
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ БРЫЖЕЕЧНЫХ АРТЕРИЙ И СОСУДОВ
МИКРОЦИРКУЛЯТОРНОГО РУСЛА КОЖИ КРЫС
С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ДИСФУНКЦИЕЙ ПОЧЕК**

© 2023 г. Г. Т. Иванова¹ *, О. Н. Береснева²

¹*Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия*

²*Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет
им. акад. И.П. Павлова, Санкт-Петербург, Россия*

*E-mail: ivanovagt@infran.ru

Поступила в редакцию 11.06.2023 г.

После доработки 25.07.2023 г.

Принята к публикации 27.07.2023 г.

У людей с хронической болезнью почек часто развиваются сердечно-сосудистые осложнения, среди которых отмечаются эндотелиальная дисфункция, артериальная гипертензия и атеросклероз. Целью данной работы было провести сравнительный анализ реактивности сосудов микроциркуляторного русла (МЦР) кожи, оцененной методом лазерной доплеровской флоуметрии и брыжеечных артерий у крыс с резекцией 5/6 массы почек. Крысы Wistar были разделены на две группы: животным NE-группы ($n = 15$) удаляли 5/6 массы ткани почек, контрольным животным SO-группы ($n = 15$) выполняли ложную операцию. Через 8 нед. проводили оценку реактивности микрососудов кожи крыс на ионофорез ацетилхолина (ACh) и нитропруссиды натрия (NP). Через неделю у крыс в условиях *in vivo* оценивали влияние нефрэктомии на реактивность предварительно сокращенных фенилэфрином брыжеечных артерий при действии агонистов, используя микрофото- и видеорегистрацию диаметра. Показано, что нефрэктомия не влияет на среднюю величину перфузии в коже крыс в покое, однако изменяет структуру частотного диапазона спектра колебаний показателя МЦР, повышая величину эндотелиального, нейрогенного и миогенного тонуса. NE приводит к развитию эндотелиальной дисфункции брыжеечных артерий и сосудов МЦР кожи, которая выражается в снижении реактивности на действие эндотелий-зависимого (ACh) и независимого от эндотелия (NP) вазодилаторов. Таким образом, развитие экспериментальной дисфункции почек приводит к изменениям спектральных составляющих флуктуаций показателя МЦР в коже, указывающим на повышение тонических влияний различного генеза на сосуды. Нефрэктомия сопровождается снижением реактивности микрососудов кожи и брыжеечных артерий, однако корреляции между увеличением показателя МЦР и амплитудой релаксации брыжеечных артерий при действии вазодилаторных агонистов на данном сроке наблюдения отсутствуют.

Ключевые слова: хроническая болезнь почек, лазерная Допплеровская флоуметрия, вазодилатация, эндотелий, брыжеечная артерия, микроциркуляция

DOI: 10.31857/S0869813923090042, EDN: VPWAXK

ВВЕДЕНИЕ

У людей с хронической болезнью почек (ХБП) высока вероятность развития сердечно-сосудистых заболеваний. Дисфункция почек может приводить к разви-

тию патологических изменений сердца, в частности к усилению гипертрофии левого желудочка, диастолической дисфункции, миокардиальному фиброзу [1]. Установлено, что у людей с нарушением почечной функции риск развития ишемической болезни сердца (ИБС) на 40–50% выше, чем у пациентов с отсутствием заболеваний почек [2]. Общепринятые факторы риска атеросклероза, такие как гиперхолестеринемия, артериальная гипертензия, сахарный диабет, гипергомоцистеинемия, считают причиной формирования дисфункции эндотелия при патологии почек [3, 4]. Атеросклероз и его проявления в коронарных артериях являются ключевым связующим звеном между ХБП и сердечно-сосудистой заболеваемостью и смертностью, однако патофизиологические механизмы изменений функционального состояния сосудов, связанных с ХБП, до конца не изучены. ХБП способствует развитию атеросклероза и ИБС, индуцируя повреждение эндотелиальных клеток [5], а также запускает хронические сосудистые воспалительные процессы, что отражается увеличением маркеров воспаления в крови пациентов [6–8]. Было показано, что повышенные уровни воспалительных биомаркеров, таких как С-реактивный белок, интерлейкин-6 или фактор некроза опухоли, связаны с высоким риском инфаркта миокарда у пациентов со снижением функции почек [9, 10].

Эндотелий участвует в регуляции тонуса кровеносных сосудов посредством выработки биологически активных веществ, которые по своему действию делятся на вазодилататоры и вазоконстрикторы. Чтобы контролировать сосудистый тонус, эндотелий синтезирует и высвобождает сосудорасширяющий оксид азота (NO) из аминокислоты L-аргинин. Кроме того, NO играет важную роль в регуляции проницаемости сосудов, адгезии лейкоцитов и пролиферации гладкомышечных клеток [11, 12]. Показано, что при ХБП эндотелиальная дисфункция развивается в ранние сроки и характеризуется снижением биодоступности NO [13, 14], обусловленным, в частности, снижением синтеза NO вследствие инактивации эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) и дефицита L-аргинина [15].

Важными медиаторами эндотелиальной дисфункции при ХБП являются уремические токсины, такие как асимметричный диметиларгинин (ADMA) и индоксилсульфат, накапливающиеся у пациентов при снижении функции почек. Эндотелиальные клетки являются источником ADMA, и его образование повышается в присутствии высоких концентраций метионина или гомоцистеина [16]. ADMA нарушает функцию эндотелия путем конкурентного ингибирования eNOS и тесно связан с наличием ИБС при ХБП [17]. Повышенные уровни ADMA у больных ХБП могут модулировать их атерогенный профиль и способствовать прогрессированию заболевания почек [16, 18]. Имеющиеся в настоящее время данные позволяют полагать, что роль уремических токсинов может также распространяться на участие в сложных взаимоотношениях сердца и почек в качестве медиатора эндотелиальной дисфункции. Таким образом, причинами эндотелиальной дисфункции у больных ХБП могут являться: накопление уремических токсинов, оксидативный стресс, дислипидемия, ингибирование eNOS повышенной продукцией асимметричного диметиларгинина, артериальная гипертензия [19, 20].

Таким образом, несмотря на то, что в последние годы были выявлены различные потенциальные патофизиологические механизмы эндотелиальной дисфункции при ХБП, многие детали остаются неизвестными. Дальнейшее изучение молекулярных механизмов, участвующих в этом сложном процессе, имеет решающее значение для разработки новых терапевтических подходов.

В клинической практике для оценки состояния сосудов часто используют метод лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) [21, 22], позволяющий регистрировать изменения потока крови в микроциркуляторном русле [23]. Применяют метод ЛДФ и в экспериментальных исследованиях [24]. По состоянию микроциркуляторного русла (МЦР) делают заключение о развитии нарушений регуляции тонуса

сосудов [25, 26]. Принято считать, что сосуды МЦР кожи по своим механизмам функционирования сходны с сосудами большего диаметра, и по изменению параметров ЛДФ можно судить о степени эндотелиальной дисфункции в крупных резистивных сосудах [27–29]. При этом наиболее информативными являются исследования динамики ЛДФ-параметров кожного кровотока у человека при проведении функциональных проб, например, постокклюзионной реактивной гиперемии. В нашем исследовании мы оценивали параметры МЦР кожи до и после проведения ионофореза вазодилатирующих агентов - ацетилхолина (ACh) и нитропрусида (NP).

Необходимо отметить, что в настоящее время имеются единичные данные об изменении реактивности МЦР кожи у пациентов с дисфункцией почек [30]. При асимптомной протеинурии было выявлено снижение вазодилататорной реакции на ACh, введенный в кожу ионофорезом. Умеренно увеличенное содержание С-реактивного белка коррелировало с эндотелиальной дисфункцией сосудов кожи [31]. Учитывая универсальность механизмов регуляции тонуса сосудов, можно предположить, что изменения функционального состояния сосудов МЦР может быть сходным с сосудами других бассейнов.

Однако вопрос о том, насколько по изменению реактивности сосудов МЦР кожи можно судить об изменении функционального состояния более крупных сосудов, требует дальнейшего решения [28]. В частности, это относится и к оценке сердечно-сосудистых осложнений у больных с нарушением функции почек. Существенный вклад в решение данной проблемы может внести оценка функционального состояния крупных сосудов и сосудов МЦР кожи у одного и того же животного при экспериментальном моделировании ХБП. Известно, что регуляция сосудистого тонуса осуществляется несколькими механизмами, эффективность которых различается в зависимости от диаметра и типа сосуда. Наши предыдущие исследования (*in vitro*) на изолированных сегментах крупных сосудов крыс с экспериментальным уменьшением количества функционирующих нефронов показали развитие эндотелиальной дисфункции, проявляющейся, в частности, в снижении ACh-индуцируемой дилатации колец аорты и верхней брыжеечной артерии [32]. В данном исследовании основное внимание уделено оценке реактивности более мелких брыжеечных артерий 2–3 порядка, регуляторные механизмы которых обладают большей схожестью с сосудами МЦР кожи. Кроме того, был выбран режим *in vivo*, при котором сохраняется естественный кровоток по исследуемому сосуду.

Таким образом, целью данной работы было провести сравнительный анализ реактивности сосудов МЦР кожи, исследованной с помощью ЛДФ, и брыжеечных артерий в условиях *in vivo* у крыс с резекцией 5/6 массы почек.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на половозрелых самцах крыс стока Wistar (Центр коллективного пользования “Биоколлекция” Института физиологии им. И.П. Павлова РАН), исходной массой 280–320 г. Крысы были случайным образом распределены на 2 группы.

Для создания экспериментальной дисфункции почек животным первой группы ($n = 15$) удаляли 5/6 массы ткани почек (5/6 NE). Операцию выполняли в два этапа с интервалом в одну неделю. На первом этапе осуществляли резекцию 2/3 части левой почки, на втором – полностью удаляли правую почку. Вторую (контрольную) группу составляли ложнооперированные (SO) крысы ($n = 15$). Во время проведения ложной операции выполняли хирургические манипуляции, аналогичные нефрэктомии, но без удаления почечной ткани. В качестве наркоза использовали тилетамин/золазепам (10 мг/кг, Золетил 100, Virbac Sante Animale, Франция) в комплексе с ксилазин гидрохлоридом (5 мг/кг, Рометар, Bioveta, Чешская республика).

Длительность наблюдения составила 2 месяца после второго этапа операции. Во время эксперимента все животные получали стандартный пищевой рацион и имели доступ к пище и воде *ad libitum*. Крыс содержали по 5 особей в клетке при температуре 20–22°C и световом режиме 12 ч свет/12 ч темнота.

Перед началом и окончанием эксперимента у бодрствующих животных измеряли артериальное давление (АД) манжеточным методом на хвосте, используя электроманометр фирмы (ELEMA, Швеция). Среднее трех последовательных измерений считали величиной АД. Исходное АД (систолическое) у крыс NE-группы составляло 122 ± 5 мм рт. ст., SO-группы — 120 ± 6 мм рт. ст. ($p > 0.05$).

Эвтаназию животных осуществляли сразу после исследования реактивности брыжеечных артерий введением избыточной дозы наркоза, после этого отбирали пробу крови для последующего анализа. Концентрацию мочевины в сыворотке крови определяли на биохимическом анализаторе FURUNO-90 (Япония).

За неделю до окончания эксперимента проводили оценку кожной МЦР методом ЛДФ с помощью анализатора лазерной микроциркуляции крови “ЛАКК-ОП” (НПП “Лазма”, Россия). Длина волны исходящего излучения была 1064 нм, мощность лазерного излучения на выходе волоконного оптического зонда — не более 1 мВт. Калибровку “нулевого” показания проводили на специальном диске из фторопласта, встроенном в прибор.

Для исследования МЦР крыс наркотизировали тилетамин/золазепамом (20 мг/кг, Золетил 100, Virbac Sante Animale, Франция). Анализатор размещали на дорзо-латеральной поверхности поясничной части спины крысы, с которой предварительно удаляли шерсть и дезинфицировали. Датчик располагался свободно на поверхности кожи, не сдавливая микрососуды. При записи исходной ЛДФ место расположения датчика фиксировали, чтобы стандартизировать место записи после ионофореза вазоактивных агентов.

В физиологических условиях происходят постоянные изменения радиуса кровеносных сосудов, что вызывает непрерывное колебание интенсивности общей МЦР кожи, которое отражается в соответствующих флуктуациях регистрируемого сигнала. Вейвлет-анализ позволяет оценить характеристики периодических составляющих этих колебаний в различных диапазонах. В зависимости от генеза, для крыс принято выделять 5 диапазонов спектра: 0.01–0.05 Гц — эндотелиальный, 0.15–0.4 Гц — миогенный, 0.05–0.15 Гц — нейрогенный, 2–5 Гц — сердечный и 0.4–2.0 Гц — дыхательный [33]. В наших экспериментах мы оценивали только эндотелиальный, нейрогенный и миогенный диапазоны.

Для оценки функционального состояния сосудов МЦР кожи часто используют тестовые воздействия (ионофорез вазоактивных препаратов, микродиализ) [26]. В нашем исследовании для изучения реактивности сосудов кожи были выбраны обладающие сосудорасширяющим действием ACh (Sigma-Aldrich, США) и NR (ICN Biomedicals, США), которые в течение 2 мин вводили в кожу методом ионофореза 1%-ного раствора соответствующего вазодилататора с помощью прибора для ионофореза “ЭЛФОР-ПРОФ” (Россия). Оценивали изменение показателей МЦР кожи до и после действия ACh и NR.

Исследование показателей МЦР у каждой крысы выполняли в четыре этапа, ЛДФ записывали в течение 8 мин на каждом этапе. Сначала регистрировали исходную МЦР, затем проводили ионофорез ACh на этом же участке кожи, после чего снова записывали МЦР. Аналогичный протокол использовали для исследования реакции МЦР на NR. Зоны оценки МЦР и ионофореза для каждого агониста не перекрывались.

По результатам ЛДФ оценивали следующие показатели. Показатель МЦР — среднее значение амплитуды МЦР за период наблюдения, K_v — коэффициент вариации амплитуды МЦР, максимальные значения колебаний перфузии в эндоте-

лиальном (Аэ), нейрогенном (Ан) и миогенном (Ам) диапазонах. На основе полученных характеристик проводили расчет эндотелиального (ЭТ) компонента сосудистого тонуса по формуле:

$$\text{ЭТ} = (\sigma P) / (A \text{Э} M),$$

где ЭТ — эндотелиальный тонус, σ — среднее квадратическое отклонение показателя МЦР, P — среднее артериальное давление, Аэ — наибольшее значение амплитуды колебаний перфузии в эндотелиальном диапазоне, М — среднее значение показателя МЦР.

Нейрогенный (НТ) и миогенный (МТ) тонус рассчитывали аналогично, заменяя в формуле Аэ на соответствующие тонусу Ан или Ам.

Через неделю после ЛДФ исследовали реактивность брыжеечных артерий, оценивая динамику диаметра сосудов в ответ на действие вазодилататорных агентов в условиях *in vivo*. Для этого животных наркотизировали тилетамин/золазепамом (20 мг/кг массы крысы, Золетил 100, Vibac, Франция). Через разрез стенки брюшной полости выводили петлю тонкого кишечника, расправляли и помещали в специальный желоб, который фиксировали в термостабилизированной при температуре 37°C камере с протекающим раствором следующего состава (ммоль/л): NaCl — 120.4; KCl — 5.9; CaCl₂ — 2.5; MgCl₂ — 1.2; NaH₂PO₄ — 1.2; NaHCO₃ — 15.5; глюкоза — 11.5. Раствор сатурировали газовой смесью, состоящей из 95% O₂ и 5% CO₂, pH раствора поддерживали на уровне 7.4. Перед тестированием сосуд 30 мин стабилизировали. Затем проводили исследования согласно выбранному протоколу.

Для оценки эндотелийзависимой и эндотелийнезависимой вазодилатации использовали введение в омывающий сосуд раствор ACh 1×10^{-5} моль/л или NP 1×10^{-6} моль/л на фоне предварительного сокращения сосуда PE (Sigma-Aldrich, США) 1×10^{-5} моль/л. Амплитуду дилатации выражали в процентах от амплитуды констрикции, вызванной PE. Маточные растворы ACh, NP, PE готовили на основе дистиллированной воды.

Микрофото- и видеорегистрацию брыжеечных артерий у крыс *in vivo* осуществляли с использованием микроскопа Биомед MC-1T-ZOOM (Россия) и камеры BASLER acA4600-10uc (Германия), измерение диаметра артерий выполняли в программе MultiMedia Catalog (MMC).

Статистическую обработку полученных данных проводили в программе Statistica v.12. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка среднего ($M \pm SE$). Для сравнения двух выборок с нормальным распределением использовали однофакторный дисперсионный анализ (ANOVA). В случае распределения вариант в выборке, отличном от нормального, при сравнении двух независимых групп применяли U -критерий Манна–Уитни. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведенные исследования показали, что через 2 мес. у нефрэктомированных крыс уровень мочевины крови повышался и составлял 14.2 ± 0.9 ммоль/л по сравнению с контролем (4.9 ± 0.6 ммоль/л, $p < 0.001$). У животных с уменьшением количества функционирующих нефронов наблюдался также подъем уровня систолического АД (в NE-группе — 152 ± 9 мм рт. ст.; в контрольной группе — 127 ± 8 мм рт. ст., $p < 0.001$).

На первом этапе исследования была проведена оценка реактивности сосудов МЦР кожи крыс. Анализ исходных ЛДФ-грамм показал, что среднее значение показателя МЦР у крыс после нефрэктомии значимо не отличалось от показателя у

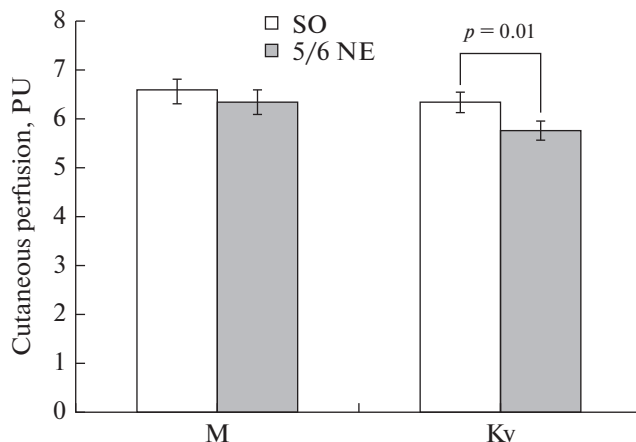


Рис. 1. Влияние нефрэктомии на микроциркуляцию кожи крыс. По оси абсцисс — характеристики микроциркуляции: М — среднее значение показателя микроциркуляции, Kv — коэффициент вариации амплитуды МЦР; по оси ординат — показатель микроциркуляции, PU — перфузионные единицы. Экспериментальные группы: SO — ложнооперированные крысы, 5/6 NE — крысы после удаления 5/6 массы действующих нефронов. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка. p — значимость различий между группами.

контрольных животных (рис. 1), можно лишь отметить некоторую тенденцию к его снижению, однако Kv был на 9.4% ниже, чем в контрольной группе.

С помощью Вейвлет-анализа спектральных составляющих колебаний показателя МРЦ выявлено, что уменьшение количества функционирующих нефронов приводит к снижению осцилляций перфузии во всех трех исследованных диапазонах: максимальная амплитуда колебаний показателя МЦР снижалась на 26.7% — в эндотелиальном, на 26.4% — в нейрогенном и на 29.4% — в миогенном диапазонах спектра (рис. 2a). Рассчитанные показатели ЭТ, НТ и МТ сосудов кожи крыс, подвергнутых NE, отличались от животных SO-группы (рис. 2b). Величина ЭТ у крыс после удаления 5/6 массы ткани почек была выше аналогичного показателя контрольных животных на 53.1%, НТ — на 43.8%, МТ — на 25.5%.

Для оценки реактивности сосудов МЦР кожи крыс проводили регистрацию ЛДФ-граммы после ионофореза ACh. Эксперименты показали, что показатель перфузии после введения ACh у NE-крыс оказался в среднем на 18.1% ниже, чем в контрольной группе (рис. 3a), при этом его увеличение у животных после нефрэктомии составляло $37.7 \pm 4.4\%$ от исходного показателя МЦР, а у контрольных — $58.9 \pm 4.2\%$ ($p < 0.001$). Кроме того, у NE-крыс ионофорез ACh вызвал снижение Kv на $18.7 \pm 7.7\%$ по сравнению с исходным значением, тогда как у SO-животных Kv увеличился на $49.3 \pm 7.4\%$ по сравнению с величиной до ионофореза.

Проведение ионофореза NP также вызывало увеличение показателя МЦР кожи. Однако реактивность на NP различалась у крыс исследованных групп (рис. 3b). Так, величина показателя МЦР при действии NP у животных после нефрэктомии оказалась на 8.4% меньше, чем у SO-животных ($p < 0.05$), при этом NP у NE-крыс вызвал увеличение показателя микроциркуляции на $47.4 \pm 4.7\%$ от исходного уровня, а у животных SO-группы — на $62.7 \pm 3.2\%$ — ($p < 0.01$). Изменение Kv после ионофореза NP было аналогичным у крыс обеих групп, Kv снижался на $19.3 \pm 3.4\%$ у животных NE-группы, на $23.1 \pm 8.9\%$ у SO-крыс.

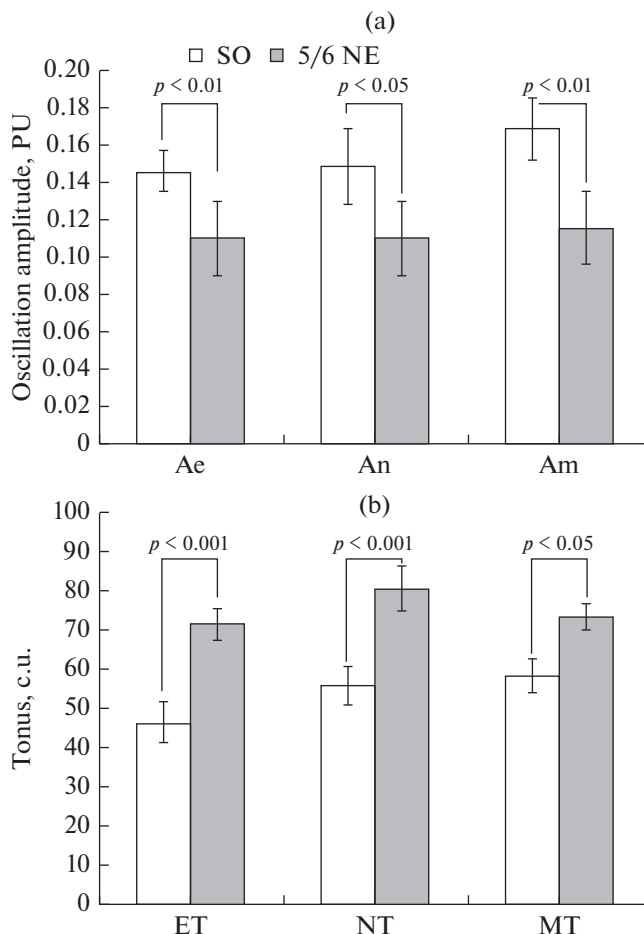


Рис. 2. Влияние нефрэктомии на эндотелиальный, нейрогенный и миогенный компоненты тонуса сосудов микроциркуляторного русла кожи крыс. (а): по оси абсцисс — диапазон колебаний (Ae — эндотелиальная, An — нейрогенная, Am — миогенная частотная составляющая спектра), по оси ординат — максимальная амплитуда колебаний показателя микроциркуляции, PU — перфузионные единицы. (б): по оси абсцисс — диапазон ET (эндотелиального), NT (нейрогенного) и MT (миогенного) тонуса; по оси ординат — величина тонуса, усл. ед. Экспериментальные группы: SO — ложнооперированные крысы, 5/6 NE — крысы после удаления 5/6 массы действующих нефронов. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка. p — значимость различий между группами.

На втором этапе исследования (через 5–6 дней после ЛДФ) изучали влияние NE на величину дилатации предварительно сокращенных PE брыжеечных артерий крыс при действии тех же сосудорасширяющих агонистов — ACh и NP, что и при регистрации показателя перфузии МЦР кожи. Однако сначала оценивали констрикторные ответы на PE у животных разных групп, поскольку для стандартизации измерений амплитуду релаксации принято выражать в процентах от величины сокращения сосуда при действии PE. Анализ полученных результатов показал, что на данном сроке эксперимента NE не оказывала влияния на величину вызванной PE констрикции брыжеечных артерий крыс: у животных с NE амплитуда кон-

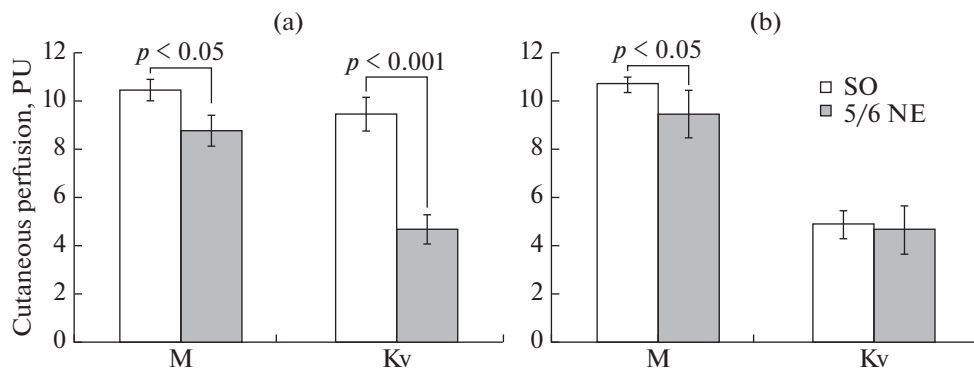


Рис. 3. Влияние нефрэктомии на реактивность сосудов микроциркуляторного русла кожи крыс. Среднее значение показателя микроциркуляции (М) и коэффициент вариации (Kv) амплитуды МЦР после ионофореза ацетилхолина (а) и нитропруссид натрия (б). По оси ординат — показатель микроциркуляции, PU — перфузионные единицы. Экспериментальные группы: SO — ложнооперированные крысы, 5/6 NE — крысы после удаления 5/6 массы действующих нефронов. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка. p — значимость различий между группами.

стрикции составляла $63.1 \pm 5.4\%$, у животных SO-группы — $63.9 \pm 4.8\%$ ($p > 0.05$) от исходного диаметра сосудов.

Действие ACh в концентрации 1×10^{-5} моль/л на предварительно сокращенные PE сосуды вызывало их релаксацию, величина которой различалась у крыс исследуемых групп (рис. 4). Нефрэктомия приводила к снижению реактивности сосудов — амплитуда ACh-индуцированной дилатации брыжеечных артерий крыс данной группы была в среднем на 32.5% меньше, чем в контроле.

Для оценки реактивности брыжеечных артерий на различные концентрации ACh было проведено исследование кумулятивного эффекта ступенчатого повышения концентрации в пределах 1×10^{-10} моль/л— 1×10^{-5} моль/л. Результаты показали, что NE приводит к значительному снижению дилататорной реакции на ACh по сравнению с SO-группой: уже при концентрации 1×10^{-8} моль/л релаксация была значимо ниже, а при повышении концентрации ACh эта разница усиливалась (рис. 5a).

Подсчет площади под кривой для ACh показал, что общая реактивность брыжеечных артерий у животных с дисфункцией почек была в среднем в 2 раза меньше, чем у контрольных крыс (рис. 5b).

Нефрэктомия также вызывала ослабление дилатации брыжеечных артерий в ответ на действие NP (рис. 4b). Введение NP в омывающий раствор приводило к вазодилатации, при этом амплитуда релаксации артерий крыс после нефрэктомии была в среднем на 42.2% меньше, чем у SO животных.

Сравнение двух характеристик реактивности сосудов: амплитуды AX-индуцированной дилатации брыжеечной артерии и степени увеличения показателя перфузии кожи после ионофореза AX, полученных для каждой крысы, не выявило значимых корреляционных зависимостей ($r = -0.38$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенные исследования показали, что через 2 мес. после удаления 5/6 массы почек у крыс развивалась уремия, сопровождающаяся изменениями сосудистой

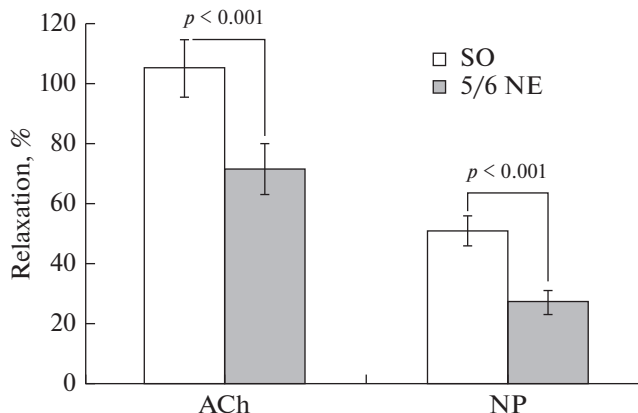


Рис. 4. Влияние нефрэктомии на реактивность брыжеечных артерий крыс. Амплитуда дилатации предварительно сокращенных фенилэфрином (1×10^{-6} моль/л) брыжеечных артерий при введении в омывающий раствор: ацетилхолина (ACh, 1×10^{-5} моль/л) и нитропруссид натрия (NP, 1×10^{-6} моль/л). По оси ординат — амплитуда релаксации, выраженная в процентах от амплитуды констрикции сосуда при действии фенилэфрина. Экспериментальные группы: SO — ложнооперированные крысы, 5/6 NE — крысы после удаления 5/6 массы действующих нефронов. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка. p — значимость различий между группами.

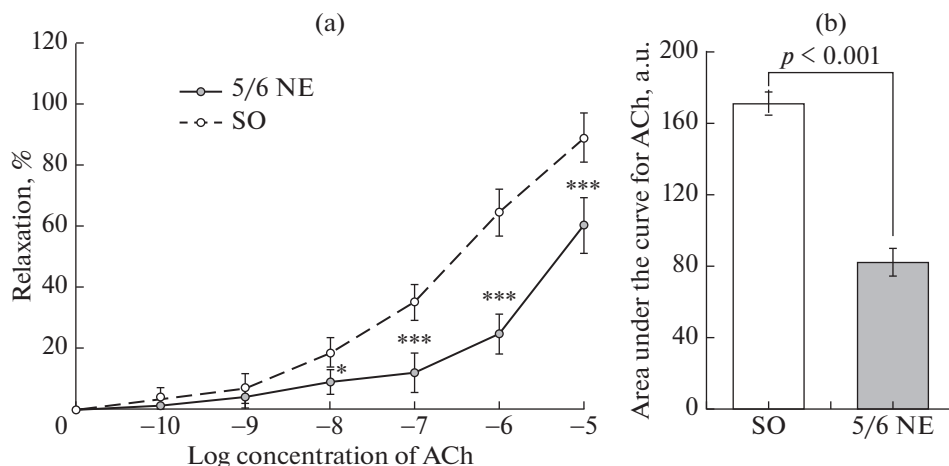


Рис. 5. Влияние нефрэктомии на АХ-индуцированную реактивность брыжеечных артерий крыс, кумулятивный эффект. (а): амплитуда дилатации предварительно сокращенных фенилэфрином (1×10^{-6} моль/л) брыжеечных артерий при введении в омывающий раствор ацетилхолина в ступенчато повышающейся концентрации (ACh от 1×10^{-10} до 1×10^{-5} моль/л). По оси ординат — амплитуда релаксации, выраженная в процентах от амплитуды констрикции сосуда при действии фенилэфрина. (б): площадь под кривой доза-эффект для ацетилхолина. По оси ординат — площадь под кривой зависимой от концентрации ацетилхолина амплитуды дилатации, усл. ед. Экспериментальные группы: SO — ложнооперированные крысы, 5/6 NE — крысы после удаления 5/6 массы действующих нефронов. Данные представлены в виде среднего значения $\pm$ стандартная ошибка. Значимость различий между группами: * — $p < 0.05$, *** — $p < 0.001$.

системы, в частности, подъемом уровня АД, нарушением функционального состояния микрососудов кожи и брыжеечных артерий. Развитие артериальной гипертензии является частым осложнением ХБП у людей [34]. Наши исследования также показали подъем АД у крыс после NE. Однако, несмотря на разницу в уровне АД, средние показатели перфузии в коже между NE- и SO-группами не отличались, то есть микрососуды кожи крыс с экспериментальным уменьшением количества функционирующих нефронов на данном сроке наблюдения поддерживали нормальный уровень перфузии. При этом нефрэктомия приводила к снижению эффективности регуляторных влияний на сосуды МЦР кожи, о чем свидетельствует, в частности, статистически значимое уменьшение коэффициента вариации показателя перфузии (Kv).

Следует отметить, что кроме показателей M и Kv, характеризующих общее состояние микроциркуляции, интерес представляет оценка отдельных механизмов регуляции перфузии. Такую возможность дает вейвлет-анализ ЛДФ-граммы, который позволяет рассмотреть параметры различных компонентов спектра, отражающих генез соответствующих флуктуаций показателя МЦР [35]. Результаты наших исследований показали, что у крыс с дисфункцией почек происходит подавление колебаний микроциркуляции в трех диапазонах: эндотелиальном, нейрогенном и миогенном. Поскольку существует обратная зависимость между амплитудой колебаний показателя микроциркуляции и величиной тонуса в каждом спектральном диапазоне, то, соответственно, после нефрэктомии наблюдалось увеличение расчетной величины ЭТ, НТ и МТ.

Принято считать, что флуктуации показателя МЦР в эндотелиальном диапазоне отражают в основном состояние артерий и артериол [36] и связаны с влиянием на тонус сосудов продуцируемых эндотелием вазоактивных веществ, в основном NO [37]. Вероятно, отмеченное в данном исследовании уменьшение амплитуды колебаний показателя перфузии в эндотелиальном диапазоне указывает на нарушение NO-зависимой регуляции тонуса микрососудов кожи крыс, подвергнутых нефрэктомии.

Величина НТ во многом определяется симпатическими влияниями на сосуды МЦР [38]. В настоящее время также имеются экспериментальные данные, свидетельствующие о том, что при нарушениях функции почек определенный вклад в повышение уровня АД может вносить симпатикотония [39]. В связи с этим можно предположить, что рост НТ отражает повышение симпатических регуляторных влияний на микрососуды кожи крыс после нефрэктомии.

Механизм формирования миогенных колебаний показателя перфузии связывают с синусоидальными колебаниями просвета артериол вследствие флуктуации потоков Ca^{2+} через мембраны гладкомышечных клеток (ГМК), опосредованной функционированием локальных пейсмеккеров [40]. Уменьшение максимальной амплитуды в миогенном частотном диапазоне а, следовательно, повышение МТ в покое у крыс с дисфункцией почек свидетельствует о исходно сниженной дилатации микрососудов кожи по сравнению с ложнооперированными животными.

Для оценки реактивности сосудов МЦР кожи крыс было выполнено исследование изменения показателей перфузии кожи после ионофореза ACh и NP. Проведение функциональных проб с вазоактивными агентами дает возможность оценить эффективность механизмов, модулирующих интенсивность кровотока [41]. Наши исследования показали сниженную реакцию на вазодилататорные агонисты у животных после нефрэктомии: величина перфузии в коже NE-крыс после ионофореза ACh увеличилась лишь на $37.7 \pm 8.2\%$, тогда как у SO — на $58.9 \pm 6.7\%$ ($p < 0.01$), после ионофореза NP — на $49.4 \pm 4.5\%$ по сравнению с $62.7 \pm 5.1\%$ — у SO ($p < 0.05$). Эти результаты свидетельствуют о нарушениях функционального состояния сосудов МЦР кожи крыс уже через 8 нед. после 5/6 NE и согласуются с клиническими

исследованиями, показавшими снижение реактивности сосудов МЦР кожи на ионофорез ACh и NP у людей с дисфункцией почек [42].

Уменьшение реактивности кожного кровотока крыс NE-группы на NP свидетельствует о снижении чувствительности ГМК к NO, что ухудшает возможность МЦР адекватно реагировать на изменение физиологических условий или действие вазодилататоров. И действительно, в данном исследовании отмечено подавление реакции кожных микрососудов на ACh после NE. Известно, что вазодилатация микрососудов кожи при действии ACh осуществляется теми же путями, которые существуют и в крупных сосудах, и опосредованы NO, простагландинами и эндотелиальной гиперполяризацией [43, 44]. Учитывая полученные в исследовании результаты об изменении интенсивности кожной микроциркуляции после действия NP, можно предположить, что одной из причин уменьшения реакции на ACh может быть снижение чувствительности ГМК к NO. Однако наши предыдущие эксперименты на сегментах верхней брыжеечной артерии *in vitro* показали менее выраженное снижение амплитуды ACh-индуцированной дилатации сосудов после инкубации с блокатором NO-синтазы L-NAME у животных с дисфункцией почек по сравнению с SO-группой [32]. Данные клинических исследований также демонстрируют, что инфузия L-NAME перед проведением функциональной пробы снижает NO-зависимую вазодилатацию у людей с ХБП [34]. Вероятно, в нашем исследовании подавление реакции кожных микрососудов на ACh также частично может быть обусловлено снижением продукции NO эндотелием. Учитывая наши предыдущие исследования *in vitro*, выявившие снижение эффективности механизма эндотелиальной гиперполяризации в верхней брыжеечной артерии у крыс после нефрэктомии [32], нельзя исключать возможность подавления данного механизма релаксации и для микрососудов кожи.

Таким образом, результаты исследования кожного кровотока методом ЛДФ показали, что уменьшение количества функционирующих нефронов на данном сроке наблюдения не вызывает изменения базового уровня перфузии в коже крыс, однако приводит к подавлению реактивности сосудов МЦР кожи на вазодилататорные воздействия.

У экспериментальных животных также была проведена оценка реактивности более крупных резистивных сосудов на вазодилататорные стимулы. Результаты показали, что, несмотря на рост АД, нефрэктомия не изменяла реактивность брыжеечных артерий к вазоконстрикторным стимулам: амплитуда вызванных РЕ сокращений сосудов крыс NE- и SO-групп не различались. В то же время у крыс с дисфункцией почек наблюдались изменения в реакциях брыжеечных артерий *in vivo* на вазодилататорные агонисты. Так, у животных, подвергнутых нефрэктомии, была значительно подавлена реакция артерий на действие NP и ACh. Учитывая, что NP-индуцированная дилатация не зависит от синтеза NO эндотелием, а концентрация введенного в ванночку с сосудом NP была одинаковой в обеих группах, то снижение реакции на NP сосудов крыс после нефрэктомии может быть связано с нарушением процессов внутриклеточной сигнализации в ГМК, отвечающей за дилататорное действие NO. Возможность влияния нефрэктомии на связанный с растворимой гуанилатциклазой (рГЦ) путь была показана в экспериментах *in vivo*, где авторы выявили инверсию ответа мелких пиальных артерий на ACh (с вазодилатации на вазоконстрикцию) у NE-крыс после блокады рГЦ метиленовым синим [45]. В нашем исследовании уменьшение почечной массы приводило к подавлению ACh-индуцированной дилатации брыжеечных артерий, при этом амплитуда релаксации при действии ACh в концентрации 10^{-5} моль/л у животных NE-группы была на 25.2% меньше, чем у SO-крыс.

Известно, что эндотелий-зависимая ACh-индуцированная вазодилатация опосредуется взаимодействием трех основных механизмов: связанных с NO, проста-

гландинами и эндотелиальным гиперполяризующим фактором [46]. Наши предыдущие исследования на сосудах в условиях *in vitro* показали, что снижение вызванной АХ релаксации верхней брыжеечной артерии происходило вследствие нарушения биодоступности NO (уменьшения синтеза NO-синтазой и снижения чувствительности ГМК к NO), а также меньшей эффективностью механизма эндотелиальной гиперполяризации [32]. Сходные изменения в реактивности сосудов в условиях *in vivo* и *in vitro* позволяют предположить, что нефрэктомия приводит к угнетению АСh-индуцированной вазодилатации брыжеечных артерий 2–3-го порядка вследствие повреждения как NO-зависимого механизма, так и механизма эндотелиальной гиперполяризации. Тонус более мелких сосудов МЦР кожи регулируется теми же механизмами, которые характерны для крупных артерий, но выраженность этих влияний может варьировать в зависимости от величины сосуда и его расположения. Вероятно, что различия в выраженности реакции на АСh между более крупными сосудами и микрососудами кожи определяются отличием в эффективности отдельных механизмов вазодилатации в ответ на действие агонистов. Следует подчеркнуть, что функциональное состояние сосудов МЦР крыс после нефрэктомии позволяет поддерживать нормальный уровень перфузии в коже в покое, однако при проведении функциональных и фармакологических проб признаки эндотелиальной дисфункции становятся очевидными.

Причина развития эндотелиальной дисфункции после нефрэктомии может быть связана с действием на эндотелий и ГМК образующихся при ХБП метаболитов, уремических токсинов, активных форм кислорода [34]. В частности, показано, что у пациентов с ХБП продукция эндотелием NO значительно снижается при повышении уровня АДМА [16, 18], а также гомоцистеина [47]. Кроме того, у людей с нарушением функции почек значительно усиливается окислительный стресс, приводящий к избыточному образованию активных форм кислорода и дефициту антиоксидантов [34], что считается одним из факторов риска развития нарушений сердечно-сосудистой системы.

К сожалению, нам не удалось подтвердить предположение о том, что реактивность сосудов МЦР в количественном отношении отражает функциональное состояние более крупных резистивных сосудов. Сравнение амплитуды АСh-индуцированной вазодилатации брыжеечных артерий и степени повышения показателя МЦР кожи после ионофореза NR или АСh не выявило значимой корреляционной зависимости. Причиной различной выраженности реакции на АСh крупных и мелких сосудов могут быть как индивидуальные особенности в строении сосудистого русла кожи и исходном диаметре взятых в исследование брыжеечных артерий, так и степени участия различных механизмов вазодилатации в сосудах разных типов. Так, показано, что в крупных артериях эндотелий-зависимая вазодилатация осуществляется в основном NO-зависимым путем, а при уменьшении диаметра сосудов возрастает роль механизма эндотелиальной гиперполяризации [48].

Таким образом, проведенные эксперименты показали, что удаление 5/6 массы ткани почек у крыс Wistar через 2 месяца приводит к уремии и росту АД. Уменьшение количества функционирующих нефронов на данном сроке эксперимента не оказывает влияния на среднюю величину фоновой перфузии в коже крыс, однако изменяет структуру частотного диапазона спектра колебаний показателя микроциркуляции, что отражает повышение эндотелиального, нейрогенного и миогенного тонуса сосудов МЦР кожи. Нефрэктомия приводит к развитию эндотелиальной дисфункции брыжеечных артерий и сосудов микроциркуляторного русла кожи, выражающейся в снижении их реактивности на действие эндотелий-зависимого и независимого от эндотелия вазодилататоров. Отсутствие прямой корреляции величины ацетилхолин-индуцированной вазодилатации между брыжеечной артерией и сосудами микроциркуляторного русла кожи можно объяснить индивидуальными раз-

личиями в исходном диаметре сосудов и архитектуре сосудистой сети, а, следовательно, в степени участия отдельных механизмов в вазодилатации сосудов разных типов.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все манипуляции с животными проводили в соответствии с принципами Базельской декларации при одобрении этической комиссии Института физиологии им. И.П. Павлова РАН (протокол № 06/03). Настоящая статья не содержит каких-либо исследований с участием людей в качестве объектов.

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при поддержке Госпрограммы 47 ГП “Научно-технологическое развитие Российской Федерации” (2019–2030), тема 0134-2019-0003.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией данной статьи.

ВКЛАД АВТОРОВ

И.Г.Т. — идея работы, планирование и проведение экспериментов, обработка данных, написание статьи; Б.О.Н. — идея работы, планирование и проведение экспериментов, написание статьи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Webster AC, Nagler EV, Morton RL, Masson P (2017) Chronic kidney disease. *Lancet* 389: 1238–1252. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(16\)32064-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(16)32064-5)
2. Di Angelantonio E, Danesh J, Eiriksdottir G, Gudnason V (2007) Renal function and risk of coronary heart disease in general populations: new prospective study and systematic review. *PLoS Med* 4: e270. <https://doi.org/10.1371/journal.pmed.0040270>
3. Tyralla K, Amann K (2003) Morphology of the heart and arteries in renal failure. *Kidney Int* 63(Suppl. 84): 80–85. <https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s84.1.x>
4. Düsing P, Zietzer A, Goody PR, Hosen MR, Kurts C, Nickenig G, Jansen F (2021) Vascular pathologies in chronic kidney disease: pathophysiological mechanisms and novel therapeutic approaches. *J Mol Med* 99(3): 335–348. <https://doi.org/10.1007/s00109-021-02037-7>
5. Seliger SL, Salimi S, Pierre V, Giffuni J, Katzel L, Parsa A (2016) Microvascular endothelial dysfunction is associated with albuminuria and CKD in older adults. *BMC Nephrol* 17: 82. <https://doi.org/10.1186/s12882-016-0303-x>
6. Tonelli M, Muntner P, Lloyd A, Manns BJ, Klarenbach S, Pannu N, James MT, Hemmelgarn BR (2012) Risk of coronary events in people with chronic kidney disease compared with those with diabetes: a population-level cohort study. *Lancet* 380: 807–814. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60572-8](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60572-8)
7. Jankowski J, Floege J, Fliser D, Böhm M, Marx N (2021) Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease: Pathophysiological Insights and Therapeutic Options. *Circulation* 143(11): 1157–1172. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.120.050686>
8. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JFE (2007) Chronic kidney disease: effects on the cardiovascular system. *Circulation* 116: 85–97. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.678342>
9. Zoccali C, Vanholder R, Massy ZA, Ortiz A, Sarafidis P, Dekker FW, Fliser D, Fouque D, Heine GH, Jager KJ, Kanbay M, Mallamaci F, Parati G, Rossignol P, Wiecek A, London G (2017) The systemic nature of CKD. *Nat Rev Nephrol* 13: 344–358. <https://doi.org/10.1038/nrneph.2017.52>
10. Batra G, Ghukasyan L, Lakic T, Lindbäck J, Held C, White HD, Stewart RAH, Koenig W, Cannon CP, Budaj A, Hagström E, Siegbahn A, Wallentin L (2021) STABILITY Investigators Interleukin 6 and

- Cardiovascular Outcomes in Patients With Chronic Kidney Disease and Chronic Coronary Syndrome. *JAMA Cardiol* 6(12): 1440–1445.
<https://doi.org/10.1001/jamacardio.2021.3079>
11. *Martens CR, Edwards DG* (2011) Peripheral vascular dysfunction in chronic kidney disease. *Cardiol Res Pract* 2011: 1–9.
<https://doi.org/10.4061/2011/267257>
 12. *Düsing P, Zietzer A, Goody PR, Hosen MR, Kurts C, Nickenig G, Jansen F* (2021) Vascular pathologies in chronic kidney disease: pathophysiological mechanisms and novel therapeutic approaches. *Int J Mol Sci* 22(17): 9221.
<https://doi.org/10.3390/ijms22179221>
 13. *Schmidt RJ, Baylis C* (2000) Total nitric oxide production is low in patients with chronic renal disease. *Kidney Int* 58: 1261–1266.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2000.00281.x>
 14. *Bencherit S, Green J, Katz D, Bernheim J, Rathaus M* (2003) Early endothelial dysfunction, following renal mass reduction in rats. *Eur J Clin Invest* 33(1): 26–31.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2003.01102>
 15. *Amador-Martínez I, Pérez-Villalva R, Uribe N, Cortés-González C, Bobadilla NA, Barrera-Chimal J* (2019) Reduced endothelial nitric oxide synthase activation contributes to cardiovascular injury during chronic kidney disease progression. *Am J Physiol Renal Physiol* 317: F275–F285.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00020.2019>
 16. *Fliser D, Kielstein JT, Haller H, Bode-Borger SM* (2003) Asymmetric dimethylarginine: A cardiovascular risk factor in renal disease? *Kidney Int* 63(Suppl.84): 37–43.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s84.11.x>
 17. *Mangiaccapra F, Conte M, Demartini C, Muller O, Delrue L, Dierickx K, di Sciascio G, Trimarco B, de Bruyne B, Wijns W, Bartunek J, Barbato E* (2016) Relationship of asymmetric dimethylarginine (ADMA) with extent and functional severity of coronary atherosclerosis. *Int J Cardiol* 220: 629–633.
<https://doi.org/10.1016/j.ijcard.2016.06.254>
 18. *Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G* (2003) Traditional and emerging cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *Kidney Int* 63(Suppl 85): 105–111.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s85.25.x>
 19. *Annuk M, Zilmer M, Fellstrom B* (2003) Endothelium-dependent vasodilatation and oxidative stress in chronic renal failure: Impact on cardiovascular disease. *Kidney Int* 63(suppl 84): 50–54.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.63.s84.2.x>
 20. *Zannad F, Rossignol P* (2018) Cardiorenal Syndrome Revisited *Circulation* 138(9): 929–944.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.117.028814>
 21. *Martens RJH, Stehouwer CDA* (2017) Assessing microvascular function in humans from a chronic disease perspective. *J Am Soc Nephrol* 28(12): 3461–3472.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2017020157>
 22. *Williams J, Gilchrist M, Strain D, Fraser D, Shore A* (2020) The systemic microcirculation in dialysis populations. *Microcirculation* 27(5): e12613.
<https://doi.org/10.1111/micc.12613>
 23. *Roustit M, Cracowski JL* (2012) Non-invasive assessment of skin microvascular function in humans: an insight into methods. *Microcirculation* 19: 47–64
<https://doi.org/10.1111/j.1549-8719.2011.00129.x>
 24. *Wei Y, Chen H, Chi Q, He Y, Mu L, Liu C, Lu Y* (2021) Synchronized research on endothelial dysfunction and microcirculation structure in dorsal skin of rats with type 2 diabetes mellitus. *Med Biol Eng Comput* 59(5): 1151–1166.
<https://doi.org/10.1007/s11517-021-02363-5>
 25. *Izerman RG, de Jongh RT, Beijik MA, vanWeissenbruch MM, Delemarre-van de Waal HA, Serne EH, Stehouwer CD* (2016) Individuals at increased coronary heart disease risk are characterized by an impaired microvascular function in skin. *Eur J Clin Invest* 33: 536–542.
<https://doi.org/10.1046/j.1365-2362.2003.01179.x>
 26. *Cracowski JL, Roustit M* (2016) Current methods to assess human cutaneous blood flow: an updated focus on laser-based-techniques. *Microcirculation* 23: 337–344.
<https://doi.org/10.1111/micc.12257>
 27. *Stewart J, Kohen A, Brouder D, Rahim F, Adler S, Garrick R, Goligorsky MS* (2004) Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H2687–H2696.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00287.2004>
 28. *Lindstedt IH, Edvinsson ML, Edvinsson L* (2006) Reduced responsiveness of cutaneous microcirculation in essential hypertension—a pilot study. *Blood Pressure* 15: 275–280.
<https://doi.org/10.1080/08037050600996586>
 29. *Wei Y, Chen H, Chi Q, He Y, Mu L, Liu C, Lu Y* (2021) Synchronized research on endothelial dysfunction and microcirculation structure in dorsal skin of rats with type 2 diabetes mellitus.

- Med Biol Eng Comput 59(5): 1151–1166.
<https://doi.org/10.1007/s11517-021-02363-5>
30. *Smogorzewski MJ* (2017) Skin Blood Flow and Vascular Endothelium Function in Uremia. *J Ren Nutr* 27(6): 465–469. PMID:
<https://doi.org/10.1053/j.jrn.2017.04.01229056167>
31. *Paisley KE, Beaman M, Tooke JE, Mohamed-Ali V, Lowe GD, Shore AC* (2003) Endothelial dysfunction and inflammation in asymptomatic proteinuria. *Kidney Int* 63(2): 624–633.
<https://doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00768.x12631127>
32. *Иванова ГТ, Лобов ГИ, Береснева ОН, Парастаева ММ* (2019) Изменение реактивности сосудов крыс с экспериментальным уменьшением массы функционирующих нефронов. *Нефрология* 23(4): 88–95. [*Ivanova GT, Lobov GI, Beresneva ON, Parastaeva MM* (2019) Changes in the reactivity of vessels of rats with an experimental decrease in the mass of functioning nephrons *Nephrology* (Saint-Petersburg) 23(4): 88–95. (In Russ)]].
<https://doi.org/10.24884/1561-6274-2019-23-4-88-95>
33. *Rossi M, Carpi A, Galetta F, Franzoni F, Santoro G* (2006) The investigation of skin blood flow-motion: a new approach to study the microcirculatory impairment in vascular diseases? *Biomed Pharmacother* 60: 437–442.
<https://doi.org/10.1016/j.biopha.2006.07.012>
34. *DuPont JJ, Ramick MG, Farquhar WB, Townsend RR, Edwards DG* (2014) NADPH oxidase-derived reactive oxygen species contribute to impaired cutaneous microvascular function in chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 306(12): F1499–F1506.
<https://doi.org/10.1152/ajprenal.00058.2014>
35. *Houben A, Martens RJH, Stehouwer CDA* (2017) Assessing microvascular function in humans from a chronic disease perspective. *J Am Soc Nephrol* 28: 3461–3472.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2017020157>
36. *Sriram K, Salazar Vázquez BY, Tsai AG, Cabrales P, Intaglietta M, Tartakovsky DM* (2012) Autoregulation and mechanotransduction control the arteriolar response to small changes in hematocrit. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 303(9): H1096–H1106.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00438.2012>
37. *Kvandal P, Stefanovska A, Veber M, Kvernmo HD, Kirkeboen KA* (2003) Regulation of human cutaneous circulation evaluated by laser Doppler flowmetry, iontophoresis, and spectral analysis: importance of nitric oxide and prostaglandines. *Microvasc Res* 65(3): 160–171.
[https://doi.org/10.1016/s0026-2862\(03\)00006-2](https://doi.org/10.1016/s0026-2862(03)00006-2)
38. *Крупаткин АИ, Сидоров ВВ* (2005) Лазерная доплеровская флоуметрия микроциркуляции крови. М. Медицина. [*Krupatkin AI, Sidorov VV* (2005) Laser Doppler flowmetry of blood microcirculation. М. Medicine-press. (In Russ)].
39. *Drábková N, Hojná S, Zicha J, Vaněčková I* (2020) Contribution of selected vasoactive systems to blood pressure regulation in two models of chronic kidney disease. *Physiol Res* 69(3): 405–414.
<https://doi.org/10.33549/physiolres.934392>
40. *Stefanovska A., Bravik M* (1999) Physics of human cardiovascular system. *Contemporary Physics* 40(1): 31–35.
41. *Houben A, Martens RJH, Stehouwer CDA* (2017) Assessing microvascular function in humans from a chronic disease perspective. *J Am Soc Nephrol* 28: 3461–3472.
<https://doi.org/10.1681/ASN.2017020157>
42. *Stewart JM, Kohen A, Brouder D, Rahim F, Adler S, Garrick R, Goligorsky MS* (2004) Noninvasive interrogation of microvasculature for signs of endothelial dysfunction in patients with chronic renal failure. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 287: H2687–H2696.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00287.2004>
43. *Kellogg DL Jr, Zhao JL, Coey U, Green JV* (2005) Acetylcholine-induced vasodilation is mediated by nitric oxide and prostaglandins in human skin. *J Appl Physiol* 98: 629–632.
<https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00728.2004>
44. *Gaubert ML, Sigaudou-Roussel D, Tartas M, Berrut G, Saumet JL, Fromy B* (2007) Endothelium-derived hyperpolarizing factor as an in vivo back-up mechanism in the cutaneous microcirculation in old mice. *J Physiol* 585(Pt 2): 617–626.
<https://doi.org/10.1113/jphysiol.2007.143750>
45. *Лобов ГИ, Соколова ИБ* (2020) Роль NO и H₂S в регуляции тонуса церебральных сосудов при хронической болезни почек. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 106(8): 1002–1015. [*Lobov GI, Sokolova IB* (2020) Role of NO and H₂S in the Regulation of the Tone of Cerebral Vessels in Chronic Kidney Disease. *Russ J Physiol* 106(8): 1002–1015. (In Russ)].
<https://doi.org/10.31857/S0869813920080063>
46. *Freed JK, Gutterman DD* (2017) Communication Is Key: Mechanisms of Intercellular Signaling in Vasodilation. *J Cardiovasc Pharmacol* 69(5): 264–272.
<https://doi.org/10.1097/FJC.0000000000000463>
47. *Chen CH, Huang SC, Yeh EL, Lin PC, Tsai SF, Huang YC* (2022) Indoxyl sulfate, homocysteine, and antioxidant capacities in patients at different stages of chronic kidney disease. *Nutr Res*

- Pract 16(4): 464–475.
<https://doi.org/10.4162/nrp.2022.16.4.464>
48. Brunt VE, Fujii N, Minson CT (2015) Endothelial-derived hyperpolarization contributes to acetylcholine-mediated vasodilation in human skin in a dose-dependent manner. *J Appl Physiol* 119: 1015–1022.
<https://doi.org/10.1152/japplphysiol.00201.201>

Functional State of the Mesenteric Arteries and Vessels of the Skin Microcirculation Bed in Rats with Experimental Kidney Dysfunction

G. T. Ivanova^{a, *} and O. N. Beresneva^b

^a*Pavlov Institute of Physiology of the Russian Academy of Sciences, St. Petersburg, Russia*

^b*First Pavlov Saint-Petersburg State Medical University, St. Petersburg, Russia*

*e-mail: ivanovagt@infra.ru

Chronic kidney disease is accompanied by cardiovascular complications, including endothelial dysfunction, arterial hypertension, and atherosclerosis. The aim of this work is to compare the reactivity of the vessels of the microcirculatory bed (MCR) of the skin, assessed by laser Doppler flowmetry (LDF) and mesenteric arteries in rats with resection of 5/6 of the mass of the kidneys, and to evaluate the possibility of using LDF analysis as a method that reflects the functional state of large resistive vessels. Wistar rats were divided into two groups: animals of the NE-group ($n = 15$) had 5/6 of the mass of kidney tissue removed, control animals of the SO-group ($n = 15$) underwent a sham operation. After 8 weeks, the reactivity of rat skin microvessels to acetylcholine (ACh) and sodium nitroprusside (NP) iontophoresis was assessed. A week later, in rats, the effect of NE on the reactivity of mesenteric arteries precontracted with phenylephrine was evaluated *in vivo* using microphotographic and video recording of the diameter. It has been shown that NE does not affect the average value of perfusion in the skin of rats at rest, however, it changes the structure of the frequency range of the spectrum of fluctuations in the MCR index, increasing the value of endothelial, neurogenic, and myogenic tone. NE led to the development of endothelial dysfunction of the mesenteric arteries and MCR vessels of the skin, which was expressed in a decrease in vascular reactivity to the action of endothelium-dependent (ACh) and endothelium-independent (NP) vasodilators. Thus, the development of experimental kidney dysfunction led to changes in the spectral components of fluctuations in the MCR index in the skin, indicating an increase in tonic effects of various genesis on the vessels. NE was accompanied by a decrease in the reactivity of microvessels of the skin and mesenteric arteries, however, there was no correlation between an increase in the MCR index and dilatation of the mesenteric arteries under the action of vasodilator agonists.

Keywords: chronic kidney disease, laser Doppler flowmetry, vasodilation, endothelium, mesenteric artery, skin microcirculation