосудов и активностью Na/K-АТФазы. Эта связь оказалась отрицательной, что вполне укладывается в представления об ингибирующем влиянии МБГ на Na/K-АТФазу ГМК кровеносных сосудов. Коэффициент корреляции был равен  $-0,213$  и не позволял объяснить влияние МБГ на ГМК сосудов только ингибирующим влиянием на насосную функцию Na/K-АТФазы.

Ранее в экспериментах на животных было установлено, что эндогенные КС, наряду с ингибированием насосной функции Na/K-АТФазы, способны также активировать ее сигнальную (трансдукторную) функцию [25, 26]. Сигнальная функция опосредованного Na/K-АТФазой регуляторного каскада не зависит от ингибирования ее насосной функции. Она запускается при связывании КС с Na/K-АТФазой в присутствии киназ семейства Src и приводит к активации рецепторов эпидермального фактора роста и фосфолипазы C с последующей активацией протеинкиназы C [27] и ингибированием  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума [20]. Мы полагаем, что преимущественно этот механизм действия МБГ реализуется у пациентов с ХБП и приводит к стойкому повышению МТ сосудов.

НТ сосудов МЦР у пациентов с ХБП также оказался значительно выше (на  $21,4 \pm 3,88$  %) по сравнению с его величиной в контроле. Известно, что к повышению НТ микрососудов могут приводить преимущественно две группы причин: центральные, связанные с активацией центров симпатической нервной системы, и местные, вызываемые повышением чувствительности адренорецепторов [28]. При анализе возможных причин повышения НТ сосудов мы провели пробы с применением пратсиола (блокатор  $\alpha 1$ -адренорецепторов) и гексаметония бензосульфоната (ганглиоблокатор). Оба препарата снижали НТ микрососудов как у пациентов с ХБП, так и в контроле. На фоне применения этих веществ НТ снижался на  $38,3 \pm 4,66$  % у пациентов с ХБП и на  $24,7 \pm 3,82$  % в контрольной группе и устанавливался практически на одинаковом уровне.

Полученные данные дают нам сделать заключение, что повышенный НТ микрососудов у пациентов с ХБП имеет преимущественно центральное происхождение. МБГ в высокой концентрации, по-видимому, так же, как и оубаин [5], стимулирует центры гипоталамуса и приводит к повышению тонуса вегетативных ядер ствола мозга.

ЭЗТ микрососудов у пациентов с ХБП также был повышен (на  $17,1 \pm 3,14$  %) по сравнению с контрольной группой. В литературе представлено большое количество данных, свидетельствующих об эндотелиальной дисфункции, развивающейся у пациентов с ХБП [26]. Тем не менее мы провели пробу с АХ, позволяющую оценить степень вазодилатации, опосредованную способностью эндотелия продуцировать оксид азота (NO), выявить эндотелиальную дисфункцию и дать общую оценку степени ее выраженности [14].

Меньший прирост перфузии у пациентов с ХБП при ионофорезе АХ и большее время достижения максимума перфузии кожи пальца руки свидетельствуют о выраженной эндотелиальной дисфункции у пациентов с ХБП, проявляющейся в снижении активности эндотелиальной NO-синтазы, что и является основной причиной повышения ЭЗТ сосудов МЦР у этих пациентов.

ОП мы провели с целью оценить резервные возможности МЦР и реактивность микрососудов у пациентов с ХБП. Резерв кровотока у них оказался снижен на  $17,9 \pm 3,34$  %, а время полувосстановления ( $T_{1/2}$ ) увеличено на  $30,7 \pm 5,47$  % по сравнению с контролем, что свидетельствует об уменьшении резервных возможностей МЦР и снижении реактивности микрососудов прекапиллярного звена.

Принято считать, что постокклюзионная реактивная гиперемия является нейрогенной реакцией, реализующейся преимущественно через высвобождение кокальцигенина и нейронального NO, секретируемых афферентными ноцицептивными C-волоками, а оба этих фактора индуцируют синтез NO эндотелием, который действует на гладкую мускулатуру сосудов и вызывает вазодилатацию [1].

Уменьшение резерва кровотока МЦР и снижение реактивности микрососудов у пациентов с ХБП могут быть связаны с выявленной нами эндотелиаль-

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

ной дисфункцией, а также с нарушениями функций ноцицептивных С-волокон, принимающих участие в модуляции микрокровотока.

### Заключение

Полученные в ходе исследования данные позволили установить, что у пациентов с ХБП 5д стадии повышены все компоненты сосудистого тонуса: НТ, МТ и ЭЗТ. Мы полагаем, что основной причиной повышения МТ микрососудов является увеличение концентрации МБГ в плазме крови больных. МБГ при-

водит к повышению МТ посредством ингибирования насосной функции и активации сигнальной функции Na/K-АТФазы в ГМК микрососудов, реализуемой с участием Src-киназы, рецепторов эпидермального фактора роста и фосфолипазы С.

Повышение НТ сосудов МЦР у пациентов с ХБП связано с активацией центральных структур симпатической нервной системы, а увеличение ЭЗТ — с эндотелиальной дисфункцией, проявляющейся в снижении способности эндотелиальных клеток синтезировать NO.

## Литература

1. Крупаткин А.И., Сидоров В. В. Функциональная диагностика состояния микроциркуляторно-тканевых систем: рук-во для врачей. М.: Либроком, 2013. 496 с.
2. Лобов Г. И., Гурков А. С., Дворецкий Д. П. Микроциркуляторный кровоток в коже кисти у пациентов с артериовенозной фистулой, находящихся на лечении программным гемодиализом // Регионарное кровообращение и микроциркуляция. 2012. № 1(41). С. 35–44.
3. Лобов Г. И., Гурков А. С. Модуляция кровотока в микроциркуляторном русле пальцев кисти после формирования радиоцефалической артериовенозной фистулы // Нефрол. и диализ. 2014. Т. 16. № 3. С. 364–371.
4. Bagrov A. Y., Fedorova O. V. Effects of two putative endogenous digitalis-like factors, marinobufagenin and ouabain, on the Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>-pump in human mesenteric arteries // J. Hypertens. 1998. Vol. 16. № 12 (Pt 2). P. 1953–1958.
5. Bagrov A. Y., Shapiro J. I., Fedorova O. V. Endogenous Cardiotonic Steroids: Physiology, Pharmacology, and Novel Therapeutic Targets // Pharmacol. Rev. 2009. Vol. 61. № 1. P. 9–38.
6. Blaustein M. P. Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores and cell responsiveness // Am. J. Physiol. 1993. Vol. 264. № 6 (Pt 1). P. C1367–C1387.
7. Bernjak A., Deitrick G. A., Bauman W. A. et al. Basal sympathetic activity to the microcirculation in tetraplegic man revealed by wavelet transform of laser Doppler flowmetry // Microvasc. Res. 2011. Vol. 81. № 3. P. 313–318. doi: 10.1016/j.mvr.2011.01.005.
8. Bračić M. A., Stefanovska A. Wavelet based analysis of human blood flow dynamics // Bull. Math. Biol. 1998. Vol. 60. № 5. P. 919–935.
9. Collins A. J., Foley R. N., Chavers B. et al., United States Renal Data System 2011 Annual Data Report: Atlas of chronic kidney disease & end-stage renal disease in the United States // Am. J. Kidney Dis. 2012. Vol. 59. № 1 (Suppl. 1). P. e1–e420.
10. Davis M. J., Hill M. A. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response // Physiol. Rev. 1999. Vol. 79. № 2. P. 387–423.
11. Fedorova O. V., Lakatta E. G., Bagrov A. Y. Endogenous Na,K pump ligands are differentially regulated during acute NaCl loading of Dahl rats // Circulation. 2000. Vol. 102. № 24. P. 3009–3014.
12. Fisher J. P., Paton J. F. The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: implications for hypertension // J. Hum. Hypertens. 2012. Vol. 26. № 8. P. 463–475. doi: 10.1038/jhh.2011.66.
13. Gargiulo R., Suhail F., Lerma E. V. Hypertension and chronic kidney disease // Dis. Mon. 2015. Vol. 61. № 9. P. 387–395. doi: 10.1016/j.disamonth.2015.07.00.
14. Goligorsky M. S. Pathogenesis of endothelial cell dysfunction in chronic kidney disease: a retrospective and what the future may hold // Kidney Res. Clin. Pract. 2015. Vol. 34. № 2. P. 76–82. doi: 10.1016/j.krcp.2015.05.003.
15. Haas M., Askari A., Xie Z. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal-transducing function of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase // J. Biol. Chem. 2000. Vol. 275. № 36. P. 27832–27837.
16. Hauck C., Frishman W. H. Systemic hypertension: the roles of salt, vascular Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and the endogenous glycosides, ouabain and marinobufagenin // Cardiol. Rev. 2012. Vol. 20. № 3. P. 130–138. doi: 10.1097/CRD.0b013e31823c835c.
17. Holowatz L. A., Thompson-Torgerson C. S., Kenney W. L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function // J. Appl. Physiol. 2008. Vol. 105. № 1. P. 370–372. doi: 10.1152/japplphysiol.00858.2007.
18. Judd E., Calhoun D. A. Management of hypertension in CKD: beyond the guidelines // Adv. Chronic Kidney Dis. 2015. Vol. 22. № 2. P. 116–122. doi: 10.1053/j.ackd.2014.12.001.
19. Kennedy D. J., Vetteth S., Periyasamy S. M. et al. Central role for the cardiotonic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy // Hypertension. 2006. Vol. 47. № 3. P. 488–495. doi: 10.1161/01.HYP.0000202594.82271.92.
20. Kolmakova E. V., Haller S. T., Kennedy D. J. et al. Endogenous cardiotonic steroids in chronic renal failure // Nephrol. Dial. Transplant. 2011. Vol. 26. № 9. P. 2912–2919. doi: 10.1093/ndt/gfq772.
21. Kometiani P., Li J., Gnudi L. et al. Multiple signal transduction pathways link Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase to growth-related genes in cardiac myocytes: the roles of Ras and mitogen-activated protein kinases // J. Biol. Chem. 1998. Vol. 273. № 24. P. 15249–15256.
22. Levey A., Beto J., Coronado B. et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know, what do we need to learn, where do we go from here? // Am. J. Kidney Dis. 1998. Vol. 32. № 5. P. 853–906.
23. Liu M., Ren Y., Guo C. Effect of ouabain on the pathogenesis of hypertension in rats // Chin. Med. J. 2014. Vol. 127. № 10. P. 1931–1934.
24. Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J. et al. The vascular endothelium and human diseases // Int. J. Biol. Sci. 2013. Vol. 9. № 9 (10). P. 1057–1069. doi: 10.7150/ijbs.7502.
25. Said S., Hernandez G. T. The link between chronic kidney disease and cardiovascular disease // J. Nephropathol. 2014. Vol. 3. № 3. P. 99–104. doi: 10.12860/jnp.2014.
26. Yannoutsos A., Levy B. I., Safar M. E. et al. Pathophysiology of hypertension: interactions between macro and microvascular alterations through endothelial dysfunction // J. Hypertens. 2014. Vol. 32. № 2. P. 216–224. doi: 10.1097/HJH.0000000000000021.



## Features of microvasculature regulation in patients with chronic kidney disease on peritoneal dialysis

<sup>1</sup> Pavlov Institute of Physiology Russian Academy of Sciences  
199034, Russia, St. Petersburg, emb. Makarova, 6<sup>2</sup> North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov  
195067, Russia, St. Petersburg, Piskarevskij prospect, 47  
e-mail: gilobov@yandex.ru

## Abstract

**Introduction and aim.** Chronic kidney disease (CKD) is one of the most common non-infectious diseases, in which arterial hypertension (AH) is progressing. The mechanisms of AH in CKD are complex and understudied. This research was conducted with the objective to investigate the mechanisms of microvascular tonus increase in the group of patients with the 5th stage of CKD who were treated with peritoneal dialysis

**Materials and methods.** Patients from dialysis department were included in the study (76 people). Blood flow in microvessels was measured by laser Doppler flowmetry (LDF). Results of LDF used for the calculation of neurogenic (HT), myogenic (MT) and endothelium-dependent tonus (EDT) microvessels. Cardiostimulant concentration in plasma was measured by competitive immunofluorescence using antibodies to ouabain and marinobufagenin. The activity of Na/K-ATPase was measured by spectrophotometry

**Results and discussion.** HT microvessels in patients with CKD was increased by  $21.4 \pm 3.88$  %, MT —  $33.4 \pm 5.62$  %, EDT  $17.1 \pm 3.14$  % compared with the control group. Endogenous ouabain (EO) concentration in plasma of patients with CKD was on average  $0.311 \pm 0.032$  nM/L, in the control —  $0.296 \pm 0.031$  nM/L. Marinobufagenin (MBG) concentration in the plasma of patients with CKD was 2.10; 0.89; 3.07 nM / L (median, 25th and 75th percentile), and in control — 0.347; 0.103; 0.427 nM/L. The activity of Na/K-ATPase in patients with CKD was  $1.54 \pm 0.18$   $\mu$ mol Pi/mL/hr, vs.  $3.07 \pm 0.44$   $\mu$ mol Pi/mL/h in the control. The correlation between the value of MT of microvascular and MBG concentration in blood plasma of patients with CKD was found ( $r_s = 0.736$ ).

**Conclusions.** Our results show that high NT of microvessels of patients with CKD and is connected with increased activity of the central structures of the sympathetic nervous system, while increase of EDT is connected with endothelial dysfunction and increase of MT is connected with increasing concentration of MBG (not EO) in blood plasma. We believe that the MBG causes contraction of smooth muscle cells of blood vessels by activating signaling function of Na/K-ATPase.

**Keywords:** microvasculature, vessels, tonus, marinobufagenin, ouabain, Na/K-ATPase.

## References

1. Krupatkin A.I., Sidorov V.V. Funkcional'naya diagnostika sostoyaniya mikrocirkulyatorno-tkanevyh sistem (Rukovodstvo dlya vrachej). — M.: Librokom, 2013. — 496 s.
2. Lobov G. I., Gurkov A. S., Dvoreckij D. P. Mikrocirkulyatornyj krovotok v kozhe kisti u pacientov s arteriovenoznoj fistuloy, nahodyashchih'sya na lechenii programmnoy gemodializom // Regionarnoe krovoobrashchenie i mikrocirkulyaciya. 2012. № 1(41). S. 35-44.
3. Lobov G.I., Gurkov A.S. Modulyaciya krovotoka v mikrocirkulyatornom rusle pal'cev kisti posle formirovaniya radiocefalicheskoj arteriovenoznoj fistuly // Nefrologiya i dializ. 2014. T. 16. № 3. S. 364-371.
4. Bagrov A.Y., Fedorova O.V. Effects of two putative endogenous digitalis-like factors, marinobufagenin and ouabain, on the Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-pump in human mesenteric arteries // J. Hypertens. 1998. Vol. 16. N 12 (Pt 2). P. 1953-1958.
5. Bagrov A.Y., Shapiro J.I., Fedorova O.V. Endogenous Cardiostimulant Steroids: Physiology, Pharmacology, and Novel Therapeutic Targets // Pharmacol. Rev. 2009. Vol. 61. N 1. P. 9-38.
6. Blaustein M. P. Physiological effects of endogenous ouabain: control of intracellular Ca<sup>2+</sup> stores and cell responsiveness // Am. J. Physiol. 1993. Vol. 264. N 6 (Pt 1). P. C1367-C1387.
7. Bernjak A., Deitrick G.A., Bauman W.A. et al. Basal sympathetic activity to the microcirculation in tetraplegic man revealed by wavelet transform of laser Doppler flowmetry // Microvasc. Res. 2011. Vol. 81. N 3. P. 313-318. doi: 10.1016/j.mvr.2011.01.005.
8. Bračić M. A., Stefanovska A. Wavelet based analysis of human blood flow dynamics // Bull. Math. Biol. 1998. Vol. 60. N 5. P. 919-935.
9. Collins A.J., Foley R.N., Chavers B. et al., United States Renal Data System 2011 Annual Data Report: Atlas of chronic kidney disease & end-stage renal disease in the United States // Am. J. Kidney Dis. 2012. Vol. 59. N 1 (Suppl 1). P. e1-e420.
10. Davis M.J., Hill M.A. Signaling mechanisms underlying the vascular myogenic response // Physiol. Rev. 1999. Vol. 79. N. 2. P. 387-423.
11. Fedorova O.V., Lakatta E.G., Bagrov A.Y. Endogenous Na,K pump ligands are differentially regulated during acute NaCl loading of Dahl rats // Circulation. 2000. Vol. 102. N 24. P. 3009-3014.
12. Fisher J.P., Paton J.F. The sympathetic nervous system and blood pressure in humans: implications for hypertension // J. Hum. Hypertens. 2012. Vol. 26. N. 8. P. 463-475. doi: 10.1038/jhh.2011.66.
13. Gargiulo R., Suhail F., Lerma E.V. Hypertension and chronic kidney disease // Dis. Mon. 2015. Vol. 61. N 9. P387-395. doi: 10.1016/j.disamonth.2015.07.00.
14. Goligorsky M.S. Pathogenesis of endothelial cell dysfunction in chronic kidney disease: a retrospective and what the future may hold // Kidney Res. Clin. Pract. 2015. Vol. 34. N 2. P. 76-82. doi: 10.1016/j.krcp.2015.05.003.

## ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

15. Haas M., Askari A., Xie Z. Involvement of Src and epidermal growth factor receptor in the signal-transducing function of Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase// *J. Biol. Chem.* 2000. Vol. 275. N 36. P. 27832-27837.
16. Hauck C., Frishman W.H. Systemic hypertension: the roles of salt, vascular Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPase and the endogenous glycosides, ouabain and marinobufagenin// *Cardiol. Rev.* 2012. Vol. 20. N 3. P. 130-138. doi: 10.1097/CRD.0b013e31823c835c.
17. Holowatz L.A., Thompson-Torgerson C.S., Kenney W.L. The human cutaneous circulation as a model of generalized microvascular function// *J. Appl. Physiol.* 2008. Vol. 105. N 1. P. 370-372. doi: 10.1152/japplphysiol.00858.2007.
18. Judd E., Calhoun D.A. Management of hypertension in CKD: beyond the guidelines// *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2015. Vol. 22. N 2. P. 116-122. doi: 10.1053/j.ackd.2014.12.001.
19. Kennedy D.J., Vetteth S., Periyasamy S.M. et al. Central role for the cardiotonic steroid marinobufagenin in the pathogenesis of experimental uremic cardiomyopathy// *Hypertension.* 2006. Vol. 47. N 3. P. 488-495. doi: 10.1161/01.HYP.0000202594.82271.92.
20. Kolmakova E.V., Haller S.T., Kennedy D.J. et al. Endogenous cardiotonic steroids in chronic renal failure// *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011. Vol. 26. N 9. P. 2912-2919. doi: 10.1093/ndt/gfq772.
21. Kometiani P., Li J., Gnudi L. et al. Multiple signal transduction pathways link Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>-ATPase to growth-related genes in cardiac myocytes: the roles of Ras and mitogen-activated protein kinases// *J. Biol. Chem.* 1998. Vol. 273. N 24. P. 15249-15256.
22. Levey A., Beto J., Coronado B. et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know, what do we need to learn, where do we go from here?// *Am. J. Kidney Dis.* 1998. Vol. 32. N 5. P. 853-906.
23. Liu M., Ren Y., Guo C. Effect of ouabain on the pathogenesis of hypertension in rats// *Chin. Med. J.* 2014. Vol. 127. N 10. P. 1931-1934.
24. Rajendran P., Rengarajan T., Thangavel J. et al. The vascular endothelium and human diseases// *Int. J. Biol. Sci.* 2013. Vol. 9. N 9(10). P. 1057-1069. doi: 10.7150/ijbs.7502.
25. Said S., Hernandez G.T. The link between chronic kidney disease and cardiovascular disease// *J. Nephropathol.* 2014. Vol. 3. N 3. P. 99-104. doi: 10.12860/jnp.2014.
26. Yannoutsos A., Levy B.I., Safar M.E. et al. Pathophysiology of hypertension: interactions between macro and microvascular alterations through endothelial dysfunction// *J. Hypertens.* 2014. Vol. 32. N 2. P. 216-224. doi: 10.1097/HJH.0000000000000021.