

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«Национальный медицинский исследовательский центр имени В. А. Алмазова»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации

На правах рукописи

ВАХРУШЕВ АЛЕКСАНДР ДМИТРИЕВИЧ

Гемодинамические и локальные эффекты расширенной катетерной аблации  
почечных артерий и экспериментальное обоснование использования  
лазерной энергии для периваскулярной денервации

3.1.15 – Сердечно-сосудистая хирургия

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
Михайлов Евгений Николаевич,  
доктор медицинских наук

Санкт-Петербург – 2021

## ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение.....	4
Глава 1 Обзор литературы.....	16
Глава 2 Материалы и методы.....	31
2.1 Дизайн исследования.....	31
2.2 Описание фаз исследования.....	33
2.3 Статистический анализ полученных данных.....	48
Глава 3 Собственные материалы.....	50
3.1 Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных..	50
3.2 Фаза II – моделирование транзиторной лёгочной артериальной гипертензии.....	58
3.3 Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации.....	61
3.4 Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий.....	66
3.5 Результаты патоморфологического исследования.....	67
3.6 Повреждение нервных волокон.....	73
Глава 4 Обсуждение полученных результатов.....	74
4.1 Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных.....	74
4.2 Фаза II – моделирование транзиторной лёгочной артериальной гипертензии.....	76
4.3 Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации.....	77
4.4 Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий.....	80
Заключение.....	82

Выводы.....	83
Практические рекомендации.....	84
Перспективы дальнейшей разработки темы исследования.....	85
Список сокращений .....	86
Список литературы .....	88

## ВВЕДЕНИЕ

### **Актуальность темы исследования и степень ее разработанности**

Дисфункция вегетативной нервной системы вносит значительный вклад в развитие сердечно-сосудистых заболеваний. При таких состояниях, как артериальная гипертензия (АГ), легочная артериальная гипертензия (ЛАГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), хроническая сердечная недостаточность (ХСН), отмечена избыточная активация симпатической нервной системы и/или снижение парасимпатической активности. Имеются экспериментальные и клинические доказательства того, что симпатическая гиперактивация играет важную роль в развитии как АГ, так и ЛАГ [1].

В настоящее время распространенность АГ среди населения РФ составляет около 40 %. Попытки хирургического лечения АГ были предприняты в середине XX века, когда Smithwick R.H. предложил метод билатеральной люмбодорсальной симпатэктомии и спланхникэктомии с резекцией симпатических ганглиев в нижнегрудном отделе [2]. Однако впоследствии от данного метода в качестве лечения эссенциальной АГ отказались ввиду частого развития осложнений со стороны внутренних органов и ортостатической гипотензии, а также в связи с появлением эффективных антигипертензивных лекарственных средств.

Ренальная денервация (симпатическая денервация почечных артерий (ПА)) была предложена в качестве малоинвазивного подхода, альтернативного хирургической неселективной симпатэктомии. Процедура катетерной ренальной денервации (РД) представляет собой абляцию периваскулярных симпатических нервов почечных артерий с помощью повреждающего воздействия со стороны эндотелиальной выстилки. При этом для деструкции нервных волокон применяются как физические методы (радиочастотный ток с униполярной или биполярной конфигурацией рабочих электродов, сфокусированный ультразвук, бета-излучение), так и локальное введение

химических веществ-нейротоксинов. Различаются также варианты расположения повреждающего элемента на стенке почечных артерий: на управляемых и неуправляемых моно- и многополюсных баллонных катетерах, в просвете артерии. Наибольшее распространение получили методы радиочастотной абляции, несмотря на ряд известных ограничений, основным из которых является неоднородность глубины повреждения [3]. В последнее время в некоторых работах показаны преимущества альтернативных методов воздействия и источников энергии, таких как, например, ультразвуковая абляция [4].

В 2009 году Schlaich и др. опубликовали результаты первого случая денервации с помощью радиочастотной абляции у пациента с резистентной к терапии АГ [5]. Было выявлено статистически значимое снижение уровня сАД, дАД, а также значимое снижение концентрации норадреналина в почечных венах и ренина в плазме крови. Было зафиксировано улучшение почечного кровотока и уменьшение толщины стенки ЛЖ.

Данные результаты были подтверждены в исследовании Symplicity-HTN1 [6], включающем большее число пациентов. Затем было проведено первое рандомизированное исследование, в котором изучались эффекты РД по сравнению с медикаментозной терапией (Symplicity-HTN2) [7]. Полученные результаты вызвали значительный интерес в научном сообществе: консенсус экспертов по лечению пациентов с гипертонией, опубликованный в 2013 году, впервые включал абляцию симпатических нервных волокон в качестве метода лечения резистентной АГ. Всего за несколько месяцев было произведено более двадцати новых устройств, которые можно было бы использовать для денервации ПА с помощью различных источников энергии.

EnligHTN I было первым нерандомизированным многоцентровым исследованием, проводимым у человека, с использованием многоэлектродной абляционной системы EnligHTN [8]. Исходный средний уровень офисного АД составил 176/96 мм рт. ст. (n=46). Исследование продемонстрировало значительное снижение офисного и амбулаторного уровня АД через 6 месяцев

после денервации ПА (-26 / -10 мм рт. ст. и -10 / -6 мм рт. ст. соответственно), которое сохранилось через 12 месяцев [9].

Анализ исходного суточного амбулаторного АД выявил пациентов с псевдорезистентной АГ (n=5). У данных пациентов было зафиксировано более выраженное снижение уровня офисного АД по сравнению с пациентами с истинно резистентной АГ (-36 / -13 мм рт. ст. против -25 / -10 мм рт. ст. соответственно). Однако у данной группы пациентов было зафиксировано минимальное изменение уровня амбулаторного АД (-2 / -1 мм рт. ст. против -7 / -5 мм рт. ст., соответственно).

В исследовании REDUCE-HTN (n=146) пациенты наблюдались в течение 2 лет после процедуры денервации ПА с использованием системы Vessix (Vessix denervation system, Boston Scientific, США). Критерии включения пациентов были следующие: исходный уровень АД составлял более 160 / 90 мм рт. ст., применение трёх антигипертензивных препаратов в адекватных дозах не менее чем за 2 недели до включения в исследование. Контрольные визиты через 12 и 24 месяца прошли 138 и 124 пациента соответственно. Через 24 месяца 45,2% пациентов продолжали принимать прежнее количество антигипертензивных препаратов, что и на исходном уровне; 21,9% сократили приём одного или нескольких препаратов; 20,5% добавили один препарат; 8,2% добавили два антигипертензивных препарата. Средний исходный уровень офисного АД составил  $182,4 \pm 18,4$  /  $100,2 \pm 14,0$  мм рт. ст. Через 12 и 24 месяца офисное сАД и дАД было значительно ниже исходных показателей, а именно:  $159,0 \pm 25,7$  /  $89,7 \pm 16,0$  мм рт. ст. и  $154,2 \pm 23,4$  /  $88,8 \pm 17,1$  мм рт. ст. соответственно. Уровень 24-часового амбулаторного АД также значительно снизилось: с  $152,9 \pm 15,2$  /  $87,5 \pm 13,3$  мм рт. ст. до  $145,7 \pm 14,7$  /  $82,8 \pm 12,6$  мм рт. ст.  $\pm 13,1$  /  $5,4 \pm 7,8$  мм рт. ст [10].

Однако результаты нового клинического исследования SYMPPLICITY HTN-3 оказались нейтральными и не продемонстрировали преимущества РД для снижения артериального давления в сравнении с ложнооперированной группой. Основная цель, касающаяся безопасности денервации была

достигнута, но не была достигнута конечная точка эффективности в отношении снижения уровня сАД.

При оценке результатов исследования были выявлены многочисленные факторы, которые могли повлиять на неспособность достичь установленных конечных точек. Так, с методологической точки зрения, в среднем каждый оператор выполнил только по три процедуры во время исследования (одна треть операторов выполнила только одну процедуру денервации); при этом обучение процедуре проводилось в течение начавшегося исследования.

При сравнении динамики АД через 6 месяцев после денервации в исследованиях SYMPPLICITY HTN-3, HTN-1 и HTN-2 обращает на себя внимание значительное различие в эффектах (Рисунок 1). Вероятно, что "переоценка" эффективности процедуры в первых исследованиях привела к ошибке в расчёте размера выборки в SYMPPLICITY HTN-3. Сравнивая стандартное отклонение колебаний уровня АД с исходными с данными, полученными в ходе исследования HTN-3, мы видим значительную вариабельность реакции после денервации ПА: процедура может быть более эффективной у определенных групп пациентов, например, пациентов моложе 65 лет и пациентов с нормальной скоростью клубочковой фильтрации (СКФ) ( $\geq 60$  мл/мин/1,73м<sup>2</sup>).

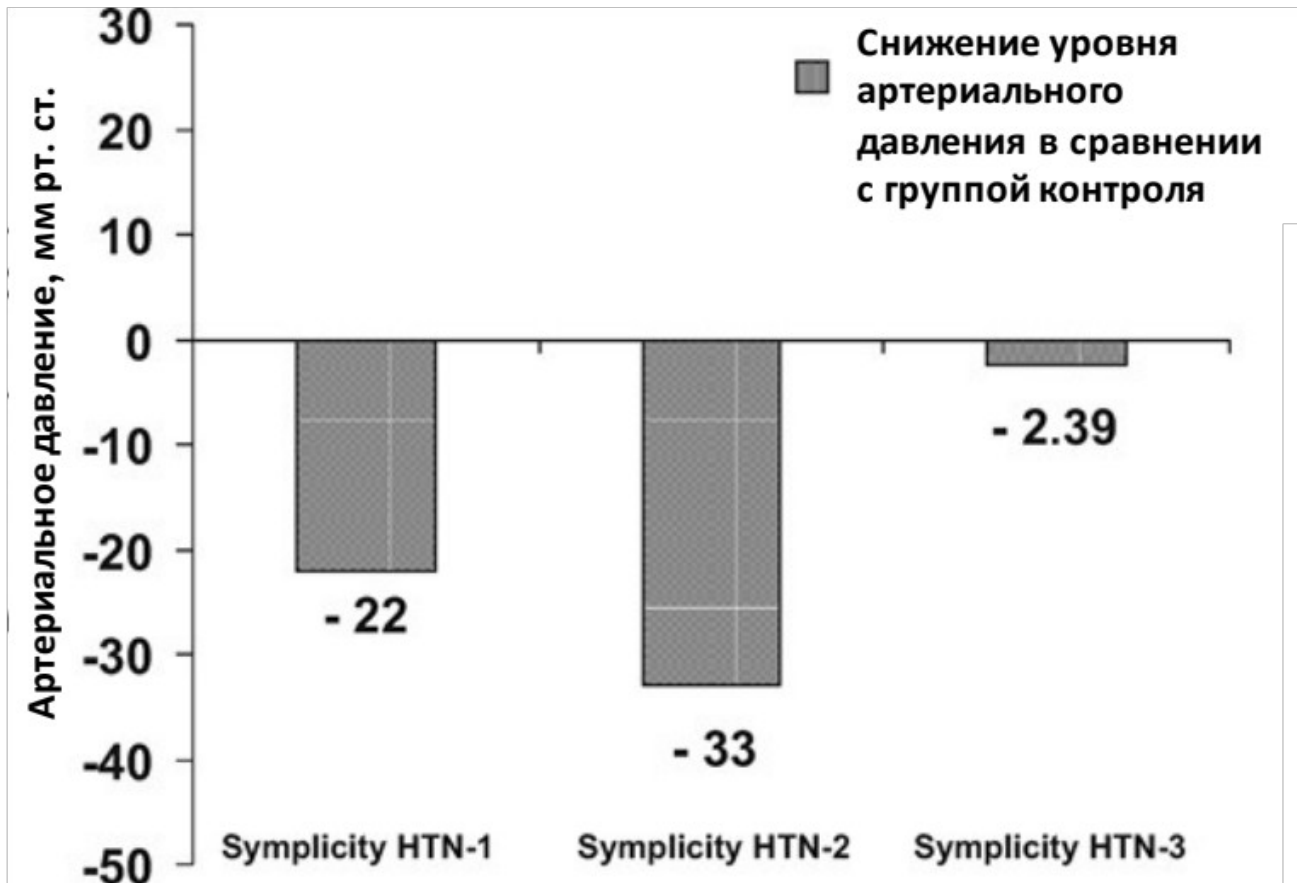


Рисунок 1 – Сравнение данных шестимесячного наблюдения уровня артериального давления исследования HTN-3 с данными исследований HTN-1 и HTN-2

Хотя результаты клинического исследования SYMPPLICITY HTN-3 оказались нейтральными и не продемонстрировали преимущества РД для снижения артериального давления в сравнении ложнооперированной группой, ряд допущенных недостатков при выполнении исследования способствовали сохранению интереса специалистов к РД. Такие модификации подхода к РД, как абляция всех доступных ветвей почечных артерий, и использование катетеров специальной конструкции, позволяющей достигать более надежного контакта с сосудистой стенкой, в новых многоцентровых рандомизированных исследованиях позволили доказать эффективность РД для коррекции артериального давления при наблюдении от 6 до 12 месяцев [11, 12].

Помимо снижения артериального давления, уменьшения симпатической нервной активности, выполнение РД приводит и к другим положительным эффектам. К ним относятся: уменьшение гипертрофии левого желудочка (ЛЖ),



увеличение скорости клубочковой фильтрации, улучшение гликемического профиля и т.д. В ретроспективных исследованиях показана положительная роль РД при хронической сердечной недостаточности с сохраненной фракцией выброса левого желудочка в отношении обратного ремоделирования миокарда и толерантности к физической нагрузке [13].

В свете обнаруженных недостатков предыдущих исследований влияния денервации ПА на уровень АГ и вопросов относительно эффективности данной процедуры, были проведены два рандомизированных слепых исследования с группой ложной операции (sham): SPYRAL HTN-OFF MED и SPYRAL HTN-ON MED [11, 14]. В обоих исследованиях оценивалась реакция параметров АД на проведение денервации ПА у пациентов с АГ (сАД 150–180 мм рт. ст., амбулаторное сАД 140–170 мм рт. ст.; с уровнем диастолического АД (дАД) более 90 мм рт. ст.).

Пациенты, включенные в SPYRAL HTN-OFF MED, либо не имели опыта медикаментозной терапии АГ, либо она отменялась на время исследования, в то время как в исследовании SPYRAL HTN-ON MED пациенты принимали от одного до трёх антигипертензивных препаратов.

Результаты исследования SPYRAL HTN-OFF MED продемонстрировали значительное снижение уровня как офисного, так и амбулаторного АД через три месяца по сравнению с исходным уровнем в группе денервации ПА: -10 / -5,3 мм рт. ст. и -5,5 / -4,8 мм рт. в сравнении с группой sham: 7,7 / 4,9 мм рт. ст. и 5,0 / 4,4 мм рт. ст., соответственно. О значительном снижении уровня АД в группе денервации ПА также сообщалось в исследовании SPYRAL HTN-ON MED через 6 месяцев после процедуры: -9,4 / -5,2 мм рт. ст. для офисного АД и -9,0 / -6,0 мм рт. ст. для амбулаторного АД. Исследование подтвердило высокий уровень несоблюдения режима приёма антигипертензивных препаратов среди пациентов (~ 50%). В данных исследованиях абляция ПА проводилась во всех доступных сегментах ПА, включая ствол и ветви первого порядка ПА. Большое количество абляций не было связано с увеличением числа осложнений в остром периоде.

С целью оценки кардиопротективных эффектов денервации ПА было проведено исследование с оценкой влияния денервации на модуляцию СНС у крыс при ишемии-реперфузии [15]. Было выявлено значительное уменьшение очага инфаркта миокарда с сохранением насосной функции сердца через 7 дней после реперфузии по сравнению с группой контроля (sham).

Для исследования эффективности денервации ПА в условиях ХСН с низкой фракцией выброса (ФВ) были проведены эксперименты на свиньях [16]. В данном исследовании использовали специализированную систему для ренальной денервации EnligHTN (St. Jude Medical, Эбботт, США) с целью циркулярной денервации как ствола, так и дистальных ветвей ПА.

Нормотензивным мини-свиньям создавалась ишемия миокарда на 75 минут с последующей реперфузией в течение 18 недель. После регистрации низкой ФВ (менее 40%) животные были рандомизированы на группу денервации ПА и группу контроля (sham). После проведения процедуры животные наблюдались в течение 12 недель. Было выявлено значительное снижение уровня норадреналина, ангиотензина I и II в группе денервации ПА.

Отрицательное влияние симпатической гиперактивации было продемонстрировано также в патогенезе ЛАГ [17]. ЛАГ – патофизиологическое и гемодинамическое состояние, возникающее при ряде заболеваний и характеризующееся ремоделированием лёгочных артерий с гипертрофией меди, фиброзом интимы и адвентиции, сопровождающееся увеличением лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС), недостаточностью правого желудочка (ПЖ) и приводящее к преждевременной смерти. В настоящее время активно изучаются подходы к снижению активности симпатической нервной системы (СНС) при ЛАГ, включая транскатетерную или хирургическую денервацию лёгочной артерии (ЛА), а также электростимуляцию блуждающего нерва [18].

Несмотря на интенсивное изучение эффектов РД у пациентов с АГ, систематического анализа влияния РД на гемодинамику малого круга кровообращения не проводилось. В одном экспериментальном исследовании

на собаках было показано влияние хирургической РД на обратное ремоделирование ПЖ и сосудов малого круга кровообращения (МКК) при монокроталиновой ЛАГ [19]. Течение ЛАГ может усугубляться генерализованной активацией эфферентных симпатических волокон, что приводит к вазоконстрикции, задержке натрия и активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [20]. В этих условиях деактивация вегетативных афферентных волокон, проходящих в составе почечных нервов, может модулировать общую активность СНС и оказывать положительное воздействие на гемодинамику малого круга кровообращения при ЛАГ.

Опубликованы результаты первого доклинического хронического исследования, в котором оценивалась эффективность денервации ПА в качестве метода лечения ЛАГ на экспериментальной модели у собак [18]. Авторы проводили индукцию ЛАГ с использованием инъекции монокроталина. Данная модель является одной из принятых для индукции ЛАГ. Затем в одной группе собак проводили денервацию ПА, остальные собаки были включены в контрольную группу. По сравнению с группой контроля, при 8-недельном наблюдении в группе денервации ПА было показано: снижение параметров срДЛА и ЛСС, замедление процесса ремоделирования ПЖ, уменьшение концентрации ангиотензина II и эндотелина-1 в плазме крови, а также альдостерона и натрийуретического пептида, приостановка ремоделирования сосудов лёгких. Авторы пришли к выводу, что денервация ПА может иметь положительное влияние при ЛАГ.

Одним из ограничений исследования Qingyan и др. является дизайн эксперимента. Авторы выполняли процедуру денервации ПА сразу после инъекции монокроталина, то есть до того, как уровень срДЛА начинал увеличиваться. Так, дизайн данного исследования не в полной мере позволяет оценить потенциальную эффективность денервации ПА в ситуации уже развившейся ЛАГ.

В экспериментальном исследовании на крысах Liu и др. также изучали влияние хирургической денервации ПА на модели ЛАГ в качестве метода

профилактики и лечения лёгочной гипертензии [21]. Результаты исследования показали, что денервация ПА приводит к уменьшению ремоделирования сосудов лёгких и правого желудочка.

В двух последних работах абляция проводилась с помощью неспециализированных систем денервации ПА, без воздействия в дистальных ветвях почечных артерий. Вероятно, при проведении расширенной абляции ПА, воздействие может быть более эффективным в подавлении симпатической активности.

Таким образом, актуальным является изучение влияния РД на гемодинамику малого круга кровообращения и лёгочную гемодинамику в экспериментальных исследованиях на нормотензивных животных и на модели острой ЛАГ. Также необходим поиск альтернативных методов катетерной денервации ПА, обладающих повышенной эффективностью и безопасностью в сравнении с применяющимися способами.

### **Цель исследования**

Изучить влияние расширенной (дистальной и проксимальной) денервации почечных артерий на гемодинамические параметры большого и малого кругов кровообращения в норме и при индуцированной лёгочной артериальной гипертензии, а также оценить безопасность ренальной денервации с применением катетерной лазерной абляции.

### **Задачи исследования:**

1. Изучить влияние расширенной (дистальной и проксимальной) многоэлектродной денервации почечных артерий на гемодинамические параметры малого круга кровообращения у нормотензивных свиней в эксперименте.
2. Изучить эффекты расширенной денервации почечных артерий на индуцируемость лёгочной артериальной гипертензии в экспериментальной модели у свиней.

3. Изучить безопасность расширенной денервации почечных артерий в остром эксперименте путем оценки прижизненных ангиографических изменений артерий и последующего анализа аутопсийного материала.
4. Изучить безопасность применения лазерной энергии для катетерной абляции почечных нервов в пилотном эксперименте.

### **Научная новизна**

1. Определены краткосрочные эффекты денервации почечных артерий на лёгочную гемодинамику в условиях нормотензии и на модели обратимой лёгочной артериальной гипертензии. Выявлено снижение уровня диастолического давления в лёгочной артерии, а также лёгочного сосудистого сопротивления у нормотензивных свиней после ренальной денервации.
2. Установлено, что катетерная лазерная абляция сопровождается более обширным повреждением как сосудистой стенки, так и околососудистой ткани с периваскулярными нервами. При этом риск тромбообразования ниже, чем при радиочастотной абляции.

### **Теоретическая и практическая значимость**

1. Выявленные краткосрочные эффекты ренальной денервации на системную и лёгочную гемодинамику следует учитывать при проведении экспериментальных и клинических исследований у нормо- и гипотензивных субъектов, в которых изучаются эффекты снижения активности симпатической нервной системы.
2. Отсутствие ангиографических изменений почечных артерий не исключает повреждение сосудистой стенки и формирование пристеночных тромбов в почечных артериях после радиочастотной абляции на фоне гепаринизации.
3. Экспериментально обосновано применение катетерной лазерной абляции для ренальной денервации; необходима титрация мощности воздействия для безопасного воздействия.

## **Методология и методы исследования**

Набор использованных методов исследования соответствует современному уровню экспериментальных исследований. Методы статистической обработки данных являются современными и отвечают поставленной цели и задачам исследования.

### **Основные положения, выносимые на защиту**

Расширенная ренальная денервация оказывает влияние на системную и лёгочную гемодинамику, в частности, снижая систолическое системное артериальное давление и сопротивление лёгочных сосудов.

В условиях тромбоксановой модели транзиторной лёгочной артериальной гипертензии применение ренальной денервации не сопровождается положительными гемодинамическими эффектами.

Катетерная ренальная денервация сопровождается травмой стенки артерии в виде микродиссекций; лазерная абляция не характеризуется тромбообразованием на эндотелии в отличие от радиочастотной абляции

Лазерная катетерная абляция может рассматриваться как перспективный метод денервации артериальных сосудов при условии обеспечения управляемой титрации энергии.

### **Степень достоверности и апробация результатов**

Объём экспериментального материала позволяет сделать основные выводы. Эксперименты разделены на четыре фазы, в каждой из которых рассчитан объём необходимой выборки при мощности 80%. Количество экспериментальных животных было минимизировано, где это возможно, в соответствии с рекомендациями «3-R» для исследований на животных [22].

Материалы диссертации были представлены в виде докладов на научных конференциях: «Национальный медицинский инновационный форум», Санкт-

Петербург, 2019 г.; «IX Всероссийский съезд аритмологов», Санкт-Петербург, 2021 г.; Конгресс Европейского Кардиологического Общества 2020 года (ESC Congress 2020 – онлайн конгресс), Конгресс Европейского Кардиологического Общества 2021 года (ESC Congress 2021 - онлайн конгресс).

По результатам диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 7 статей в журналах, входящих в «Перечень ведущих рецензируемых научных журналов и изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертации на соискание ученой степени доктора и кандидата наук» и индексированных в базах Web of Science и/или Scopus.

### **Личное участие автора**

Автор принимал непосредственное участие в разработке концепции исследования, а также самостоятельно проводил экспериментальные операции по денервации почечных артерий. Также автор выполнял научный и статистический анализ полученных данных.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация изложена на 99 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов, результатов собственных исследований, обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы. Работа содержит 8 таблиц и 23 рисунка. Указатель литературы включает 106 источников, из них 3 отечественных и 103 иностранных.

## ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Системная артериальная гипертензия является самым распространенным фактором риска инфаркта миокарда, инсульта, сердечной недостаточности, фибрилляции предсердий, диссекции аорты, заболеваний периферических артерий, преждевременной смерти. Сердечно-сосудистые заболевания являются причиной примерно 17 миллионов смертей в год, что является почти одной третьей частью от общего числа смертей [23]. При этом 9,4 миллиона летальных исходов вызваны осложнениями системной артериальной гипертензии [24].

В 2008 году примерно у 40% взрослых людей в возрасте 25 лет и старше была диагностирована артериальная гипертензия, а общее число людей с данным заболеванием выросло с 600 млн. чел. в 1980 году до 1 млрд. чел. в 2008 году [25]. Увеличение распространенности артериальной гипертензии является следствием следующих факторов: увеличение численности населения, демографическое старение, поведенческие факторы риска, а именно: нездоровое питание, чрезмерное употребление алкоголя, недостаточная физическая активность, избыточный вес и постоянное стрессовое состояние. В связи с этим в развитых и развивающихся странах прогнозируется увеличение общей частоты распространения артериальной гипертензии в мире до 1,5 млрд чел к 2025 году, что будет составлять примерно 30% мировой популяции.

Доказано, что повышение уровня систолического артериального давления (сАД) на 20 мм рт. ст. увеличивает риск смерти от сердечно-сосудистых заболеваний и инсульта в два раза [26]. Напротив, снижение уровня сАД на 10 мм рт. ст. ассоциировано со снижением частоты инсультов на 41% [27]. При этом только половина пациентов с системной артериальной гипертензией (АГ) контролируют уровень своего АД с помощью медикаментозной терапии [28], а у 5-20% пациентов имеется резистентность к терапии АГ [29].

Попытки хирургического лечения АГ были предприняты в середине XX века, когда Smithwick R.H. предложил метод билатеральной люмбодорсальной



симпатэктомии и спланхэктомии с резекцией симпатических ганглиев в нижнегрудном отделе [2]. Однако впоследствии от данного метода в качестве лечения эссенциальной АГ отказались ввиду частого развития осложнений со стороны внутренних органов и ортостатической гипотензии, а также в связи с появлением эффективных антигипертензивных лекарственных средств.

Значительный вклад в развитие сердечно-сосудистых заболеваний вносит дисфункция автономной нервной системы. При таких состояниях, как артериальная гипертензия (АГ), лёгочная артериальная гипертензия (ЛАГ), ишемическая болезнь сердца (ИБС), хроническая сердечная недостаточность (ХСН), отмечена избыточная активация симпатической нервной системы и/или снижение парасимпатической активности. Имеются экспериментальные и клинические доказательства того, что симпатическая гиперактивация играет важную роль в развитии как АГ, так и ЛАГ [1].

Ренальная денервация (РД) (симпатическая денервация почечных артерий (ПА)) — это видоизменение процедуры хирургической неселективной симпатэктомии, а именно, следуя общей тенденции, переход на малотравматичное, малоинвазивное, органосохраняющее лечение. Процедура РД представляет собой абляцию симпатических нервов с помощью внутрисосудистых многополюсных электродов в области ПА с использованием радиочастотной (РЧ) энергии.

В настоящее время денервация почечных артерий (ПА) может применяться в качестве дополнительного метода лечения резистентной к терапии АГ у некоторых пациентов [30]. Несмотря на противоречивые эффекты РД на системную гипертензию в ранних исследованиях, результаты недавних исследований кажутся более оптимистичными [12, 31].

В предыдущих исследованиях представлены убедительные доказательства участия афферентных и эфферентных симпатических нервов ПА в патогенезе АГ [32]. Также показана эффективность хирургической симпатэктомии в снижении уровня АД при ограниченной медикаментозной терапии, что говорит в пользу применения денервации ПА в качестве метода

лечения пациентов с АГ [33, 34]. Так, в последнее время усилия были сосредоточены на отборе пациентов для проведения процедуры и применении новых методов и технологий, основанных на лучшем понимании иннервации ПА.

### **Анатомия почечных нервов**

Денервация ПА направлена на деструкцию нервных волокон, расположенных в адвентиции ПА. Иннервация почки и ПА представлена как симпатическими, так и парасимпатическими нервными волокнами. Симпатические нервы расположены внутри почки, а также отходят от отдельных ганглиев пограничного симпатического ствола.

Нервные волокна берут своё начало в грудных нижних и верхних поясничных сегментах спинного мозга и вступают в почечное сплетение. Нервное почечное сплетение расположено в клетчатке между почечными сосудами и надпочечником. От почечного сплетения вегетативные нервы к почке идут разными путями: пучок тонких нервных волокон сопровождает почечную артерию, образуя на ней нервную сеть, вступающую в ворота почки.

Эфферентная симпатичная иннервация почек непосредственно влияет на регуляцию сосудистой системы почечных канальцев и юкстагломерулярного аппарата. Стимуляция симпатической системы способствует сокращению сосудов посредством ряда механизмов. Во-первых, с помощью стимуляции  $\beta$ -адренорецепторов юкстагломерулярного аппарата, в результате чего возрастает высвобождение ренина и повышается концентрация в плазме крови и тканях вазоконстрикторного пептида - ангиотензина II. Во-вторых, посредством стимуляции сосудистых  $\alpha$ -адренорецепторов, что непосредственно вызывает сокращение сосудов. Более того, активация симпатической нервной системы также прямо или косвенно способствует реабсорбции натрия в канальцах, что приводит к увеличению общего объёма внеклеточной жидкости.

Афферентные симпатические нервы почек вносят свой вклад в регуляцию активности центральной симпатической нервной системы. Они активируются различными стимулами, действие которых реализуется через механо- или

хеморецепторы в почках. Прекращение поступления сигналов посредством хирургического или химического вмешательств приводит к снижению симпатической активности и уровня АД, предотвращает повышение АД [35].

В начале 1950-х годов использование хирургической денервации почек у пациентов с АГ позволило снизить АД, заболеваемость, смертность, уровень периферической и центральной симпатической активности, высвобождение ренина без какого-либо влияния на скорость клубочковой фильтрации (СКФ). Доступность эффективных пероральных антигипертензивных средств, а также высокая частота, тяжесть и продолжительность обусловленных хирургической операцией нежелательных эффектов (таких как послеоперационная смерть, тяжелая ортостатическая гипотензия, недостаточность сфинктеров, половая дисфункция, парадоксальная потливость при нагрузке) привели к исчезновению методов хирургической денервации из практики [2].

Близость расположения почечных нервных волокон к интиме ПА обусловила возможность повреждения нервов с помощью внутрисосудистого доступа к ПА. В недавно проведенных посмертных исследованиях как на животных, так и на людях, показано, что большее количество нервных волокон располагается в проксимальных отделах ПА. Кроме того, около 50% нервных волокон вокруг ПА располагается в пределах 2,5 мм вглубь от интимы [36, 37]. В дистальных отделах ПА нервные волокна обнаруживаются ближе к интиме, по сравнению с волокнами в проксимальных отделах, причем 79% волокон, расположенных дистальнее бифуркации, находятся в пределах 2 мм от интимы ПА. По результатам данных исследований, были предприняты попытки абляции дистальных отделов ПА с целью максимизации клинического эффекта [38, 39, 40].

### **Устройства для денервации почечных артерий**

Первой системой, предназначенной для катетерной денервации ПА, была система радиочастотной (РЧ) абляции Symplicity Flex (Medtronic, Миннеаполис, Миннесота, США) [30]. На одноэлектродный абляционный катетер подавалось РЧ воздействие мощностью 8 Вт на внутреннюю поверхность ПА. Выполнялось

от четырёх до шести РЧ воздействий продолжительностью 120 секунд по спиральной траектории в каждой ПА. Циркулярное повреждение ПА с помощью данной системы было сложной задачей и требовало большого опыта оператора. Так, новые специализированные устройства для РД, в которых используется конструкция многоэлектродного катетера, имеют большое преимущество перед неспециализированными одноэлектродными системами. Также были разработаны системы, использующие альтернативные источники энергии. Новые специализированные устройства для РД стали проще в использовании и позволили сократить продолжительность процедуры денервации [41].

### **Методы аблации, используемые для денервации почечных артерий**

#### **Радиочастотная энергия**

Радиочастотная энергия является наиболее часто используемым методом денервации ПА. Использование РЧ аблации широко изучено, радиочастотная энергия применяется в качестве метода лечения при аблации аритмий. При РЧ аблации повреждение тканей происходит в результате термического повреждения, когда ткань нагревается до 50 °С и выше [42]. В дополнение к Symplicity Flex стала доступна и широко использовалась многоэлектродная радиочастотная система EnligHTN (St. Jude Medical, Эбботт, Чикаго, Иллинойс, США). Катетер EnligHTN имеет четыре электрода, установленных на расширяемой корзине [43]. По сравнению с катетером Symplicity Flex, достигался лучший контакт со стенкой сосуда во время циркулярной аблации ПА. В катетере EnligHTN первого поколения электроды последовательно активировались в течение 90 секунд и с максимальной мощностью 6 Вт. Система EnligHTN нового поколения позволила активировать все электроды одновременно, время воздействия составляло 60 секунд, что в целом сократило длительность процедуры [44]. Также была разработана многоэлектродная система денервации спирального типа [45]. РЧ аблация с использованием электрода спирального типа проводится с максимальной мощностью 6,5 Вт и длительностью воздействия 60 секунд.

Глубина повреждения является важнейшим фактором, определяющим успешную денервацию ПА. На глубину проникновения воздействия может влиять несколько факторов, включая мощность аблации, площадь поверхности электрода, продолжительность аппликации и качество контакта катетера с тканью. Были показаны различия глубины повреждения между различными специализированными радиочастотными системами [46].

Список систем для РЧ аблации ПА, которые были разработаны для денервации почечных артерий и получили регистрацию в нескольких странах, приведён в таблице 1, а также на рисунках 2 – 5.

Таблица 1 – Краткое описание систем с использованием радиочастотного метода воздействия, которые использовались для денервации почечных артерий

№	Название системы	Форма электрода	Диаметр электрода, Fr	Уни-/ биполярная аблация	Исследования
1	Symplcity Flex	Одноэлектродная система	6	Униполярная	Symplcity HTN-1, 2, 3
2	EnligHTN	Многоэлектродная система, форма корзины	8	Униполярная	EnligHTN I, II
3	Symplcity Spyral	Многоэлектродная система, спиральный тип электрода	6	Униполярная	Spyral feasibility study, Spyral HTN-Off MED/On MED
4	Iberis	Одноэлектродная система	4	Униполярная	Описание клинических случаев
5	One-Shot	Орошаемый баллонный тип электрода	6	Униполярная	RAPID

## Продолжение таблицы 1

6	Vessix	Многоэлектродная система, баллонный тип электрода	8	Биполярная	REDUCE-HTN
---	--------	--	---	------------	------------



Рисунок 2 – Одноэлектродная система денервации почечных артерий Symplicity Flex [47]



Рисунок 3 – Многоэлектродная система EnligHTN [47]



Рисунок 4 – Многоэлектродная система Symplicity Spiral [47]



Рисунок 5 – Орошаемый баллонный тип электрода One-Shot [47]

### **Ультразвуковая энергия**

В качестве метода денервации ПА использовались как внутрисосудистые, так и внешние источники ультразвуковой энергии [48, 49]. В инвазивной системе ультразвуковой абляции Paradise (ReCor Medical Inc., Пало-Альто, США) используется высокочастотная акустическая энергия от преобразователя, расположенного в просвете ПА, при помощи расширяемого охлаждающего баллона. Исследования *in vivo* продемонстрировали отсутствие повреждения интимы ПА при большой глубине повреждения, достигающей 7 мм (рисунок 6) [50]. Повреждение нервных волокон и снижение уровня норадреналина было достигнуто при проведении двух воздействий в одной ПА. Однако также были

зарегистрированы повреждения коллатеральных структур, включая очаговое повреждение поясничной мышцы, некроз толстой кишки и повреждение мочеточника. Первое исследование ультразвукового метода денервации ПА у мужчин показало значительное снижение уровня офисного АД в течение трёх месяцев. Были зарегистрированы следующие осложнения: боли в нижней части живота и спине, один случай диссекции ПА (связанный с травмой интимы ПА проводником), потребовавшей проведение стентирования [51].



Рисунок 6 – Катетер баллонного типа для ультразвуковой абляции [47]

Неинвазивный метод ультразвуковой денервации ПА также имеет большую глубину повреждения при сохранении интимы ПА по сравнению с радиочастотным методом денервации. Более того, эффект достигается независимо от размера или анатомии сосуда. Однако данный метод денервации требует чёткой визуализации ПА для точного нанесения зоны воздействия, что может быть затруднено у пациентов с избыточным весом. Хотя первоначальная клиническая оценка с использованием ультразвукового метода денервации ПА показала эффективность в снижении уровня офисного АД, в недавно опубликованных рандомизированных исследованиях с использованием группы ложной процедуры (sham) не было выявлено разницы в динамике офисного и



24-часового амбулаторного уровня АД между группой денервации и группой контроля через 6 месяцев [52].

### **Химическая денервация**

При химической денервации в стенку артерии или периваскулярную ткань вводятся нейротоксины, например, винкрестин или этиловый спирт, что приводит к разрушению нервных волокон (рисунок 7) [53]. Винкрестин является противоопухолевым средством, которое вызывает аксональный отёк и, в конечном итоге, приводит к демиелинизации периферических нервов. В экспериментальных работах на свиньях проводили денервацию ПА с использованием винкрестина, доставляемого через модифицированный катетер для ангиопластики. Был опубликован клинический случай применения химического метода денервации ПА у человека, в котором процедура привела к значительному снижению уровня офисного и 24-часового амбулаторного АД в течение 4 недель без серьёзных побочных эффектов [54].



Рисунок 7 – Катетер для внутрисосудистой инъекции [47]

При денервации ПА с введением спирта использовался специальный трёхигольный катетер Peregrine (Peregrine System, Ablative Solutions, США) [55]. Экспериментальные исследования на свиньях продемонстрировали значительное снижение содержания уровня норадреналина в почках (до 88% при использовании дозы 0,6 мл) через 3 месяца по сравнению с группой контроля, в которой использовался физиологический раствор. Повреждение интимы ПА не было зарегистрировано как при проведении контрастной

ангиографии, так и при посмертном гистологическом исследовании. Также не было выявлено нефротоксического эффекта прямого введения алкоголя в ПА [56].

В рандомизированном экспериментальном исследовании на свиньях денервация с использованием спирта показала значительно большую глубину повреждения при сравнении с радиочастотным методом денервации: 6,6 мм при 0,3 мл алкоголя; 8,2 мм при 0,6 мл алкоголя против 3,9 мм при РЧ абляции) через 3 месяца [57]. В первом исследовании у людей (n=18), где оценивались возможность и безопасность спиртовой денервации ПА (объём введения 0,3 мл), через 6 месяцев наблюдалось значительное снижение уровня офисного АД по сравнению с исходным уровнем; побочных эффектов денервации не было выявлено [58].

### **Лазерная энергия**

Лазерная энергия является перспективной альтернативной формой абляции, широко используемой для различных терапевтических и диагностических целей [59]. Разработка оптоволоконных проводников лазерной энергии дала импульс развитию оптоволоконных лазерных катетеров для широкого использования лазерной энергии в хирургии [60]. Теоретически лазерная катетерная абляция может иметь потенциальное преимущество для денервации ПА по следующим причинам. Во-первых, доступны лазеры с оптоволоконной связью с высокой средней мощностью воздействия (>40 Вт), лазерный луч может быть легко сфокусирован или коллимирован. При этом область воздействия может быть лучше ограничена, а общее время лечения, вероятно, будет меньше, чем при использовании радиочастотного и ультразвукового методов. Во-вторых, использование сфокусированной лазерной энергии может создать температурный градиент на большую глубину ткани, что позволит разрушить нервные волокна с минимальным повреждением нецелевых структур, таких как интима ПА, окружающие органы.

В недавно опубликованном пилотном экспериментальном исследовании [61] показаны эффекты лазерной энергии на препараты ПА. Лазерное

воздействие приводило к абляции нервных волокон ПА. Световой луч с длиной волны 1064 нм имеет низкое поглощение в воде, поэтому фотоны интенсивно рассеиваются, проникая глубоко в периваскулярную ткань и вызывая её нагрев, тогда как сам катетер не нагревается. Напротив, прозрачная или полупрозрачная ткань, такая как стенка артерии, не поглощает фотоны или поглощает только минимальное количество фотонов и, следовательно, меньше нагревается, и повреждение интимы маловероятно.

Кроме того, по сравнению с ультразвуковой абляцией с большой глубиной проникновения (до 10 мм), глубина повреждения при использовании лазерной энергии может быть легко ограничена с помощью изменения длины волны, так что глубина повреждения распространяется только на ту глубину, которая требуется для достижения нервных волокон ПА, и гарантирует, что нервы брюшной полости, таза или нижних конечностей не будут затронуты. Так, селективное повреждение тканей с использованием определенных длин волн лазерной энергии было исследовано ранее [62].

Дополнительные технологии, которые были протестированы для проведения денервации ПА, включают криоабляцию с использованием криокатетера Freezor Xtra (Cryocath, Medtronic Inc., США) [63] и использование микроволновой энергии с использованием орошаемого электрода [64]. Хотя альтернативные методы могут иметь преимущества по сравнению с РЧ энергией, включая большую глубину повреждения, отсутствие травматизации интимы ПА, необходима всесторонняя оценка их безопасности и эффективности их применения.

### **Лёгочная артериальная гипертензия**

Лёгочная артериальная гипертензия (ЛАГ) – патофизиологическое и гемодинамическое состояние, возникающее при ряде заболеваний и характеризующееся ремоделированием лёгочной артерии с гипертрофией меди, фиброзом интимы и адвентиции; сопровождающееся увеличением лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС), недостаточностью правого желудочка (ПЖ) и приводящее к преждевременной смерти.

Первоначальная концепция того, что ЛАГ в значительной степени обусловлена механизмами сужения просвета дистальных артериол ЛА, была дополнена множественными генетическими, эпигенетическими механизмами ремоделирования лёгочных сосудов [65]. Принято считать, что терапия ЛАГ должна быть направлена не только на снижение вазоконстрикции, но и на ремоделирование сосудов путем ингибирования пролиферативных и активации антипролиферативных механизмов [66]. Показано влияние симпатической нервной системы (СНС) и ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) на патогенез ЛАГ [20, 67].

В настоящее время активно изучаются подходы к снижению активности симпатической нервной системы (СНС) при ЛАГ, включая транскатетерную или хирургическую денервацию лёгочной артерии (ЛА) [68], электростимуляцию блуждающего нерва, а также денервацию ПА [69, 70].

Теоретически, течение ЛАГ может усугубляться гиперактивацией эфферентных симпатических нервов, что приводит к вазоконстрикции, задержке натрия и высвобождению ренина из юкстагломерулярных клеток и способствует выработке ангиотензина II и альдостерона. Таким образом, деактивация афферентных симпатических пучков почечных нервов может модулировать общую активность СНС и оказывать положительное гемодинамическое влияние при ЛАГ.

ЛАГ – гетерогенное заболевание, поэтому не существует единой животной модели, которая бы в точности воспроизводила бы данное заболевание. В настоящее время доступно несколько экспериментальных моделей для индукции ЛАГ. Каждая модель имеет свои особенности и позволяет исследовать конкретную гипотезу.

### **Экспериментальные модели лёгочной артериальной гипертензии**

Модель хронической гипоксии является одной из наиболее часто используемых для изучения патогенеза и лечения ЛАГ. Хроническая гипоксия может быть вызвана при понижении парциального давления кислорода во вдыхаемом воздухе в условиях разреженной атмосферы (гипобарическая

гипоксия) или воздуха с низким содержанием кислорода при нормальном атмосферном давлении [71]. Реакция на гипоксию различается у разных видов животных, что затрудняет перевод результатов исследований данной модели на течение ЛАГ у человека.

Также используется моделирование ЛАГ с использованием внутрисосудистого введения микросфер с целью эмболизации части микроциркуляторного русла малого круга кровообращения. Данная модель предназначена для изучения состояния хронической тромбоэмболии лёгочной артерии [72].

Хирургические модели ЛГ. Данные способы моделирования ЛГ предназначены для имитации увеличения нагрузки на правый желудочек. Используются два основных хирургических метода: сужение ЛА и наложение аортокавального анастомоза. Метод сужения ЛА заключается в наложении жгута, стягивающего ствол или основные ветви ЛА, что приводит к увеличению постнагрузки на ПЖ, и вызывает гипертрофию миокарда ПЖ. Аортокавальной анастомоз – это метод перегрузки объёмом, который демонстрирует аналогичную гипертрофию миокарда ПЖ. Основные недостатки хирургических методов моделирования ЛАГ связаны с тем, что они требуют большого опыта проведения подобных операций, также данные методы связаны с высоким процентом гибели животных [73]. Однако, несмотря на имеющиеся недостатки, применение данных моделей всё ещё распространено.

Модель ЛГ с использованием низкомолекулярного ингибитора рецептора-2 фактора роста эндотелия сосудов SU5416. Фактор роста эндотелия сосудов важен для нормальной функции эндотелиальных клеток; предполагается, что его блокада вызывает дисфункцию эндотелиальных клеток и провоцирует устойчивую к апоптозу пролиферацию эндотелиальных клеток, следовательно, индуцирует ЛАГ [74]. Действительно, модель с использованием SU5416 является одной из самых распространенных моделей для изучения как патогенеза, так и возможных способов лечения ЛГ. Ограничением модели с использованием SU5416 является отсутствие периваскулярного воспаления –

ключевой особенности течения ЛГ у человека.

В течение последних лет широко используется химическая модель ЛГ с использованием монокроталина. К преимуществам данной модели относится простота использования и низкая стоимость [75]. В недавних исследованиях было показано, что введение алкалоида монокроталина влияет как на лёгкие, так и на сердце, модулируя процессы, связанные с ремоделированием и воспалением лёгочных сосудов – двумя ключевыми патологическими особенностями течения ЛГ у человека.

Основным недостатком данной модели является то, что ответ на введение монокроталина отличается у разных видов животных. Наиболее распространённым видом животных, у которых используется модель с введением монокроталина, являются крысы, так как именно у них лучше всего развивается ответ на инъекцию препарата. Собаки и свиньи редко используются в данной модели [76, 77].

В нашем исследовании применялась модель транзиторной ЛАГ с использованием синтетического аналога тромбоксана А<sub>2</sub> (U46619). Гипоксическая модель ЛАГ индуцирует вазоконстрикцию посредством увеличения уровня эндотелина-1, серотонина и ингибирования потенциалзависимых калиевых каналов в гладкомышечных клетках. Основное преимущество использования U46619 заключается в том, что ЛАГ имеет транзиторный характер.

## ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

### 2.1 Дизайн исследования

В соответствии с поставленными задачами, в экспериментальном исследовании планировалось изучение гемодинамических эффектов ренальной денервации – влияние на системную и легочную гемодинамику в остром периоде у номотензивных субъектов; также планировалось отработка воспроизводимой модели легочной артериальной гипертензии на крупных животных – методика введения U46619 – синтетического аналога тромбоксана A<sub>2</sub>, для достижения целевого уровня среднего давления в легочной артерии; на сформированной модели ЛАГ – изучение острых гемодинамических эффектов ренальной денервации; а также изучение возможности применения альтернативной методики ренальной денервации – лазерной аблации с применением прототипа орошаемого фиброоптического катетера; в работе применялись методы гистологической оценки повреждений стенки почечных артерий, околосоудистых структур и периваскулярных нервов почечных артерий; данные об аблационном повреждении сопоставлялись в группах радиочастотной и лазерной аблации.

Применялась специализированная система радиочастотной аблации для денервации почечных артерий и прототип неуправляемого фиброоптического катетера. С точки зрения подхода к аблации мы следовали современной концепции – наиболее эффективной считается денервация, выполненная в дистальных разветвлениях почечной артерии и в ее основном стволе (таким способом ожидается повреждение максимального числа периваскулярных нервов). Также мы считали модель денервации на свиньях условно сопоставимой по техническим особенностям с таковой процедурой у людей.

Экспериментальные операции проводились в Центре доклинических и экспериментальных исследований (ЦДТИ) ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России в рентген-операционной, оснащенной передвижной

рентгеновской станцией, электрофизиологическим оборудованием и генераторами радиочастотного тока и лазерного излучения.

В экспериментальную работу было включено 34 свиньи породы ландрас возрастом около 3 месяцев (средний вес  $36,7 \pm 4,5$  кг). Животные закупались в фермерском хозяйстве (ООО «Агрохолдинг Пулковский», Санкт-Петербург, Россия) и имели все необходимые ветеринарные сертификаты. Карантинизация животных не проводилась, так как все эксперименты проводились в день поступления животных, а по окончании экспериментов животные выводились из исследования (подвергались эвтаназии).

В соответствии с целью исследования и сформулированными задачами работа состояла из 4 фаз: (I) исследование влияния расширенной денервации почечных артерий на системную гемодинамику и гемодинамику малого круга кровообращения – рандомизированное экспериментальное исследование в двух группах животных: группа расширенной билатеральной радиочастотной денервации ПА и группа контроля (ложнооперированная группа); (II) апробация модели транзиторной ЛАГ с использованием синтетического аналога тромбоксана А2: подбор доз и режима введения препарата для безопасной индукции гипертензии с целевым значением среднего давления в лёгочной артерии 40 мм. рт. ст.; (III) изучение влияния денервации почечных артерий на гемодинамику малого круга кровообращения при моделировании ЛАГ – рандомизированное экспериментальное исследование в двух группах животных: двукратное моделирование лёгочной гипертензии – до и после ренальной денервации в первой группе и моделирование до и после ложной процедуры – группа контроля; (IV) катетерная лазерная денервация ПА с оценкой микроскопических изменений стенки артерий и периваскулярных нервов.

Все этапы исследования были одобрены комиссией по контролю содержания и использования лабораторных животных (IACUC) ФГБУ «НМИЦ им. В.А. Алмазова» Минздрава России.

Работа выполнена в рамках гранта Министерства науки и высшего



образования №075-15-2020-800 «Разработка новых технологий профилактики и лечения сердечной недостаточности на основе нейромодуляции».

## 2.2 Описание фаз исследования

### Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных

#### Условия проведения эксперимента

Экспериментальные операции проводились на свиньях линии ландрас (вес животных составил от 35 до 42 кг). Экспериментальное исследование было одобрено Комитетом по контролю содержания и использования лабораторных животных (Номер протокола 19-12PZ#V1). Процедуры были острыми, то есть животные выводились из эксперимента в конце операции.

После рандомизации, животные были распределены на 2 группы: группа ренальной денервации (n=7) и группа контроля (n=6). Все процедуры выполнялись в экспериментальной операционной, оборудованной рентген аппаратом (BV Endura, Philips, Нидерланды).

Седация осуществлялась с помощью внутримышечного введения 1,5 мл раствора Золетила 100 (Virbac, Франция), после чего выполнялся периферический венозный доступ к подкожной ушной вене. Затем животных интубировали и проводили инвазивную вентиляцию лёгких (аппарат WATO EX-35, Mindray, Китай) со следующими параметрами:  $FiO_2$  – 0,3, дыхательный объём – 10 мл/кг, положительное давление конца выдоха – 6 см вод. ст. Поддержание анестезии осуществлялось с использованием 1% изофлюрана (Baxter, Пуэрто Рико). Объём циркулирующей крови поддерживался с помощью внутривенного введения раствора гелофузина (B. Braun, Германия) со скоростью введения 10 мл/кг/ч.

Выполнялась пункция и канюляция правой бедренной артерии и правой бедренной вены. В область бедренной вены устанавливался гемостатический интродьюсер диаметром 7 F (Avanti, Cordis, США). В правую бедренную артерию устанавливался длинный многоцелевой гемостатический интродьюсер

Preface (Biosense Webster, США) длиной 62 см и диаметром 8 F, который позиционировали в области брюшного отдела аорты под контролем флюороскопии. После установки сосудистых доступов внутривенно вводился раствор гепарина (B. Braun, Германия) в дозе 300 Ед/кг. Проводился контроль уровня АСТ каждые 30 минут, целевой уровень АСТ составлял 300 секунд.

Проводилась постоянная регистрация уровня инвазивного артериального давления. Температура тела поддерживалась на уровне 37<sup>0</sup>С с использованием термостатического одеяла (WarmTouch™, Medtronic, США), рисунок 8.



Рисунок 8 – Фотография хода эксперимента, этап пункционного доступа к бедренным сосудам

**Процедура высокочастотной электрической стимуляции почечных артерий**

С помощью диагностического катетера диаметром 6 F (PigTail, Cordis, Johnson and Johnson, США), введённого через многоцелевой интродьюсер Preface, выполнялось контрастирование брюшного отдела аорты и почечных артерий с использованием 20 мл контрастного вещества (Optiray 300, Guerbet, France).

Высокочастотная электрическая стимуляция ПА была предложена как метод выявления участков артерии с острым симпатическим ответом перед проведением радиочастотной абляции [78, 79, 80]. Наличие изменения уровня АД, вызванного высокочастотной электрической стимуляцией, до процедуры и отсутствие данной реакции после РД, рассматривалось как потенциальная конечная точка для процедур денервации. Для оценки возможных изменений уровня АД на высокочастотную электрическую стимуляцию ПА, диагностический катетер был заменен на управляемый электрофизиологический катетер (Celsius, Biosense Webster, США), который позиционировался в просвет ПА. Данный катетер был подключен к электрофизиологической системе Элкарт ("Электроимпульс", Томск, Россия). Выполнялась электрическая высокочастотная стимуляция с частотой 30 Гц (длительность импульса 1 мс, амплитуда 15 мА) стенок ПА не менее чем из 20 точек (по 10 точек в каждой артерии). Длительность стимуляции составляла 20 секунд. До, во время и после стимуляции ПА проводилась регистрация показателей гемодинамики.

Электрическая стимуляция определялась по помехам на поверхностной ЭКГ. Уровень артериального давления фиксировался на мониторе, регистрировались максимальные и минимальные показатели уровня АД в течение 60 секунд после начала электростимуляции, затем данные параметры усреднялись.

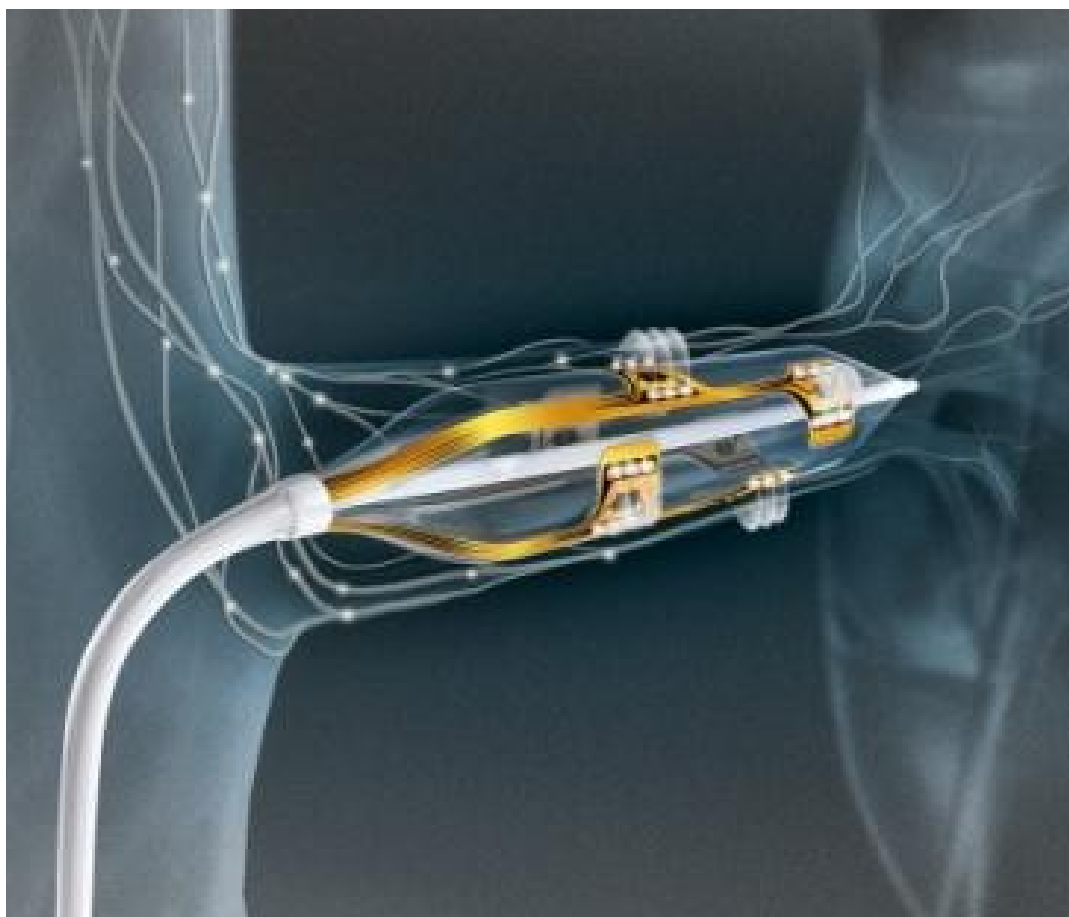
### **Процедура радиочастотной денервации почечных артерий**

После проведения высокочастотной электрической стимуляции электрофизиологический катетер заменяли на многоконтактный баллонный электрод для биполярной радиочастотной абляции Vessix (рисунки 9 и 10).

Абляционный катетер вводили в просвет ПА по проводнику РТ<sub>2</sub> 0,014 дюйма x 185 см (Boston Scientific, США). Перед проведением абляции в группе денервации или инфляции баллона в группе контроля, в просвет ПА вводили 0,1% раствор изосорбида динитрата (Isoket, EVER Pharma, Германия) в дозе 50 мкг. Инфляция баллонного катетера выполнялось с использованием разбавленного контрастного вещества при давлении 1-2 атм до полной окклюзии ПА, что подтверждалось введением контрастного вещества в просвет артерии.



Рисунок 9 – Генератор радиочастотной энергии Vessix [81]



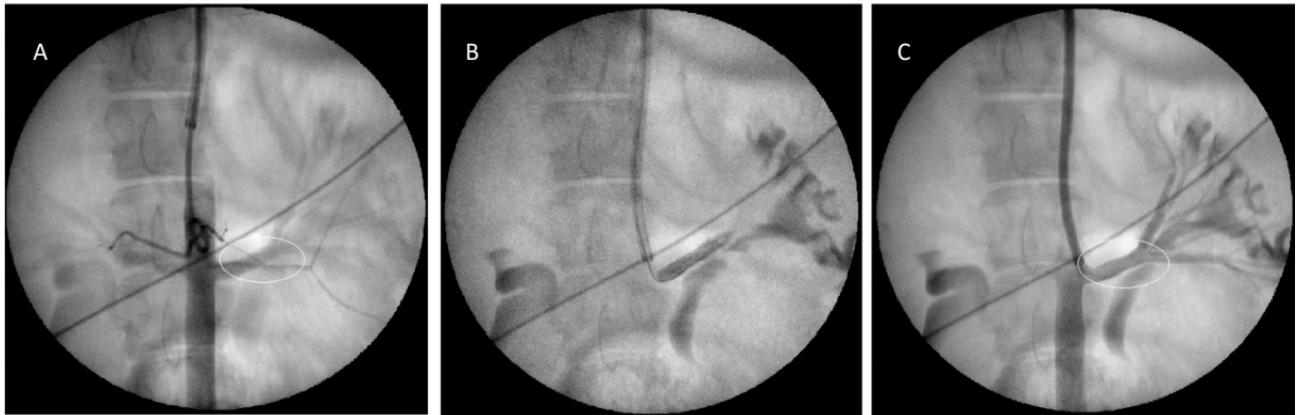
Схематическое изображение баллонного типа электрода при денервации левой почечной артерии

Рисунок 10 – Баллонный тип электрода для проведения радиочастотной РД [82]

В группе денервации абляция выполнялась во всех ветвях, а также стволе обеих ПА. Длительность радиочастотного воздействия составляла 30 секунд, температура 65-68<sup>0</sup>С, мощность автоматически контролировалась генератором радиочастотной энергии и составляла 0,5-1 Вт. После проведения денервации выполнялась высокочастотная электрическая стимуляция по протоколу, описанному выше.

В группе контроля полностью повторялся протокол операции, включая ангиографию, высокочастотную электростимуляцию, введение изосорбида динитрата, а также количество инфляций баллона и длительность окклюзии ПА. Однако не подавалась радиочастотная энергия.

В обеих группах в конце процедур выполнялась контрольная контрастная ангиография с целью выявления возможных изменений контура сосудистой стенки (рисунок 11).



Процедура денервации ПА. Панель А: ангиография брюшного отдела аорты и почечных артерий с использованием катетера «Pigtail». Панель В: инфляция баллона с полной окклюзией ствола левой ПА. Панель С: повторная контрастная ангиография левой ПА после проведения денервации. Выявлено небольшое сужение просвета ПА.

Рисунок 11 – Контрастная ангиография брюшного отдела аорты до и после денервации ПА

### **Измерение параметров гемодинамики**

После установки всех сосудистых доступов проводилась регистрация исходных параметров гемодинамики. Катетер Swan Ganz диаметром 6 F (Corodyn P2, B. Braun, Германия) через интродьюсер, установленный в бедренной вене, вводился в дистальную часть лёгочной артерии (ЛА) под контролем флюороскопии, после чего проводилось измерение давления заклинивания лёгочных капилляров (ДЗЛК). Измеряли давление в ЛА, правом желудочке (ПЖ) и правом предсердии (ДПП). Осуществлялся забор артериальной и венозной крови для оценки уровня SatO<sub>2</sub>. Анализ крови проводился с помощью портативного анализатора i-STAT (Abbott Laboratories, США). Показатель сердечного выброса (CO) рассчитывали с использованием уравнения Фика. Уровень лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС) и общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) рассчитывались

по следующим формулам: ЛСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срДЛА-ДЗЛК)/СВ; ОПСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срАД-ДПП)/СВ. После денервации ПА в группе РД и инфляции баллона в группе контроля были проведены повторные измерения параметров гемодинамики через 30 минут.

### **Патоморфологическое исследование**

В конце эксперимента проводилась эвтаназия животных с помощью внутривенного введения раствора калия хлорида (ОЗОН, Российская Федерация) в дозе 800 мг. После наступления биологической смерти осуществлялся забор почек и брюшного отдела аорты единым блоком. Препарат фиксировался в 10 % растворе забуференного формалина для дальнейшего макроскопического и гистологического исследований.

Гистологическое исследование проводилось по стандартным протоколам с использованием окрашивания парафиновых срезов гематоксилином и эозином. Для точной идентификации нервных структур использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к тирозингидроксилазе (ТН; антиген адренергических рецепторов симпатической нервной системы; Abscam, Великобритания). Морфометрический анализ проводился с использованием анализатора изображений LeicaApplicationSuite V 4.5.0 и LeicaScore (Германия).

### **Фаза II – моделирование транзиторной лёгочной артериальной гипертензии**

Экспериментальные исследования проводились на 7 нормотензивных свиньях породы ландрас (средняя масса тела 33,5±3,0 кг).

Седация осуществлялась с помощью внутримышечного введения 1,5 мл раствора Золетила 100 (Virbac, Франция), после чего выполнялся периферический венозный доступ к поверхностной ушной вене. Затем животных интубировали и проводили инвазивную вентиляцию лёгких (аппарат WATO EX-35, Mindray, Китай) со следующими параметрами: FiO<sub>2</sub> – 0,3,

дыхательный объём – 10 мл/кг, положительное давление конца выдоха – 6 см вод. ст. Поддержание анестезии осуществлялось с использованием 1% изофлюрана (Baxter, Пуэрто Рико). Объём циркулирующей крови поддерживался с помощью внутривенного введения раствора гелофузина (B. Braun, Германия) со скоростью введения 10 мл/кг/ч.

Выполнялась пункция и канюляция правой бедренной артерии, правой и левой бедренных вен. В бедренные вены и бедренную артерию устанавливались гемостатические интродьюсеры диаметром 6 и 7 F (Avanti, Cordis, США). После установки сосудистых доступов внутривенно вводился раствор гепарина (B. Braun, Германия) в дозе 300 Ед/кг. Проводился контроль уровня АСТ каждые 30 минут, целевой уровень АСТ составлял 300 секунд.

Проводилась постоянная регистрация уровня инвазивного артериального давления. Температура тела поддерживалась на уровне 37<sup>0</sup>С с использованием термостатического одеяла (WarmTouch™, Medtronic, США).

После выполнения сосудистых доступов проводилась регистрация исходных параметров гемодинамики. Катетер Swan Ganz диаметром 6 F (Cordis P2, B. Braun, Германия) через интродьюсер, установленный в бедренной вене вводился в дистальную часть лёгочной артерии (ЛА) под контролем флюороскопии, после чего проводилось измерение давления заклинивания лёгочных капилляров (ДЗЛК). Измеряли давление в ЛА, правом желудочке (ПЖ) и правом предсердии (ДПП). Осуществлялся забор артериальной и венозной крови для оценки уровня SatO<sub>2</sub>. Анализ крови проводился с помощью портативного анализатора i-STAT (Abbott Laboratories, США). Показатель сердечного выброса (CO) рассчитывали с использованием уравнения Фика. Уровень лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС) и общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) рассчитывались по следующим формулам: ЛСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срДЛА-ДЗЛК)/СВ; ОПСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срАД-ДПП)/СВ.

Транзиторная лёгочная артериальная гипертензия была индуцирована с использованием непрерывной внутривенной инфузии раствора синтетического



аналога тромбоксана А2 (U46619, Токрис, США) через левую бедренную вену. Каждые 5 минут доза U46619 увеличивалась до достижения целевого среднего давления в ЛА (срДЛА) 40 мм рт. ст. Показатели гемодинамики и газы крови регистрировались до инфузии U46619 и после её начала с записью каждые 5 минут непосредственно перед очередным увеличением дозировки U46619, а также по достижении устойчивого срДЛА 40 мм рт. ст. После достижения целевого уровня срДЛА инфузия U46619 останавливалась, регистрировалось время, требуемое для нормализации гемодинамики.

После завершения эксперимента все животные были подвергнуты эвтаназии с помощью внутривенного введения раствора калия хлорида (ОЗОН, Российская Федерация) в дозе 800 мг.

Работа выполнена с участием Гончаровой Натальи Сергеевны, Кондори Ивана Эбер Леонардо. Доля участия в работе Вахрушева Александра Дмитриевича составила 40 %.

### **Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации**

#### **Условия проведения эксперимента**

Экспериментальные исследования проводились на 10 нормотензивных свиньях породы ландрас. Эксперимент состоял из трёх основных этапов: первичная индукция ЛАГ; денервация почечных сосудов или ложная процедура, в зависимости от группы распределения; повторная индукция ЛАГ. Рандомизация в группы проводилась после первичной индукции ЛАГ. Седация осуществлялась с помощью внутримышечного введения 1,5 мл раствора Золетила 100 (Virbac, Франция), после чего выполнялся периферический венозный доступ к поверхностной ушной вене. Затем животных интубировали и проводили инвазивную вентиляцию лёгких (аппарат WATO EX-35, Mindray, Китай) со следующими параметрами:  $FiO_2$  – 0,3, дыхательный объём – 10 мл/кг, положительное давление конца выдоха – 6 см вод. ст. Поддержание анестезии осуществлялось с использованием 1% изофлюрана (Baxter, Пуэрто Рико). Объём циркулирующей крови поддерживался с помощью внутривенного

введения

Выполнялась пункция и канюляция правой бедренной артерии по направлению к правой и левой бедренным венам. В бедренные вены устанавливались гемостатические интродьюсеры диаметром 6 и 7 F (Avanti, Cordis, США), в правую бедренную артерию устанавливался длинный многоцелевой гемостатический интродьюсер Preface (Biosense Webster, США) длиной 62 см и диаметром 8 F, который позиционировали в области брюшного отдела аорты под контролем флюороскопии. После установки сосудистых доступов внутривенно вводился раствор гепарина (B. Braun, Германия) в дозе 300 Ед/кг. Проводился контроль уровня АСТ каждые 30 минут, целевой уровень АСТ составлял 300 секунд.

Проводилась постоянная регистрация уровня инвазивного артериального давления. Температура тела поддерживалась на уровне 37<sup>0</sup>С с использованием термостатического одеяла (WarmTouch™, Medtronic, США).

После установки всех сосудистых доступов проводилась регистрация исходных параметров гемодинамики. Катетер Swan Ganz диаметром 6 F (Cordyn P2, B. Braun, Германия) через интродьюсер, установленный в бедренной вене вводился в дистальную часть лёгочной артерии (ЛА) под контролем флюороскопии, после чего проводилось измерение давления заклинивания лёгочных капилляров (ДЗЛК). Измеряли давление в ЛА, правом желудочке (ПЖ) и правом предсердии (ДПП). Осуществлялся забор артериальной и венозной крови для оценки уровня SatO<sub>2</sub>. Анализ крови проводился с помощью портативного анализатора i-STAT (Abbott Laboratories, США). Показатель сердечного выброса (СО) рассчитывали с использованием уравнения Фика. Уровень лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС) и общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) рассчитывались по следующим формулам: ЛСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срДЛА-ДЗЛК)/СВ; ОПСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срАД-ДПП)/СВ.

### **Индукция транзиторной острой лёгочной артериальной гипертензии**

Индукция острой ЛАГ проводилась дважды: в начале

экспериментального исследования и после проведения денервации в группе РД или инфляции баллонного катетера в группе контроля с использованием U46619. Целевой уровень срДЛА составлял 40 мм рт. ст. Каждые 5 минут доза U46619 увеличивалась до достижения целевого среднего давления в ЛА (срДЛА) 40 мм рт. ст. Показатели гемодинамики и газы крови регистрировались до инфузии U46619 и после её начала с записью каждые 5 минут непосредственно перед очередным увеличением дозировки U46619, а также по достижении устойчивого срДЛА 40 мм рт. ст. После достижения целевого уровня срДЛА инфузия U46619 останавливалась, регистрировалось время, требуемое для нормализации гемодинамики.

Через 30 минут после проведения денервации в группе РД или инфляции баллона в группе контроля, проводилась повторная индукция транзиторной острой ЛАГ.

После первичной индукции ЛАГ проводилась рандомизация животных в одну из двух групп: группу ренальной денервации (n=5) и группу контроля (n=5).

### **Процедура радиочастотной денервации почечных артерий**

После нормализации гемодинамики в брюшной отдел аорты вводился многоконтактный баллонный электрод для биполярной радиочастотной абляции Vessix. Абляционный катетер вводили в просвет ПА по проводнику PT<sub>2</sub> 0,014 дюйма x 185 см. Перед проведением абляции в группе денервации или инфляции баллона в группе контроля в просвет ПА вводили 0,1% раствор изосорбида динитрата в дозе 50 мкг. Инфляция баллонного катетера выполнялось с использованием разбавленного контрастного вещества при давлении 1-2 атм до полной окклюзии ПА, что подтверждалось введением контрастного вещества в просвет артерии.

В группе денервации абляция выполнялась во всех ветвях, а также стволе обеих ПА. Длительность радиочастотного воздействия составляла 30 секунд, температура 65-68<sup>0</sup>С, мощность автоматически контролировалась генератором

радиочастотной энергии и составляла 0,5-1 Вт. После проведения денервации выполнялась высокочастотная электрическая стимуляция по протоколу, описанному выше.

### **Ложная процедура**

В группе контроля полностью повторялся протокол операции, включая ангиографию, высокочастотную электростимуляцию, введение изосорбида динитрата, а также количество инфляций баллона и длительность окклюзии ПА. Однако не подавалась радиочастотная энергия.

### **Измерение параметров гемодинамики**

Регистрация параметров гемодинамики проводилась до и после проведения денервации ПА в группе РД и инфляции баллона в группе контроля. Катетер Swan Ganz диаметром 6 F (Corodyn P2, B. Braun, Германия) через интродьюсер, установленный в бедренной вене, вводился в дистальную часть лёгочной артерии (ЛА) под контролем флюороскопии, после чего проводилось измерение давления заклинивания лёгочных капилляров (ДЗЛК). Измеряли давление в ЛА, правом желудочке (ПЖ) и правом предсердии (ДПП). Осуществлялся забор артериальной и венозной крови для оценки уровня SatO<sub>2</sub>. Анализ крови проводился с помощью портативного анализатора i-STAT (Abbott Laboratories, США). Показатель сердечного выброса (CO) рассчитывали с использованием уравнения Фика. Уровень лёгочного сосудистого сопротивления (ЛСС) и общего периферического сосудистого сопротивления (ОПСС) рассчитывались по следующим формулам: ЛСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срДЛА-ДЗЛК)/СВ; ОПСС (дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) = (срАД-ДПП)/СВ. Через 30 минут после денервации ПА в группе РД и инфляции баллона в группе контроля была проведена повторная индукция острой ЛАГ с измерением параметров гемодинамики.

### **Патоморфологическое исследование**

В конце эксперимента проводилась эвтаназия животных с помощью

внутривенного введения раствора калия хлорида (ОЗОН, Российская Федерация) в дозе 800 мг. После наступления биологической смерти осуществлялся забор почек и брюшного отдела аорты единым блоком. Препарат фиксировался в 10 % растворе забуференного формалина для дальнейшего макроскопического и гистологического исследований.

Гистологическое исследование проводилось по стандартным протоколам с использованием окрашивания парафиновых срезов гематоксилином и эозином. Для точной идентификации нервных структур использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к тирозингидроксилазе (ТН; антиген адренергических рецепторов симпатической нервной системы; Abcam, Великобритания). Морфометрический анализ проводился с использованием анализатора изображений LeicaApplicationSuite V 4.5.0 и LeicaScore (Германия).

#### **Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий**

##### **Условия проведения эксперимента**

Экспериментальные исследования проводились на 4 нормотензивных свиньях породы ландрас. Все процедуры и протоколы были рассмотрены и одобрены Комитетом по контролю содержания и использования лабораторных животных. В данной фазе исследования рандомизация животных на группы не проводилась.

Седация осуществлялась с помощью внутримышечного введения 1,5 мл раствора Золетила 100 (Virbac, Франция), после чего выполнялся периферический венозный доступ к поверхностной ушной вене. Затем животных интубировали и проводили инвазивную вентиляцию лёгких (аппарат WATO EX-35, Mindray, Китай) со следующими параметрами:  $FiO_2$  – 0,3, дыхательный объём – 10 мл/кг, положительное давление конца выдоха – 6 см вод. ст. Поддержание анестезии осуществлялось с использованием 1% изофлюрана (Baxter, Пуэрто Рико). Объём циркулирующей крови поддерживался с помощью внутривенного введения.

Выполнялась пункция и канюляция правой бедренной артерии. В правую бедренную артерию устанавливался длинный многоцелевой гемостатический интродьюсер Preface (Biosense Webster, США) длиной 62 см и диаметром 8 F, который позиционировали в области брюшного отдела аорты под контролем флюороскопии. После установки сосудистого доступа внутривенно вводился раствор гепарина (B. Braun, Германия) в дозе 300 Ед/кг. Проводился контроль уровня АСТ каждые 30 минут, целевое значение АСТ составляло 300 секунд.

Проводилась постоянная регистрация уровня инвазивного артериального давления. Температура тела поддерживалась на уровне 37<sup>0</sup>С с использованием термостатического одеяла (WarmTouch™, Medtronic, США).

### **Процедура лазерной денервации почечных артерий**

В брюшной отдел аорты под контролем флюороскопии вводили лазерный абляционный катетер (рисунки 12 и 13). Орошаемый фиброоптический катетер для лазерной абляции (Rhythmolas, LasCor GmbH, Taufkirchen, Германия) подключался к генератору лазерной энергии (Medilas D, Dornier Medtech, Wessling, Germany). Абляция проводилась с использованием лазерной энергии с непрерывным излучением длиной волны 1064 нм.

Абляционный катетер вводился в просвет ПА под флюороскопическим контролем. Лазерное воздействие осуществлялось с использованием мощности 10-20 Вт, продолжительностью 20 секунд, со скоростью орошения 40 мл/мин.

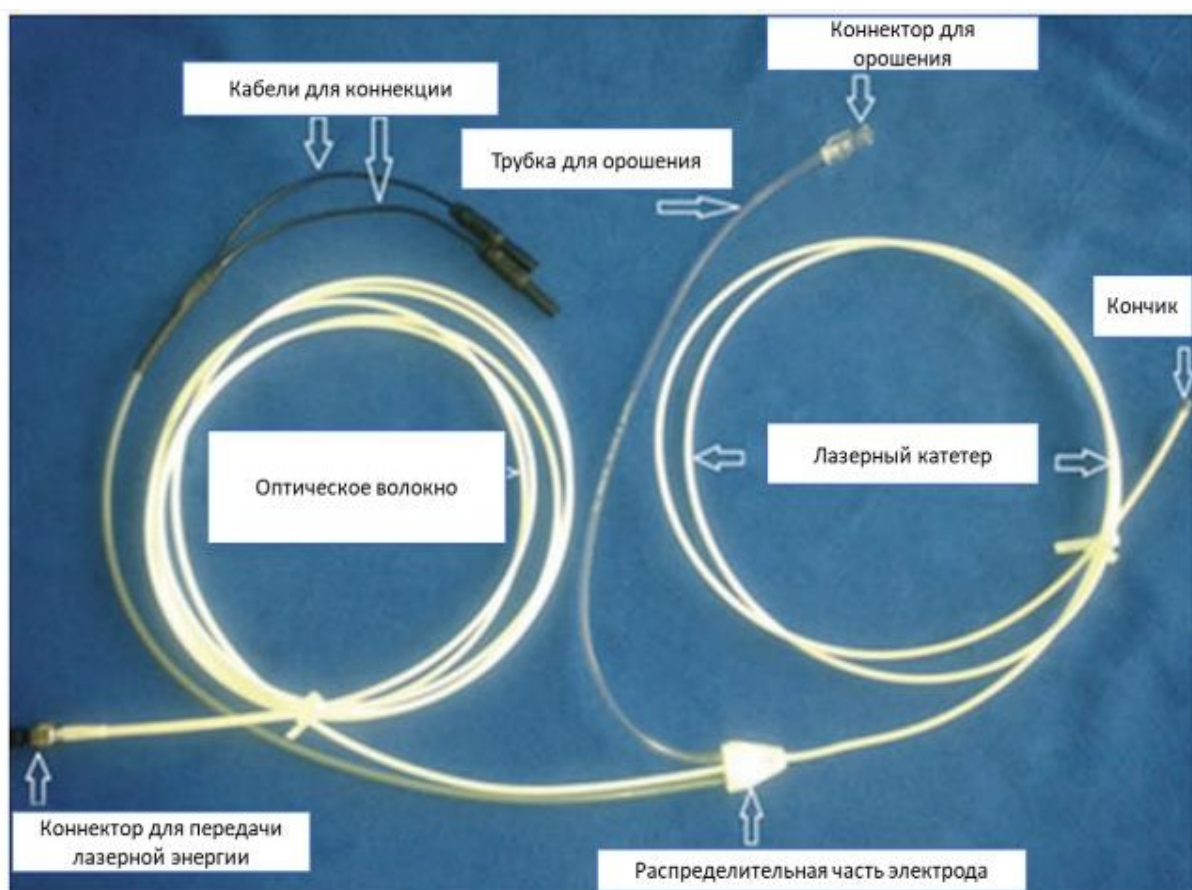


Рисунок 12 – Орошаемый фиброоптический электрод для лазерной абляции

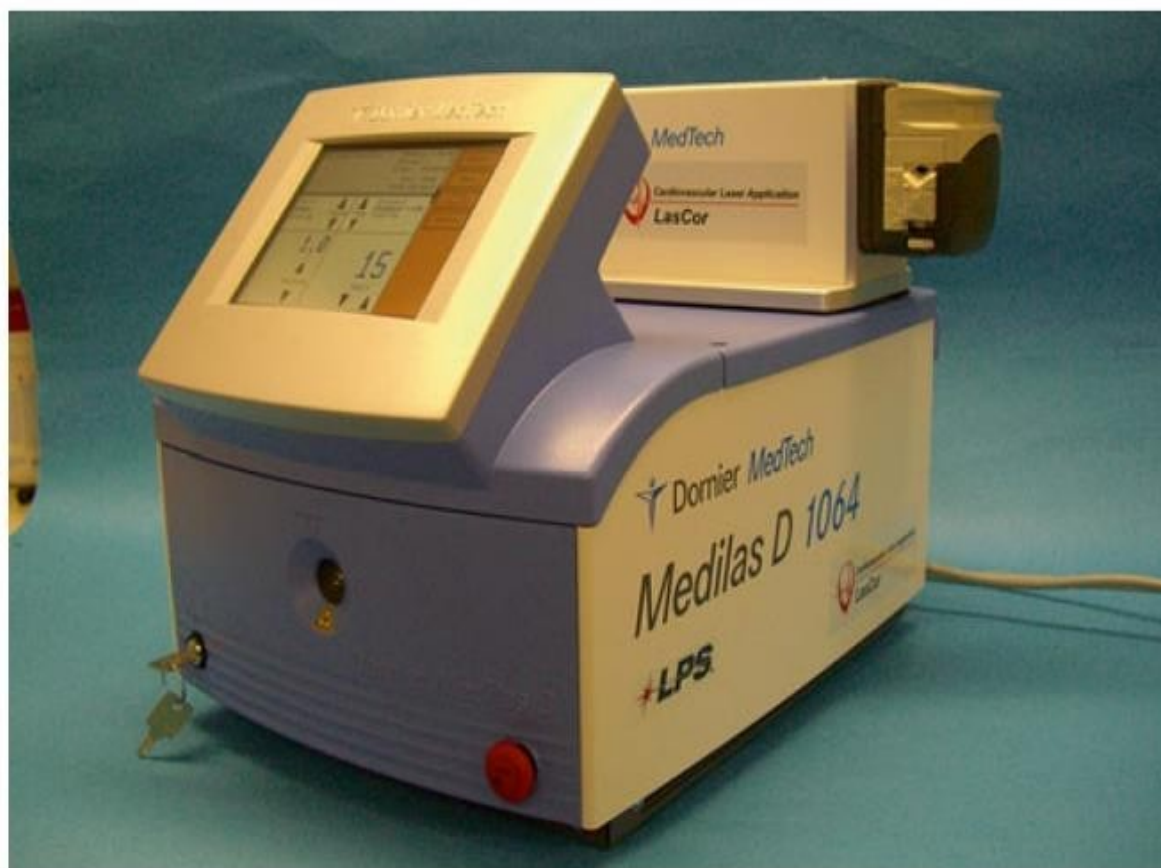


Рисунок 13 – Генератор лазерной энергии MediLas D 1064

### **Патоморфологическое исследование**

В конце эксперимента проводилась эвтаназия животных с помощью внутривенного введения раствора калия хлорида (ОЗОН, Российская Федерация) в дозе 800 мг. После наступления биологической смерти осуществлялся забор почек и брюшного отдела аорты единым блоком. Препарат фиксировался в 10 % растворе забуференного формалина для дальнейшего макроскопического и гистологического исследований.

Гистологическое исследование проводилось по стандартным протоколам с использованием окрашивания парафиновых срезов гематоксилином и эозином. Для точной идентификации нервных структур использовалось иммуногистохимическое исследование с антителами к тирозингидроксилазе (ТН; антиген адренергических рецепторов симпатической нервной системы; Abcam, Великобритания). Морфометрический анализ проводился с использованием анализатора изображений LeicaApplicationSuite V 4.5.0 и LeicaScore (Германия).

### **2. 3 Статистический анализ полученных данных**

База данных была создана в программе MS Excel. Статистический анализ проводился с использованием статистического пакета STATISTICA 12 (StatSoft Inc., Tulsa, Oklahoma, США).

Категориальные показатели представлены частотами и процентами от общего числа наблюдений. Количественные показатели проверялись на нормальность с помощью критерия Колмогорова-Смирнова. Данные описаны в виде среднего значения  $\pm$  стандартное отклонение ( $M \pm SD$ ) в случае нормального распределения; медианы и 25% и 75% квартилей – в случае ненормального распределения. Для анализа различий показателей с распределением, отличным от нормального, применялся тест Манна-Уитни или Вилкоксона, для показателей с нормальным распределением – t-критерий. Для категориальных переменных проводился анализ Хи-квадрат. Различия считались значимыми при значении  $P < 0,05$ . Расчет объема экспериментальной выборки проводился для каждой фазы исследования в отдельности с учетом



стремления к включению минимально возможного количества животных, в соответствии с рекомендациями «3-R» для исследований на животных [22].

Фаза I. Ранее не проводилось подобных исследований, поэтому расчёт выборки проводился на основании эмпирического предположения об эффекте ренальной денервации на лёгочную гемодинамику. Так, при мощности исследования 80% и значимости на уровне 5%, условия отсутствия отклонений гемодинамики в группе контроля и предполагаемых изменений гемодинамики у 60% животных в группе аблации, расчётное количество животных в каждой группе должно быть не менее 6. В связи с предполагаемой смертностью в ходе эксперимента, общий расчётный объём выборки животных составил 13 голов.

Фаза II. Расчёт выборки проводился с предположением, что результаты подбора необходимой дозы препарата (U46619) будут сопоставимы с предыдущими работами [83], а также с учётом возможной смерти животных во время эксперимента. Таким образом, группа индукции ЛАГ была сформирована из 7 животных.

Фаза III. С учётом результатов первой фазы исследования, мы предположили, что при мощности исследования 80% и значимости на уровне 5%, условия отсутствия отклонений гемодинамики в группе контроля и предполагаемых изменений гемодинамики у 70% животных в группе аблации, расчётное количество животных в каждой группе должно быть не менее 4. В связи с предполагаемой смертностью в ходе эксперимента, общий расчётный объём выборки животных составил 10 голов.

Фаза IV. При расчете выборки данной фазы исследования учитывался эксплоративный характер исследования и отсутствие предыдущих работ по лазерной аблации почечных артерий. Предполагалось, что лазерные аппликации будут наноситься в стволе каждой почечной артерии и в каждой основной ветви артерии (в типичных случаях – 2 основные ветви), то есть при билатеральной аблации – минимум 6 аппликаций на животное. Таким образом, включение 4 животных предполагало изучение как минимум 24 точек лазерных аппликаций.

## **ГЛАВА 3. СОБСТВЕННЫЕ МАТЕРИАЛЫ**

### **3.1 Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных**

Схема проведения экспериментов и количество животных, участвующих в этапах, представлены на рисунке 14.

#### **Параметры гемодинамики**

Данные, полученные у одного животного в группе расширенной РД, были изъяты из анализа, поскольку при повторной катетеризации была диагностирована массивная тромбоэмболия левой лёгочной артерии (ТЭЛА) с нестабильностью гемодинамики. Анализ параметров гемодинамики проводился на 12 животных, по 6 в каждой группе. Ангиографические характеристики ПА и количество точек РЧ аблаций в каждой артерии представлены в таблице 2.

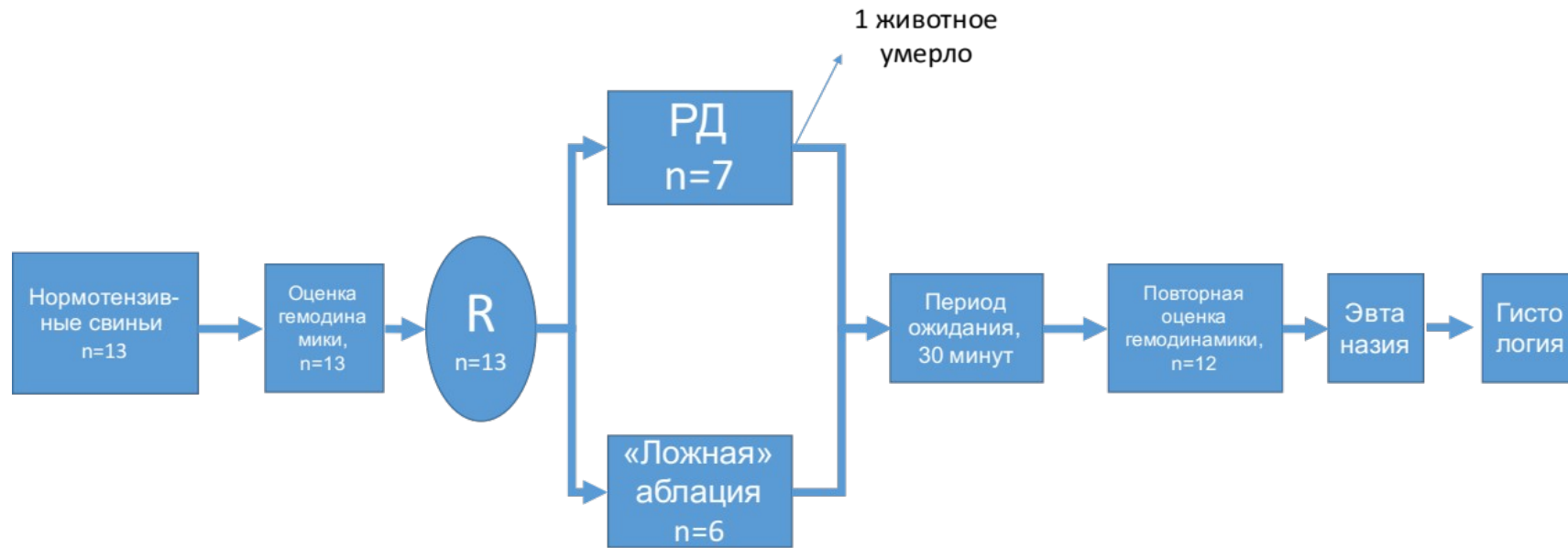


Рисунок 14 – Схема выполнения исследования в фазе I

Таблица 2 – Морфологические характеристики почечных артерий и количество точек радиочастотной абляции у каждого животного

№ животного	Группа	Диаметр ствола ПА, мм	Диаметр ветвей ПА, мм	Количество точек абляции
1	РД	4.1	2.9	22
2	РД	3.7	2.8	23
3	Контроль	4.0	2.9	–
4	РД	3.3	2.3	16
5	Контроль	3.7	2.6	–
6	РД	3.6	3.3	22
7	РД	3.9	2.8	22
8	Контроль	3.9	2.7	–
9	РД	4.9	3.8	23
10	Контроль	3.6	2.4	–
11	Контроль	4.2	2.8	–
12	РД	4.2	2.5	18
13	Контроль	3.9	2.8	–
	Всего	3.9±0.4	2.8±0.4	20,3±2,9

Изменения параметров гемодинамики в группе РД и группе контроля представлены в таблице 3.

При сравнении гемодинамических параметров между группами после

процедур (денервации или контроля, в соответствии с распределением) были выявлены статистически значимые различия следующих параметров: уровня систолического АД (сАД), среднего АД (срАД) и систолического давления в ПЖ (сПЖ) (таблица 3).

Также при сравнении параметров гемодинамики в группе РД до и после проведения аблации было выявлено статистически значимое снижение уровня диастолического давления в лёгочной артерии (дДЛА) ( $13,0 \pm 4,4$  против  $10,0 \pm 3,0$  мм рт. ст.;  $P=0,04$ ). У пяти из шести животных в группе расширенной денервации было выявлено значительное снижение уровня срАД. Был проведён анализ параметров гемодинамики данных животных. Было выявлено статистически значимое снижение средних показателей следующих параметров гемодинамики: уровня сАД по сравнению с исходными значениями ( $98,8 \pm 17,8$  против  $90,2 \pm 12,6$  мм.рт.ст.,  $P=0,04$ ), снижение срАД ( $74,2 \pm 14,2$  против  $65,2 \pm 10,6$  мм.рт.ст.,  $P=0,04$ ), и уровня лёгочно-сосудистого сопротивления (ЛСС) ( $291,0 \pm 77,4$  против  $228,5 \pm 63,8$  дин\*сек\*см<sup>-5</sup>,  $P=0,03$ ), см. рисунок № 15. В группе животных, которым выполнялась ложная процедура, не было выявлено изменений гемодинамики.

Общий средний объем кровопотери не различался между обеими группами и составлял от 30 до 40 мл.

Таблица 3 – Изменение параметров гемодинамики в группе ренальной денервации и группе контроля

Параметр	Группа расширенной РД, (N=6)		Группа контроля, sham (N=6)		Р, при сравнении и между подгрупп ами	Выборка животных, у которых было выявлено значительное снижение уровня срАД после аблации, дельта параметров: медиана [IQR], N=5	Р, выборка животных, у которых было выявлено значительное снижение уровня срАД после аблации, сравнение параметров до и после денервации N=5
	До проведения РД, (M±SD)	После проведения РД, (M±SD)	До проведения sham, (M±SD)	После проведения sham, (M±SD)			
ЧСС, уд/мин	116.7±15.1	118.2±21.8	95.8±11.7	102.2±19. 1	0.24	3 [-2; 12]	0.34
сАД, мм рт. ст.	97±16.5	90.8±11.4	88.3±7.5	93.2±8	0.03	-6 [-14; -6]	0.04
дАД, мм рт. ст.	60.3±11.6	56±8.2	54.5±6.4	60.2±6	0.05	-7 [-9; -4]	0.14
срАД, мм рт. ст.	72.7±13.2	66±9.6	65.7±6.4	71.2±6.6	0.04	-7 [-10; -6]	0.04
сДЛА, мм рт. ст.	19.5±4.3	18.3±5.2	15.7±4	15±3.4	0.24	-1 [-1; 0]	0.27
дДЛА, мм рт. ст.	13±4.4	10±3	11.8±3.8	10.7±2.4	0.82	-2 [-5; -1]	0.06

Продолжение таблицы 3

срДЛА, мм рт. ст.	15.1±4.1	13.3±2.9	13±3.9	12.2±2.9	0.48	-1 [-4; 0]	0.11
сПЖ, мм рт. ст.	18.5±6.6	19.3±5.2	13.8±4.3	13.3±3.1	0.04	-1 [-3; 3]	0.89
дПЖ, мм рт. ст.	5±2.6	4.5±2.6	6.5±3.3	6±1.3	0.48	0 [-1; 0]	0.18
срПЖ, мм рт. ст.	9.3±2.8	9.3±2.2	8.8±3.7	8.2±1.7	0.31	-1 [-1; -1]	0.22
ДЗЛК, мм рт. ст.	4.7±1.8	4±1.1	5±2.4	4.7±1.9	0.39	-1 [-2; 0]	0.47
ДПП, мм рт. ст.	3.8±2.7	2±1.7	4.4±2.4	3.2±1.6	0.24	-3 [-3; -2]	0.07
ОПСС, дин*сек*см-5	1747.7±726.1	1544.9±725.8	1113.4±520.3	1193.1±58.9.7	0.24	-252.9 [-591.7; 96.0]	0.22
ЛСС, дин*сек*см-5	261.9±99.3 <sup>†</sup>	215.1±65.9	136.9±58.5 <sup>†</sup>	133.7±86.3	0.06	-88.0 [-92.4; -36.5]	0.03
МОК, л/мин	3.6±1.5	3.7±1.2	5±1.8	5.4±2.3	0.24	0.2 [-0.3; 0.5]	0.68

ЧСС – частота сердечных сокращений, сАД – систолическое артериальное давление, дАД – диастолическое артериальное давление, срАД – среднее артериальное давление, сДЛА – систолическое давление в лёгочной артерии, дДЛА – диастолическое давление в лёгочной артерии, срДЛА – среднее давление в лёгочной артерии, сПЖ – систолическое давление в правом желудочке, дПЖ – диастолическое давление в правом желудочке, срПЖ – среднее давление в правом желудочке, ДЗЛК – давление заклинивания лёгочных капилляров, ДПП – давление в правом предсердии, ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление, ЛСС – лёгочное сосудистое сопротивление, МОК – минутный объём кровообращения

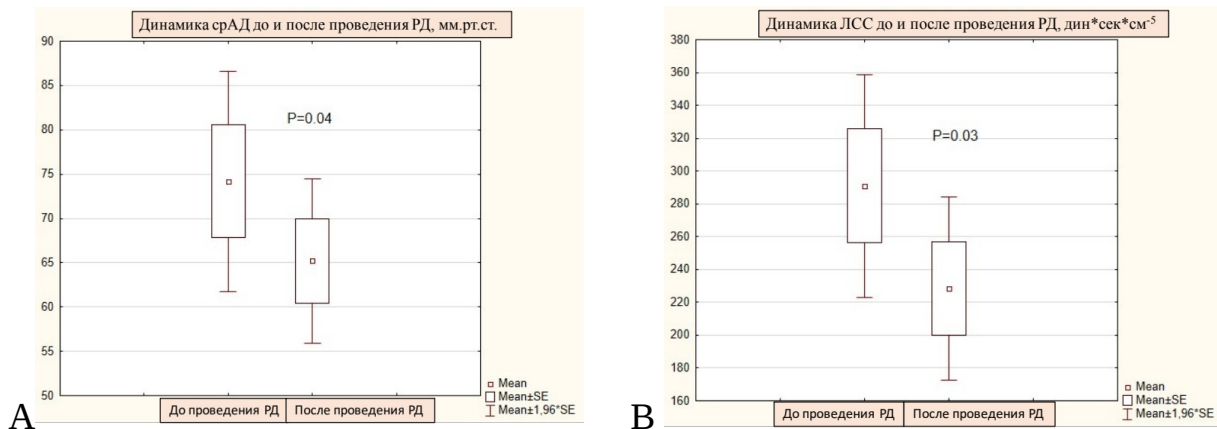


Рисунок 15 – Изменение параметров гемодинамики до и после проведения РД у пяти животных в группе денервации. Панель А: Уровень срАД до и после аблации. Панель В: уровень ЛСС до и после аблации. РД – ренальная денервация, ЛСС – лёгочно-сосудистое сопротивление.

### Высокочастотная электрическая стимуляция почечных артерий

По результатам исследования не было выявлено влияния стимуляции высокочастотной ПА на уровень АД или частоту сердечных сокращений (ЧСС) во время стимуляции и в течение 5 минут после стимуляции. Среднее сАД до и сразу после электрической стимуляции составило:  $104,0 \pm 14,2$  мм рт. ст. против  $103,7 \pm 12,6$  мм рт. ст., диастолическое АД (дАД) составило  $67,0 \pm 6,4$  мм рт. ст. против  $67,3 \pm 7,2$  мм рт. ст. ( $P > 0,05$ ). Среднее значение ЧСС составило  $107,7 \pm 10,5$  уд / мин и  $108,3 \pm 10,3$  уд / мин соответственно,  $P > 0,05$  (таблица 4). Никакой реакции АД на стимуляцию ПА после проведения РД отмечено не было.



Таблица 4 – Параметры гемодинамики у животных до и после высокочастотной электростимуляции почечных артерий

№	ЧСС до денервации и ПА, в мин.	ЧСС после денервации и ПА, в мин.	сАД до денервации ПА, мм рт. ст.	сАД после денервации ПА, мм рт. ст.	дАД до денервации ПА, мм рт. ст.	дАД после денервации ПА, мм рт. ст.
1	93	91	124	122	73	75
2	96	97	116	108	71	71
3	113	115	90	88	61	57
4	95	96	115	114	72	74
5	107	109	101	107	66	68
6	116	115	88	94	55	60
7	111	108	95	93	66	64
Всего	107,7 ± 10,5	108,3 ± 10,3	104,0 ± 14,2	103,7 ± 12,6	67,0 ± 6,4	67,3 ± 7,2

### 3.2 Фаза II – моделирование транзиторной лёгочной артериальной гипертензии

Титрация дозы U46619 до достижения целевого срДЛА осуществлялась с повышением дозировки на  $0,05 \text{ мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$  каждые 5 минут (0.05, 0.1, 0.15, 0.2  $\text{мкг} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ ).

Во время инфузии U46619 достигнуто целевое срДЛА при стабильной гемодинамике у свиней № 3, 4, 5, 6, 7. Во всей группе (n=7) инфузия U46619 сопровождалась достоверным приростом ЧСС, срАД, ДПП и срДЛА за счёт увеличения ЛСС ( $p = 0,021; 0,008; 0,008; 0,008; 0,02$ , соответственно, таблица 5). Не было зарегистрировано значимого изменения ДЗЛК и СВ.

Таблица 5 – Параметры гемодинамики при введении U46619

Параметр	До введения U46619	Введение U46619	P
ЧСС, уд/мин	$98 \pm 12$	$120 \pm 21$	0,036
срАД, мм рт. ст.	$65,0 \pm 6,4$	$81,8 \pm 11,8$	0,012
срДЛА, мм рт. ст.	$12,4 \pm 3,5$	$42,6 \pm 4,6$	0,012
ДЗЛК, мм рт. ст.	$4,5 \pm 2,1$	$6,4 \pm 3,5$	$p > 0,05$
SvO <sub>2</sub> , %	$78,9 \pm 7,6$	$74,6 \pm 12,6$	$p > 0,05$
ОПСС, $\text{дин} \cdot \text{сек} \cdot \text{см}^{-5}$	$1238 \pm 484$	$1707 \pm 709$	0,05
ЛСС, $\text{дин} \cdot \text{сек} \cdot \text{см}^{-5}$	$152,7 \pm 57,9$	$909 \pm 526$	0,012

У свиньи № 1 начальная скорость инфузии U46619 составляла  $0,1 \text{ мкг}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ . Затем её увеличили до  $0,2 \text{ мкг}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$ . Однако после двух минут инфузии U46619 со скоростью  $0,2 \text{ мкг}^{-1} \cdot \text{кг}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$  была зарегистрирована депрессия сегмента ST и инверсия зубца T на ЭКГ, и уровень срАД быстро снизился до 15 мм рт. ст., ЧСС снизилась со 116 до 73 ударов в минуту. В момент падения параметров гемодинамики, уровень срДЛА составлял 23 мм рт. ст. При рентгеноскопии было выявлено сильное снижение сократительной способности ПЖ. Инфузия U46619 была немедленно прекращена, и гемодинамические параметры стабилизировались после введения

фенилэфрина и адреналина (срАД 82 мм рт. ст.). При проведении контрастной пульмонографии не было выявлено признаков ТЭЛА. В связи с резким снижением уровня АД начальная доза дозы U46619 была модифицирована: увеличение на  $0,05 \text{ мкг}^{-1} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$  каждые 5 мин (0,05, 0,1, 0,15, 0,2  $\text{мкг}^{-1} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ ). Уровень АД регулировался внутривенным введением фенилэфрина. У свиньи № 1 уровень срДЛА 49 мм рт. ст. был достигнут на фоне инфузии U46619 в дозе  $0,2 \text{ мкг}^{-1} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$  и сопровождался увеличением ЧСС без изменения параметров ДЗЛК и ЛСС. Вскрытие выявило субэпикардальные кровоизлияния в ПЖ (рисунок 16). У других животных подобные изменения не были обнаружены.

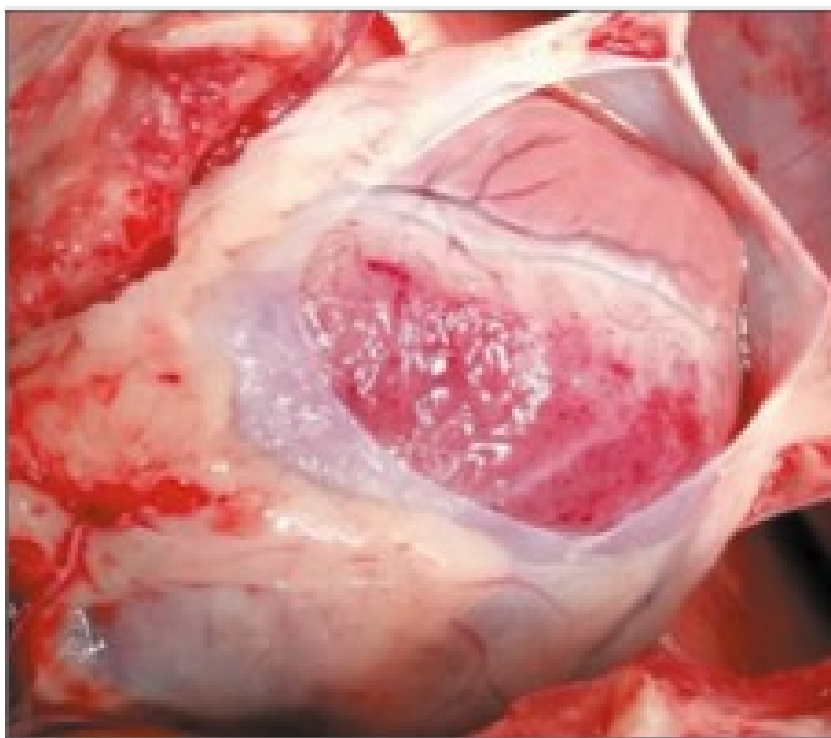


Рисунок 16 – Субэпикардальные кровоизлияния (2-3 мм) на поверхности правого желудочка, свинья № 1

У свиньи № 3, несмотря на то, что U46619 вводили в уменьшенной дозе ( $0,05, 0,1, 0,15, 0,2 \text{ мкг}^{-1} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ ), наблюдалось снижение уровня срАД до 39 мм рт. ст. (уровень срДЛА составлял 36 мм рт.ст.). У свиньи № 4 срАД также снизилось до 49 мм рт. ст. (уровень срДЛА составлял 23 мм рт. ст.); ЧСС снизилась до 83 ударов в минуту. В обоих случаях гемодинамические параметры были восстановлены после остановки инфузии U46619 и введения

фенилэфрина. Затем доза U46619 была уменьшена вдвое (0,025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.12, 0.15, 0.175  $\text{мкг}^{-1} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ ), и был достигнут целевой уровень срДЛА.

Не зарегистрировано значимых изменений уровня ДЗЛК и СВ. Наблюдались положительные корреляции между уровнем срДЛА и ЧСС ( $r=0,66$ ;  $t=2,38$ ;  $p=0,048$ ), и между показателями СВ и срАД ( $r=0,66$ ;  $t=2,36$ ;  $p=0,04$ ). Также были обнаружены отрицательные корреляции между показателями СВ и ЛСС ( $r=-0,98$ ;  $t=-14,3$ ;  $p<0,001$ ), и между срАД и ЛСС ( $r=-0,68$ ;  $t=2,47$ ;  $p=0,04$ ). Не было обнаружено корреляционных связей между срДЛА и ЧСС, СВ, срАД и ЛСС у животных с целевым срДЛА и стабильным системным АД (свиньи № 3-7) после введения самой низкой дозы U46619. После прекращения инфузии U46619 регистрировалось полное возвращение показателей гемодинамики к исходному уровню в среднем через 10-15 минут

Принимая во внимание изменение параметров гемодинамики, наблюдаемые при инфузии U46619 с использованием различных начальных доз, режимы введения препарата можно разделить на три группы: с высокой дозой – 0,1, 0,2  $\text{мкг} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ , с умеренной дозой — 0,05, 0,1, 0,15, 0,2  $\text{мкг}^{-1} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$  и с низкой дозой— 0,025, 0.05, 0.075, 0.1, 0.12, 0.15, 0.175  $\text{мкг} \times \text{кг}^{-1} \times \text{мин}^{-1}$ . Быстрое снижение АД наблюдалось у животных во время инфузии U46619 при высоких или умеренных дозах введения даже без достижения целевого срДЛА.

### **3.3 Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации**

Два из десяти животных умерли во время процедуры и были исключены из анализа, схема III фазы исследования представлена на рисунке 17. Одно животное умерло от острой ПЖ недостаточности со снижением уровня АД и депрессией сегмента ST на ЭКГ во время первого протокола индукции ЛАГ. Другая смерть наступила через 5 минут после денервации ПА: развилась полная атриовентрикулярная блокада с последующей асистолией, несмотря на электрокардиостимуляцию из ПЖ. В обоих случаях реанимационные мероприятия оказались безуспешными. В первом случае вскрытие выявило массивную ТЭЛА. Поэтому анализ данных был проведен на восьми животных (по четыре в каждой группе).

#### **Параметры гемодинамики**

Целевой уровень срДЛА был достигнут у всех восьми животных до и после ложной и РД процедур. Гемодинамические параметры в группе РД и группе контроля представлены в таблице № 6.

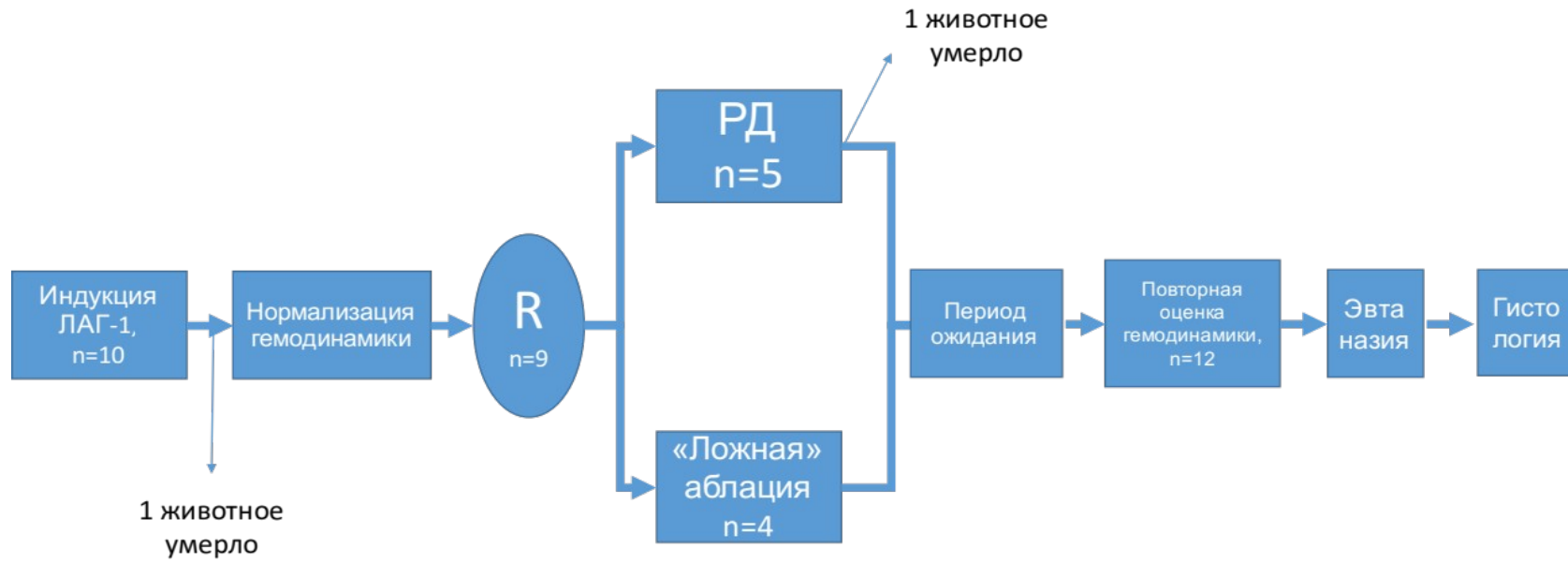


Рисунок 17 – Схема выполнения исследования в фазе III.

Таблица 6 – Параметры гемодинамики до и после проведения процедур с индукцией острой лёгочной артериальной гипертензии

Параметр	Группа расширенной РД, (N=4)				Группа контроля, (N=4)			
	Нормальная гемодинамика		Индукция острой ЛАГ		Нормальная гемодинамика		Индукция острой ЛАГ	
	До РД, этап 1	После РД, этап 2	До РД, этап 1	После РД, этап 2	До инфляции баллона, этап 1	После инфляции баллона, этап 2	До инфляции баллона, этап 1	После инфляции баллона, этап 2
ЧСС, уд/мин	82.5±1.6	90±18.4	101.7±21.1	105±18.8	98.75±9.1	102.25±1.9	110.25±8.2	115.75±14.9
сАД, мм рт. ст.	96±7.6	103.5±18.2	109.75±94.25	94.25±27.8	99.75±3.6	105.75±6.9	103±6.9	104±36.5
дАД, мм рт. ст.	64.5±2.1	65±10.5	80±26.3	63.75±14.2	53.25±3.7	59.25±8.1	61.5±3.4	62.25±24.3
срАД, мм рт. ст.	74.75±4.1	78±12.6	90.25±28.1	74±18.7	68.75±4.3	73±8.8	75.5±4.2	76±27.9
сДЛА, мм рт. ст.	18.5±3.3	20±2.6	48.25±9.6	47.5±6.2	17.25±2.6	15.75±2.9	44.25±2.5	42.75±0.9
дДЛА, мм рт. ст.	11.5±3.1	11.5±3	34.75±8.8	34.5±5.7	12.75±4.3	12.5±3	39±0.8	38±0.8
срДЛА, мм рт. ст.	14±2.9	14.5±3	40.5±7.3	39±5.3	14.5±4.1	13.5±3	41.25±1.25	39.75±0.5
ДЗЛК, мм рт. ст.	6±2.4	4.25±3	8.25±1	8.25±2.7	4.75±1.7	4.6±0.6	7±1.8	6.75±0.9
ДПП, мм рт. ст.	5.5±2.6	2.75±1.7	7.75±2.6	5.25±2.1	4±3.1	4.3±1.5	6.25±2.6	5.25±2.2
ОПСС, дин*сек*см-5	1424.1±559.8	1439.6±114.8	2433.7±1176.7	1995.3±494.3	1576.54±328.9	1657.1±356.1	2272.6±917.6	2373.7±692.8

Продолжение таблицы 6

ЛСС, дин*се к*см-5	161.9± 51.3	199.1± 47.7	1086.2± 361.8	978.8± 310.1	1086.2± 361.8	978.8± 310.1	1121.2± 456.3	1228.9± 524.3
--------------------------	----------------	----------------	------------------	-----------------	------------------	-----------------	------------------	------------------

При индукции острой ЛАГ до и после денервации ПА (этап 1 и этап 2) было отмечено статистически незначимое снижение уровня срАД ( $90,25 \pm 28,1$  против  $74 \pm 18,7$  мм рт. ст.,  $P = 0,28$ ). Также уровень ОПСС показал тенденцию к снижению ( $2433,7 \pm 1176,7$  против  $1995,3 \pm 494,3$  дин\*сек\*см<sup>-5</sup>) после денервации ПА на фоне острой ЛАГ, однако статистически незначимо ( $P = 0,46$ ). Не было выявлено статистически значимых изменений гемодинамических параметров в группе контроля до и после инфляции баллона. Не было статистически значимой разницы в дозах U46619 между группами ни при первоначальном введении, ни во время индукции ЛАГ после процедуры. В каждой группе дозы U46619 при первой и второй индукции ЛАГ были статистически эквивалентны (таблица 7).

Таблица 7 – Дозы и продолжительность введения U46619 до достижения целевого уровня среднего давления в лёгочной артерии

Показатель	Группа расширенной РД, (N=4)		P	Группа контроля (N=4)		P	P, между группами, до аблации или инфляции и баллона	P, между группами, после аблации или инфляции и баллона
	До РД	После РД		До инфляции и баллона	После инфляции и баллона			
Доза U46619, мкг/мин (средн±S D; median [IQR])	0.1±0.0 2 0.11 [0.08; 0.12]	0.09±0.0 1 0.1 [0.08; 0.1]	0.5 8	0.12±0.0 3 0.12 [0.09; 0.13]	0.11±0.0 4 0.875 [0.07; 0.13]	0.5 9	0.56	1.0
Доза U46619, мкг (средн±S D; median [IQR])	23.9±5. 1 25.1 [20.3; 27.5]	21.5±2.6 22.2 [19.9; 23.2]	0.4 6	22.6±6.2 22.84 [18.4; 26.8]	20.5±8.4 16.95 [15.2; 25.9]	0.5 9	0.66	0.47



Продолжение таблицы 7

Время достижени я целевого уровня срДЛА 40 мм.рт.ст (средн±SD; median [IQR])	17.5±2.9  17.5 [15; 20]	17.2±3.2  17.5 [14.5; 20]	0.79	16.7±6.7  19.0 [12.5; 21]	15.7±7.1  13.5 [11; 20.5]	0.71	0.88	0.56
--	----------------------------------	---------------------------------------	------	---------------------------------------	------------------------------------	------	------	------

### 3.4 Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий

Общее количество воздействий составило 28 у четырёх животных (7 [6,5; 7,5] на 1 животное; 3,5 [3; 4] в одной ПА). Параметры абляций с использованием лазерной энергии, а также выявленные осложнения представлены в таблице 8.

Проводился подбор оптимальной мощности и времени воздействия при лазерной абляции для более безопасной денервации. Так, выявлено, что уменьшение мощности воздействия с 20 до 10 Ватт при времени воздействия 20 секунд не приводит к уменьшению глубины повреждения ПА и повреждению околосоудистых структур (таблица 8).

Таблица 8 – Параметры абляций с использованием лазерной энергии, выявленные осложнения

№ животного	Мощность (Вт)	Время (сек)	Количество аппликаций		Повреждения интимы ПА		Повреждение паренхимы почки
			Правая ПА	Левая ПА	Правая ПА	Левая ПА	
1	20	20	3	3	1	2	1
2	20	20	4	3	2	1	1
3	10	20	3	4	1	1	0
4	10	20	4	4	1	0	0

На протяжении всего эксперимента не было зарегистрировано статистически значимых изменений параметров гемодинамики. У одного животного была зафиксирована индукция предсердной тахикардии с самостоятельным купированием через 2 минуты. Во время экспериментов систолическое и диастолическое АД составляло  $112 \pm 8,8$  и  $68 \pm 7,2$  мм рт. ст., соответственно. Диаметр ствола почечных артерий составлял  $4,1 \pm 0,4$  мм, и он не изменился после денервации ПА. При проведении контрольной ангиографии после лазерной абляции не было зафиксировано изменений контура ПА. Не было зарегистрировано спазма, сужения просвета или образования аневризмы после применения лазерной абляции.

### 3.5 Результаты патоморфологического исследования

#### Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных

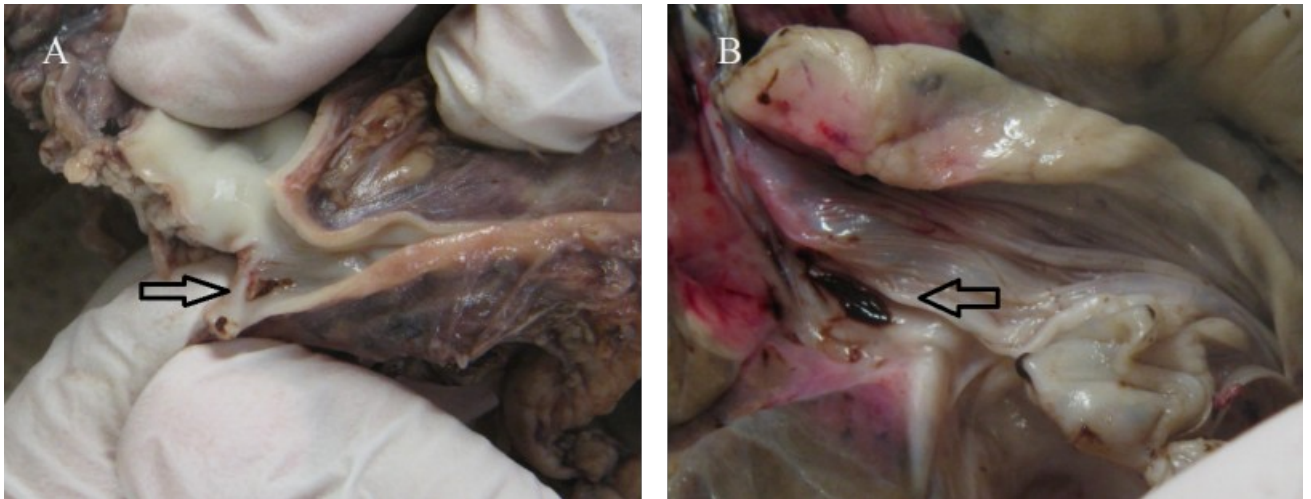
Выявлено значительно большее количество повреждений стенок ПА в группе РД ПА по сравнению с группой контроля. В общей сложности в группе РД было выявлено 23 диссекции интимы ПА (4 [2; 5] на 1 животное; 2 [1; 2,5] на 1 артерию: в стволе - 2 [1; 3] и в ветвях - 1,5 [1; 3],  $P > 0,05$ ). Пристеночные тромботические массы были идентифицированы на 9 срезах (1,5 [0; 3] на 1 животное). Выявлены один случай кровоизлияния в паренхиму почки и одна париетальная гематома ПА. Также выявлен один случай тотального тромбоза ствола левой ПА.

У 6 животных в группе контроля также были обнаружены поражения ПА: количество поражений стенок артерий было ниже, чем в группе РД: 5 диссекций интимы ПА (1 [1;1] на животное) и 3 тромба (1 [1;1] на животное).

Была выявлена положительная корреляционная связь между количеством точек РЧ аблаций и количеством диссекций интимы ПА ( $r=0,84$ ;  $P < 0,05$ ), а также между количеством точек РЧ аблаций и количеством тромбов ( $r=0,88$ ;  $P < 0,05$ ).

Форма диссекций интимы ПА также отличалась у животных между группами: точечные разрезы в группе контроля и более крупные, длиной до 5 мм, дефекты в группе РД. В группе РД тромботические массы были обнаружены в области дистальных ветвей ПА. У одного животного тромб полностью перекрыл просвет ПА. Пример макроскопически видимой диссекции и тромба ПА после проведения денервации ПА представлен на рисунке 18; диссекция стенки ПА: обнаруженное при микроскопии показано на рисунке 19.

Экспрессия ТН была определена в обеих группах во всех оцениваемых нервных волокнах, в 100% клеток. Уровень экспрессии ТН колебался от 3 до 4 баллов. При сравнении между группами не было выявлено различий экспрессии ТН.



Панель А – диссекция ствола почечной артерии (стрелка), панель В – тромб в области дистальной ветви почечной артерии.

Рисунок 18 – Пример макроскопической картины повреждений почечных артерий

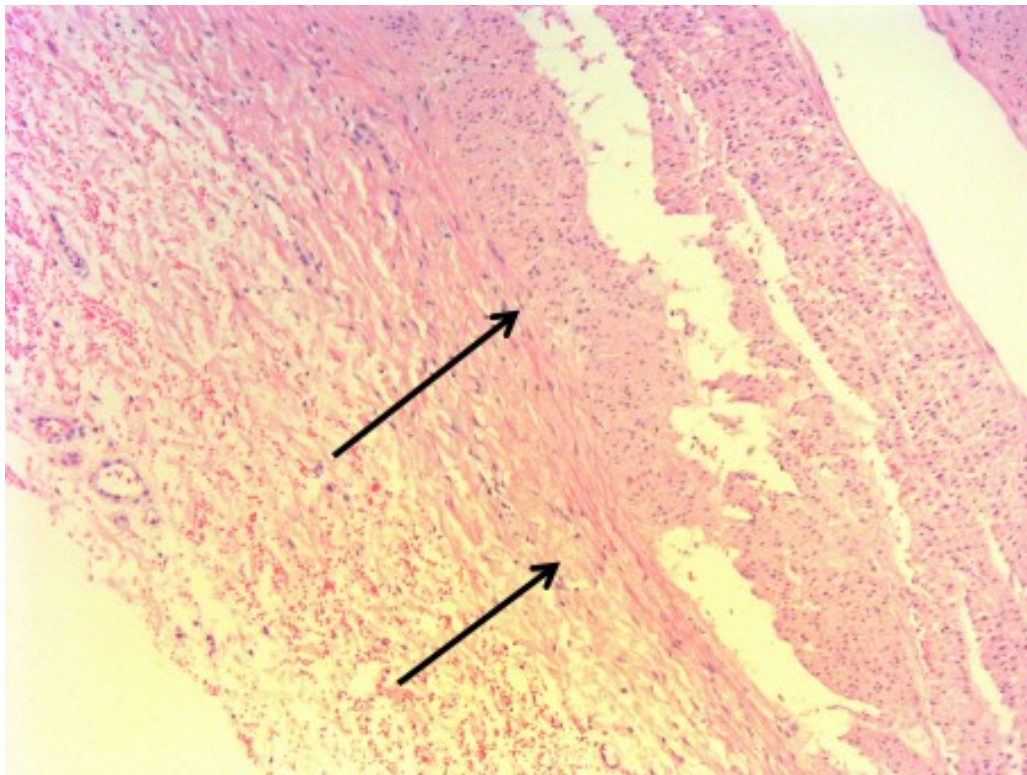


Рисунок 19 – Диссекция стенки почечной артерии при радиочастотной абляции (отмечена стрелками). Гематоксилин-эозин, x100

### **Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации**

В группе расширенной РД у животных с индуцированной острой ЛАГ фазы III исследования также было выявлено значительно большее количество диссекций ПА по сравнению с группой контроля: 17 в группе контроля (4 [3;4] на 1 животное) в группе расширенной РД и 3 (1 [1;1] на 1 животное),  $P < 0,05$ . Форма диссекций также была различной между группами: точечные разрезы в группе контроля и более крупные разрезы в группе расширенной РД длиной от 2 до 5 мм. В группе РД диссекции ПА сопровождались пристеночными тромбами с замещением мышечной оболочки сосуда в случае деструкции на всю глубину меди (рисунок 20).

В обеих группах была выявлена выраженная вакуольная дистрофия гладкомышечных клеток, неровный внутренний контур просвета сосуда, повышенная складчатость внутренней эластической мембраны, округлые ядра гладкомышечных клеток во внутреннем и наружном слоях, и вытянутые ядра в среднем слое меди, и периваскулярный грубоволокнистый фиброз.

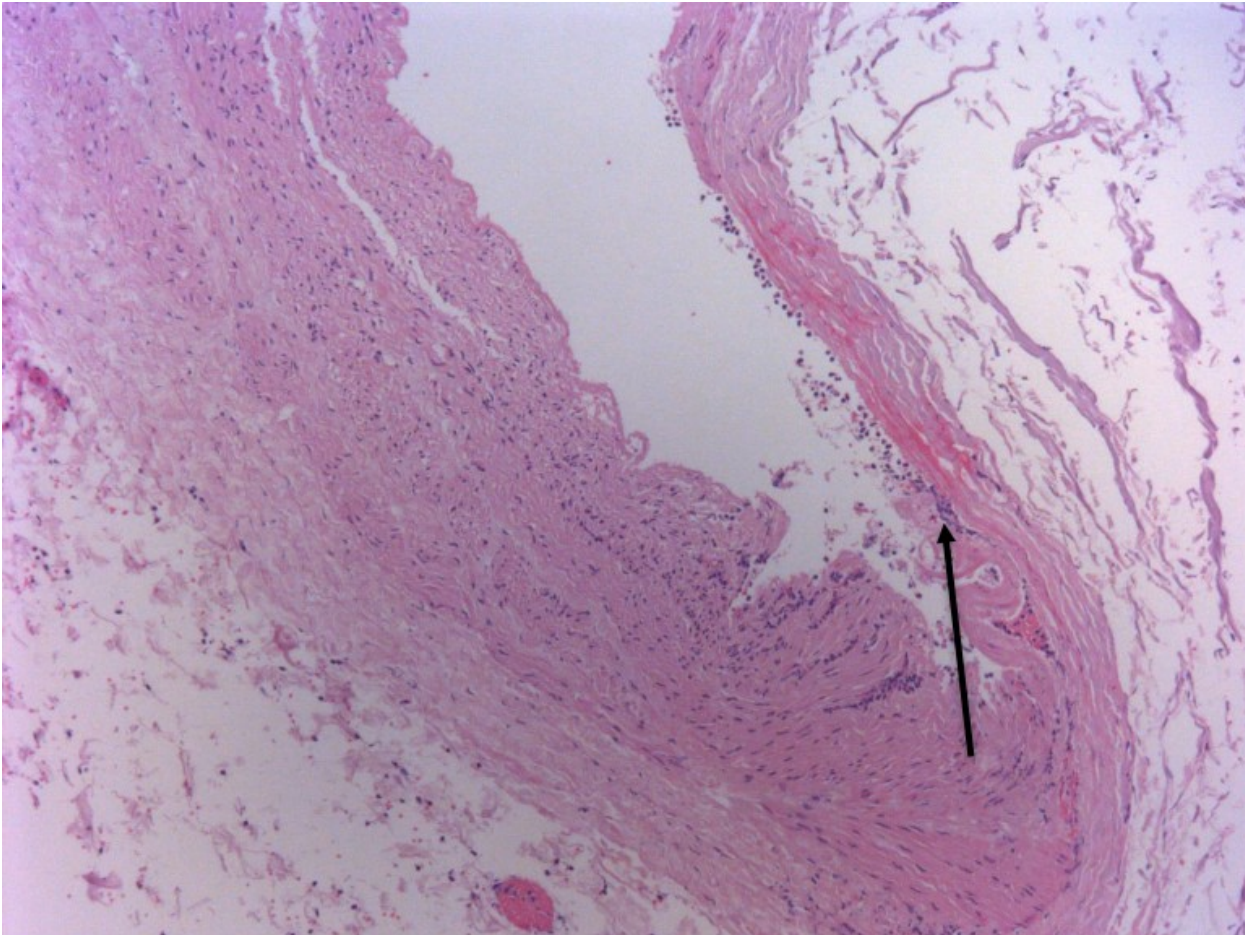


Рисунок 20 – Диссекция стенки почечной артерии с некрозом и замещением фибриновым тромбом меди (правая часть артерии)

#### **Фаза IV – лазерная катетерная абляция почечных артерий**

В группе лазерной абляции фазы IV исследования были выявлены диссекции ПА у всех животных (размер диссекций составлял от 2 до 5 мм), а также повреждение паренхимы почек у двух животных размерами 4x3 и 10x7 мм. (рисунок 21).





Рисунок 21 – Почка после лазерной абляции почечных артерий у свиньи №1 (мощность 20 Вт), некроз участка почки на разрезе (очаг указан стрелками)

На гистологическом уровне, кроме диссекций под острым углом к току крови, у всех 4 животных были выявлены перпендикулярные к току крови диссекции на всю толщину стенки (рисунок 22) с кровоизлияниями в адвентиции и периваскулярной жировой клетчатке. В одном случае также наблюдалась отслойка меди на 1/3 окружности сосуда с расслоением мышечных волокон.

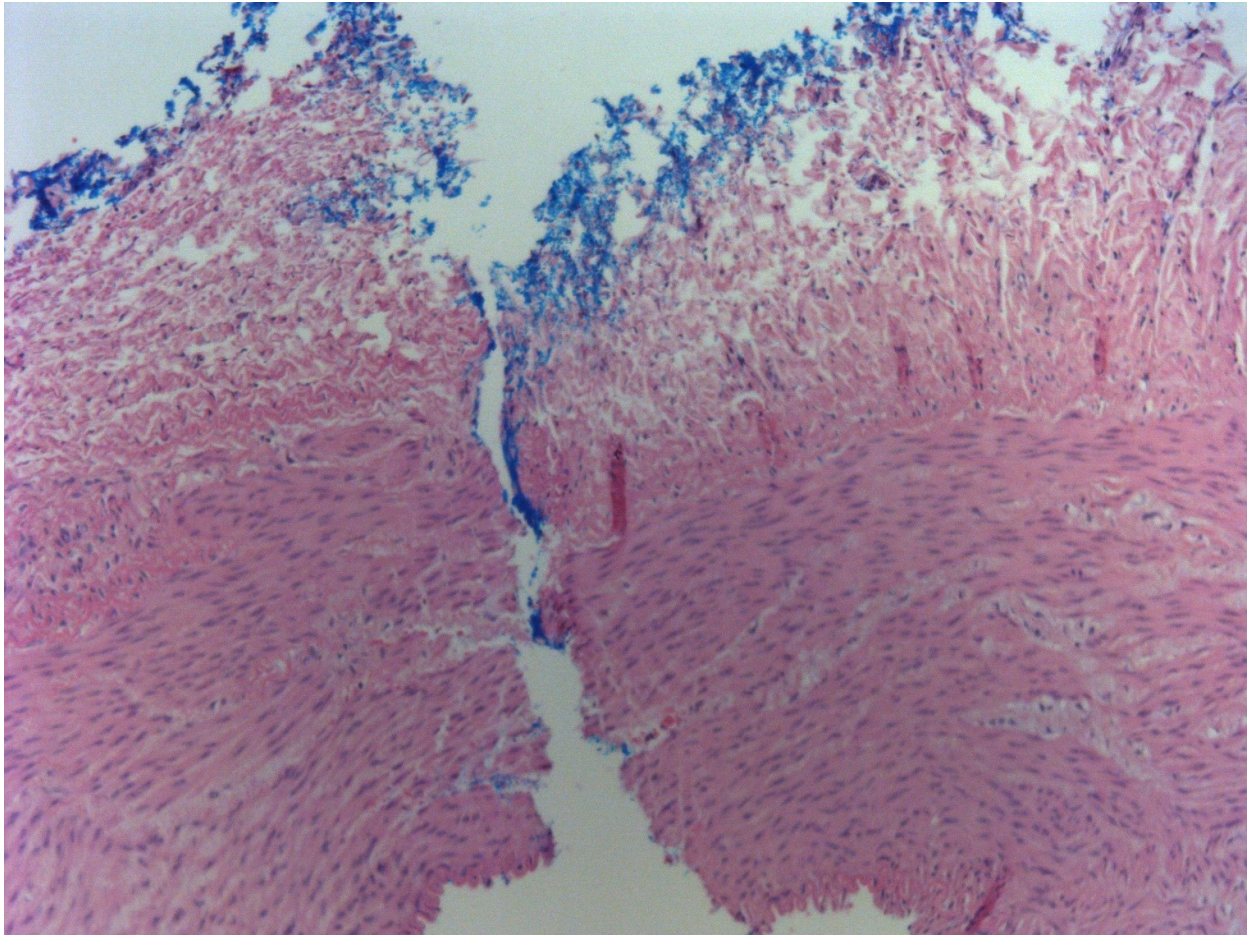


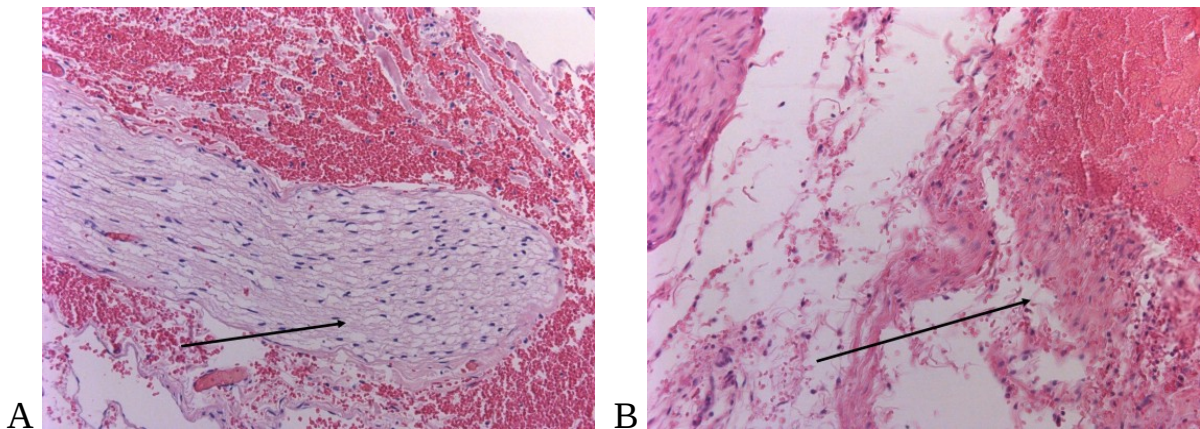
Рисунок 22 – Поперечная ходу сосуда диссекция стенки почечной артерии у свиньи №1 (мощность 20 Вт) (отмечены синим красителем). Гематоксилин-эозин, x100

Таким образом, при лазерной абляции отмечались следующие особенности морфологической картины почечной артерии: участки перпендикулярной ходу сосуда диссекции стенки, более глубокое повреждение адвентиции и периваскулярной жировой ткани, содержащей нервные волокна, а также отсутствие тромбов на эндотелиальной поверхности. Воздействия мощностью 10 Ватт не приводили к повреждению паренхимы почек при абляции в дистальных отделах ПА, однако наблюдался некроз периваскулярной жировой ткани.



### 3.6 Повреждение нервных волокон

При объединении групп животных фаз I и III исследования, было обнаружено, что доля повреждённых нервных волокон превалировала у животных с радиочастотной РД (n=11) в сравнении с теми, у кого выполнялась ложная процедура (n=10): 34% нервных волокон на препарат против 3%,  $P < 0.01$ . Пример неповреждённого и разрушенного нервных волокон представлен на рисунке 23 (панели А и В).



Панель А – неповрежденное нервное волокно в группе контроля. Панель В – разрушенное нервное волокно в группе расширенной ренальной денервации.

Рисунок 23 – Гистологическая оценка повреждения периваскулярных нервов  
Свиньи №5 и №12. Гематоксилин-эозин, 200x

Примечательно, что группе лазерной абляции фазы IV исследования в микропрепаратах не были выявлены повреждённые нервные волокна, что может объясняться мозаичностью повреждения и «непопаданием» поврежденных волокон в гистологические срезы в связи с особенностью забора материала. Однако повреждение адвентиции и периваскулярной клетчатки было выраженным и характеризовалось максимальной градацией изменений, соответствующей радиочастотной абляции.

## ГЛАВА 4. ОБСУЖДЕНИЕ ПОЛУЧЕННЫХ РЕЗУЛЬТАТОВ

### 4.1 Фаза I – расширенная ренальная денервация у нормотензивных животных

#### Параметры гемодинамики

Денервация ПА используется в качестве метода лечения пациентов с резистентной системной артериальной гипертензией. Долгосрочные клинические эффекты РД на АД были показаны в недавно опубликованных исследованиях, где основные эффекты РД были выявлены через несколько недель после проведения процедуры [11, 84, 85]. Острые эффекты РД на уровень системного АД были продемонстрированы в ряде клинических и экспериментальных исследований [86, 87, 88].

Мы предполагаем, что острые эффекты, полученные при проведении процедуры под общей анестезией, могут отличаться от тех, которые регистрируются при проведении процедуры под лёгкой седацией. В клинической практике при проведении радиочастотной абляции ПА, многие пациенты описывают сильную боль в поясничной области. Считается, что развитие боли связано с нагреванием адвентиции сосудов [89]. В клинической практике используются различные подходы к обезболиванию пациентов, например, введение опиоидов не менее чем за 2 минуты до радиочастотного воздействия и проведение комбинированной анестезии [90]. Применение общей анестезии в экспериментальных исследованиях позволяет стандартизировать условия и возможные изменения гемодинамики после проведения денервации.

В нашем исследовании все процедуры проводились в одинаковых условиях, а именно все животные были примерно одного возраста и схожих морфометрических показателей, проводилась общая анестезия с интубацией. Единственным отличием между группами является отсутствие подачи РЧ энергии в группах контроля.

Выявлено статистически значимое снижение уровня АД у пяти из шести животных в группе РД, что может быть объяснено неполной степенью

симпатической денервации ПА, которая зависит от распределения отдельных нервных волокон и анатомии ПА.

Острое влияние РД ПА на уровень ЛСС было выявлено у 5 из 6 свиней в группе РД и ни у одного из животных из контрольной группы.

Наши выводы о влиянии РД на лёгочную сосудистую сеть согласуются с предыдущей работой, демонстрирующей влияние денервации на ремоделирование лёгочных сосудов и стенки ПЖ в хронических экспериментах с индуцированной ЛАГ [19]. В данном исследовании показано, что ДЛА и давление в ПЖ при индуцированной ЛАГ были ниже у животных, которым выполнили РД ПА.

### **Высокочастотная электрическая стимуляция почечных артерий**

Электрическая стимуляция ПА была предложена в качестве метода определения эффективности процедуры денервации ПА [78, 79, 91]. Действительно, необходим точный метод обнаружения нервных волокон в стенке ПА для проведения более эффективной денервации ПА. Теоретически, электрическая стимуляция ПА в области расположения нервных волокон может вызвать симпатическую активацию с последующим повышением уровня АД. С другой стороны, эффективная денервация данных участков ПА привела бы к невоспроизводимости вызванных до РД реакций.

Мы не можем исключить разницу в протоколах электрической стимуляции между нашими и предыдущими исследованиями. Однако применение схожего протокола стимуляции было эффективно в качестве метода провокации вегетативных реакций при использовании в других крупных сосудах [92]. Мы предполагаем, что болевой синдром, развивающийся во время стимуляции ПА, может являться причиной повышения уровня АД. В нашем исследовании процедура проводилась под глубокой седацией и обезболиванием, исключая ощущение боли. Согласно нашим выводам, высокочастотная стимуляция ПА не вызывает повышения уровня АД до и после проведения РД.

### **Патоморфологическое исследование**

Повреждение сосудистой стенки и/или паренхимы почки было обнаружено у всех животных. Хотя диссекции интимы ПА были обнаружены в обеих группах экспериментальных животных, в группе РД было выявлено значительно большее количество диссекций по сравнению с группой контроля.

В предыдущих исследованиях сравнивалась безопасность специализированных и неспециализированных систем для денервации ПА [93]. Было показано, что повреждение как стенок ПА, так и почечных нервов было значительно большим в группе, где использовалась специализированная многоэлектродная система для денервации ПА. Однако использование ни одного из электродов не привело к полному разрушению почечных нервов. Мы предполагаем, что значительное повреждение стенок ПА в нашем исследовании может быть связано с использованием системы баллонной абляции, разработанной для применения у людей. Поэтому мы не можем исключить перерастяжение стенок ПА, которое в сочетании с нанесением радиочастотного воздействия предрасполагает к повреждению сосудистой стенки.

Мы не обнаружили различий в экспрессии ТН между группами животных. Данный вывод согласуется с опубликованной работой, показывающей, что в остром эксперименте сразу после проведения РД не может быть обнаружено значительного снижения экспрессии ТН. Это может быть объяснено замедленной дегенерацией аксонов в некротизированных нервах [94]. В данном исследовании показано, что уровень экспрессии ТН не может отражать эффективность РД в острой фазе.

### **4.2 Фаза II – моделирование транзиторной лёгочной артериальной гипертензии**

При моделировании ЛАГ с использованием U46619, даже при умеренной дозе введения, происходит резкое повышение срДЛА, что приводит к значительной перегрузке ПЖ. Постнагрузка ПЖ приводит к нарушению фазы

изоволюмического расслабления и желудочковой диссинхронии, отрицательно влияющей на наполнение левого желудочка [95]. Самый низкий уровень СВ, сопровождающийся снижением срАД, наблюдался у животных с самым высоким уровнем ЛСС, что указывает на развитие острой правожелудочковой недостаточности при высоких и средних дозах U46619.

Также нельзя исключать наличие прямого кардиодепрессивного эффекта высоких доз U46619, опосредованного активацией тромбоксановых рецепторов в миокарде [96, 97]. При самой низкой дозе введения U46619 целевой уровень срДЛА был достигнут у пяти животных с более низким уровнем ЛСС без снижения уровня АД и изменений на ЭКГ. Не было выявлено индивидуальных различий гемодинамических реакций при использовании равномерного режима титрования, начиная с низких доз U46619. В предыдущем исследовании [95] показаны различия реакции АД при индукции ЛАГ с помощью U46619, которые объяснялись индивидуальной способностью увеличивать кровоток в правой коронарной артерии и, следовательно, увеличивать сократительную способность миокарда ПЖ. Различия в гемодинамических реакциях, индуцированных U46619, могут быть связаны с различиями в экспрессии рецептора тромбоксана в миокарде и сосудах [98]. Однако в настоящем исследовании тяжесть и частота развития артериальной гипотензии зависели исключительно от дозы введения U46619.

#### **4.3 Фаза III – индукция лёгочной артериальной гипертензии до и после расширенной ренальной денервации**

##### **Параметры гемодинамики**

В данном экспериментальном исследовании не было выявлено изменения дозы U46619 после денервации ПА, необходимой для достижения целевого уровня срДЛА 40 мм рт. ст. Среднее время инфузии U46619 до достижения целевого срДЛА также не отличалось между группой РД и группой контроля. Таким образом, основной вывод данного исследования заключается в том, что денервация ПА не оказывает существенного влияния на гемодинамические

параметры при U46619-индуцированной острой ЛАГ. Однако наблюдалась тенденция к снижению уровня АД после РД при повторной индукции ЛАГ, разница была статистически незначимой.

Наше предположение, что симпатическая денервация ПА может влиять на индуцируемость острой ЛАГ на модели животных, не было подтверждено в данном экспериментальном исследовании. Это может быть объяснено двумя предположениями. Во-первых, модель с использованием U46619 для индукции ЛАГ не подходит для нашей работы, так как U46619 является прямым сосудосуживающим агентом, и его эффект не может быть ослаблен вегетативным нервным тонусом. Во-вторых, патогенез острой ЛАГ может быть не связан с симпатической активностью на животной модели. Дизайн нашего исследования не включал долгосрочную оценку влияния денервации ПА на лёгочную гемодинамику. Влияние процедуры денервации ПА на индуцируемость ЛАГ должно быть оценено в дальнейших хронических экспериментальных исследованиях.

В недавно опубликованной работе было показано, что влияние РД у нормотензивных свиней приводит к быстрому и значительному снижению уровня АД и ЛСС [99]. Полученные ранее результаты не были подтверждены в настоящем исследовании. Одной из потенциальных причин расходящихся результатов является возможное пролонгированное действие U46619 на лёгочную гемодинамику из-за периферической вазоконстрикции. Так, первоначальное введение U46619 может спровоцировать компенсаторные механизмы регуляции лёгочной гемодинамики. Следовательно, при повторной индукции ЛАГ не было выявлено снижения требуемой дозы для достижения целевого уровня срДЛА.

У одного животного посмертно была выявлена массивная ТЭЛА, возможно, связанная с инфузией U46619. Тромбогенный эффект U46619, несмотря на адекватную антикоагулянтную терапию, может быть причиной развития данного осложнения, как показано в предыдущих работах [100].

### **Патоморфологическое исследование**

Повреждение интимы сосудистой стенки ПА было выявлено у всех животных в группе РД и у двух животных в группе контроля, что свидетельствует о том, что инфляция баллонного аблационного катетера была выполнена в обеих группах. Данные результаты подтверждают предыдущие, полученные у нормотензивных животных, где повреждение стенки ПА было обнаружено в обеих группах, а именно, в группе РД и группе контроля [99]. В данной фазе исследования был использован тот же аблационный электрод, что и в фазе I исследования. Характеристики поражения стенок ПА совпадают с выявленными в предыдущей фазе исследования. При проведении контрольной контрастной ангиографии после денервации ПА не было выявлено изменений контуров сосудистой стенки. Таким образом, микротравма интимы ПА не визуализируется при контрастной ангиографии, но может быть обнаружена при макроскопическом и микроскопическом исследовании ПА.

Повреждение нервных волокон ПА было обнаружено у всех животных из группы РД. Хотя денервация затронула не все нервные волокна, процент поврежденной ткани был аналогичен показателям в предыдущих публикациях [101]. Также показано, что при проведении дистальной денервации ПА, как в нашем исследовании, регистрируется снижение выделения норадреналина в почечных венах [102].

В предыдущих исследованиях на грызунах было показано положительное влияние денервации ПА на индуцированную ЛАГ на модели с использованием монокроталина. Таким образом, Liu и др. обнаружили, что проведение РД значительно снижает активацию ренин-ангиотензин-альдостероновой системы (РААС) и значительно улучшает выживаемость экспериментальных животных [21]. Также в другом исследовании, da Silva Goncalves и др., в котором были использованы монокроталин и SU5416 для индукции острой ЛАГ, показано, что денервация ПА замедляла прогрессирование ЛАГ, снижала постнагрузку ПЖ и замедляла ремоделирование лёгочных сосудов, а также снижала диастолическую жёсткость, гипертрофию и фиброз ПЖ. Эти положительные

эффекты были связаны с подавлением РААС [103]. В экспериментальной модели ЛАГ у собак, индуцированной инъекцией дегидромонокроталина, денервация ПА замедляла ремоделирование лёгочных сосудов и снижала давление в лёгочной артерии [19]. Мы предполагаем, что отличия результатов нашего исследования от результатов, полученных ранее и демонстрирующих положительное влияние денервации ПА на течение ЛАГ, объясняется тем, что были использованы разные модели индукции ЛАГ, а также различиями иннервации ПА у разных видов животных [104, 105].

#### **4.4 Фаза IV – лазерная катетерная аблация почечных артерий**

Теоретически, лазерный луч длиной волны 1064 нм избирательно поглощается чувствительными компонентами тканей, такими как миоглобин, гемоглобин, а также клеточными компонентами, такими как рибосомы и органеллы клеток (ядро, митохондрии, эндоплазматический ретикулум, аппарат Гольджи), тем самым генерируя тепло. Лазер избирательно повреждает нервы, но также может вызывать избирательный апоптоз в нервных волокнах [106]. В нашем исследовании данный тезис не был подтверждён. В группе животных данной фазы исследования выявлено более выраженное повреждение стенки ПА по сравнению с радиочастотной денервацией ПА, однако, по результатам гистологического исследования, не было выявлено повреждённых нервных волокон в препаратах ПА. Мы предполагаем, что это может объясняться особенностью забора материала для проведения микроскопии. Так как характер повреждения при лазерной аблации был более выражен, чем при РЧ аблации, мы предполагаем, что и повреждения нервных волокон должны быть более выражены при лазерном воздействии. В дальнейших исследованиях будет более подробно изучаться характер лазерного повреждения периваскулярных нервов.

Орошение катетера является обязательным условием при катетерной лазерной аблации. Оно необходимо для постоянного очищения кончика катетера и создания «прозрачного пути» для лазерного луча, направленного на внутреннюю поверхность артерии, а также для предотвращения проникновения крови во внутренний просвет катетера, что может повлечь разрушение



оптоволоконна.

Данное исследование является пилотным. Отработана мощность и время воздействия с использованием лазерной энергии для нанесения наиболее безопасного воздействия.

Дизайн исследования не предполагал изучение эффектов лазерной денервации ПА на параметры гемодинамики большого и малого кругов кровообращения.

### **Ограничения исследования**

Данные экспериментальные исследования были острыми, хронической оценки влияния денервации ПА на гемодинамику большого и малого кругов кровообращения не проводилось.

Ещё одним ограничением этого исследования является небольшой размер выборки животных, на которых проводились экспериментальные исследования. Необходимо отметить, что данное исследование является эксплоративным и показывает влияние денервации ПА на гемодинамику как большого, так и малого кругов кровообращения у животных в экспериментальной операционной. Однако рандомизированный дизайн исследования с ложными процедурами в группах контроля, проведение процедуры в стандартизированных условиях позволяют сформулировать убедительные выводы.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

У нормотензивных свиней расширенная ренальная денервация приводит в большинстве случаев к быстрому и значительному снижению артериального давления и лёгочного сосудистого сопротивления. В то же время, не наблюдается существенной динамики общего периферического сосудистого сопротивления. Расширенная ренальная денервация часто ассоциирована с диссекцией стенки почечных артерий и образованием пристеночных тромбов.

Инфузия U46619 позволяет моделировать контролируемое стабильное и полностью обратимое повышение давления в лёгочной артерии за счёт значительного увеличения лёгочного сосудистого сопротивления без изменения давления заклинивания лёгочных капилляров и системного сосудистого сопротивления. Начальную дозу U46619 следует подбирать индивидуально для конкретной когорты свиней породы ландрас, начиная с самой низкой дозы (0,025, 0,05, 0,075, 0,1, 0,12, 0,15, 0,175 мкг × кг<sup>-1</sup> × мин<sup>-1</sup>).

В то же время, ренальная денервация не приводит к значительным гемодинамическим изменениям на животной модели острой U46619-индуцированной лёгочной артериальной гипертензии.

Лазерная абляция является потенциальной альтернативой радиочастотной абляции для денервации почечных артерий. При условии титрации энергии абляции с ограничением мощности излучения возможны аппликации в просвете артерий с минимальным повреждением интимы и обширной областью периваскулярного повреждения.

## ВЫВОДЫ

1. У нормотензивных свиней проведение расширенной ренальной денервации приводит к быстрому и значительному снижению уровня систолического артериального давления (медиана – 7 мм рт ст), диастолического давления в лёгочной артерии (медиана – 2 мм рт мт) и лёгочного сосудистого сопротивления (медиана – 88 дин\*сек\*см-5). При этом не выявлено значимой динамики общего периферического сосудистого сопротивления в остром периоде после расширенной ренальной денервации.
2. На экспериментальной модели лёгочной артериальной гипертензии расширенная ренальная денервация не приводит к изменению режима индукции гипертензии.
3. Расширенная радиочастотная катетерная денервация почечных артерий ассоциирована с развитием диссекций стенки сосудов (медиана – 2 случая на 1 артерию), а также формированием пристеночных тромбов. Данные повреждения не визуализируются при проведении интраоперационной инвазивной контрастной ангиографии.
4. Катетерная лазерная денервация почечных артерий с применением излучения длиной волны 1064 нм принципиально возможна. Характер лазерного повреждения стенки сосуда имеет существенные отличия от радиочастотного повреждения и не сопровождается тромбообразованием. Уменьшение мощности воздействия с 20 до 10 Ватт при времени воздействия 20 секунд не приводит к уменьшению глубины повреждения почечной артерии и в то же время не сопровождается нежелательным повреждением околососудистых структур.

## **ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ**

1. При проведении экспериментов с ренальной денервацией необходимо проводить оценку параметров гемодинамики и большого, и малого кругов кровообращения, поскольку эффекты процедуры не ограничиваются изменением только системной гемодинамики.
2. При катетерной лазерной абляции периваскулярных нервов почечных артерий с применением источника энергии с длиной волны 1064 нм максимально безопасная мощность воздействия составляет 10 Ватт.

## **ПЕРСПЕКТИВЫ ДАЛЬНЕЙШЕЙ РАЗРАБОТКИ ТЕМЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

Результаты экспериментального исследования дают основание для дальнейшего изучения эффектов расширенной ренальной денервации на лёгочное кровообращение на моделях хронической лёгочной артериальной гипертензии.

Разработанный режим введения и дозирования синтетического аналога тромбоксана А2 может использоваться в дальнейших экспериментальных исследованиях с моделированием обратимой лёгочной артериальной гипертензией.

Лазерная катетерная абляция будет изучаться в последующих экспериментах по денервации сосудов на моделях хронических сердечно-сосудистых заболеваний. Необходимы дальнейшие совершенствования технологии катетерной лазерной абляции для процедур денервации, в том числе модификация дистальной части оптоволоконного катетера с созданием технического решения для измерения импеданса.

**СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ**

АГ – артериальная гипертензия

ЛАГ – лёгочная артериальная гипертензия

РД – ренальная денервация

ПА – почечные артерии

ИБС – ишемическая болезнь сердца

ХСН – хроническая сердечная недостаточность

РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система

ПЖ – правый желудочек

ЛЖ – левый желудочек

ЛА – лёгочная артерия

ПП – правое предсердие

ФВ ЛЖ – фракция выброса левого желудочка

СКФ – скорость клубочковой фильтрации

ЧСС – частота сердечных сокращений

АД – артериальное давление

сАД – систолическое артериальное давление

дАД – диастолическое артериальное давление

срАД – среднее артериальное давление

сДЛА – систолическое давление в лёгочной артерии

дДЛА – диастолическое давление в лёгочной артерии

срДЛА – среднее давление в лёгочной артерии

сПЖ – систолическое давление в правом желудочке

дПЖ – диастолическое давление в правом желудочке

срПЖ – среднее давление в правом желудочке

ДЗЛК – давление заклинивания лёгочных капилляров

ДПП – давление в правом предсердии

ОПСС – общее периферическое сосудистое сопротивление

ЛСС – лёгочное сосудистое сопротивление

МОК – минутный объём кровообращения

**СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ**

1. Vaillancourt, M. Autonomic nervous system involvement in pulmonary arterial hypertension / M. Vaillancourt [et al.] // *Respir Res.* – 2017. Vol. 4, № 18. – P. 124–139.
2. Smithwick, R. H. Splanchnicectomy for essential hypertension: results in 1,266 cases / R. H. Smithwick [et al.] // *J Am Med Assoc.* – 1953. – Vol. 152, № 16. – P. 1501–1504.
3. Fontes, M.A.P. Renal sympathetic denervation for resistant hypertension: where do we stand after more than a decade / M. A. Fontes [et al.] // *J Bras Nefrol.* – 2020. – Vol. 1, № 42. – P. 67–76.
4. Torii, S. Renal denervation with ultrasound therapy (paradise device) is an effective therapy for systemic hypertension. / S. Torii [et al.] // *J Thorac Dis.* – 2018. Vol. 10, № 26. – P. 3060–3063.
5. Schlaich, M. P. Renal sympathetic-nerve ablation for uncontrolled hypertension. / M. P. Schlaich [et al.] // *N Engl J Med.* – 2009. – Vol. 9, № 361. – P. 932–934.
6. Symplicity HTN-1 Investigators. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: durability of BP reduction out to 24 months. / Symplicity HTN-1 Investigators // *Hypertension.* – 2011. – Vol. 57. – P. 911–917.
7. Symplicity HTN-2 Investigators. Renal sympathetic denervation in patients with treatment-resistant hypertension (The Symplicity HTN-2 Trial): a randomised controlled trial. / Symplicity HTN-2 Investigators // *Lancet.* – 2010. Vol. 376. – P. 1903–1909.
8. Worthley, S.G. Safety and efficacy of a multi-electrode renal sympathetic denervation system in resistant hypertension: the EnligHTN I trial. / S.G. Worthley // *Eur Heart J.* – 2013. – Vol. 34. – P. 2132–2140.
9. Papademetriou, V. Catheter-based renal denervation for resistant hypertension: 12-month results of the EnligHTN I first-in-human study using a



- multielectrode ablation system. / V. Papademetriou [et al.] // Hypertension. – 2014. – Vol. 64. – P. 565-572.
10. Sievert, H. Bipolar radiofrequency renal denervation with the Vessix catheter in patients with resistant hypertension: 2-year results from the REDUCE-HTN trial. / H. Sievert [et al.] // J Hum Hypertens. – 2017. – Vol. 31, № 5. – P. 366–368.
  11. Kandzari, D. E. Effect of renal denervation on blood pressure in the presence of antihypertensive drugs: 6-month efficacy and safety results from the SPYRAL HTN-ON MED proof-of-concept randomised trial. / D. E. Kandzari [et al.] // Lancet. – 2018. – Vol. 9, № 391. – P. 2346–2355.
  12. Böhm, M. Efficacy of catheter-based renal denervation in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED Pivotal): a multicentre, randomised, sham-controlled trial. / Böhm, M. [et al.] // Lancet. – 2020. – Vol. 2, № 395. – P. 1444–1451.
  13. McArdle, M. J. Beyond blood pressure: percutaneous renal denervation for the management of sympathetic hyperactivity and associated disease states. / M. J. McArdle [et al.] // J Am Heart Assoc. – 2015. – Vol.4, № 3. – e001415.
  14. Townsend, R. R. Catheter-based renal denervation in patients with uncontrolled hypertension in the absence of antihypertensive medications (SPYRAL HTN-OFF MED): a randomised, sham-controlled, proof-of-concept trial. / R.R. Townsend [et al.] // Lancet. – 2017. – Vol. 390. – P. 2160–2170.
  15. Polhemus, D. J. Radiofrequency renal denervation protects the ischemic heart via inhibition of GRK2 and increased nitric oxide signaling. / D. J. Polhemus [et al.] // Circ. Res. – 2016. – Vol. 119. – P. 470–480.
  16. Sharp, T. E. Renal Denervation Prevents Heart Failure Progression Via Inhibition of the Renin-Angiotensin System. / T. E. Sharp [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2018. – Vol. 72, № 21. – P. 2609–2621.
  17. Velez-Roa, S. Increased sympathetic nerve activity in pulmonary artery hypertension. / S. Velez-Roa [et al.] // Circulation. – 2004. – Vol. 10, № 110. – P. 1308–1312.

18. Мамчур, С.Е. Влияние пульмональной денервации на механическую функцию правых отделов сердца у больных легочной гипертензией / С.Е. Мамчур, Е.В. Токмаков, О.А. Нагирняк // Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний. – 2019. – Т.8, №2. – С. 49–57.
19. Qingyan, Z. Beneficial effects of renal denervation on pulmonary vascular remodeling in experimental pulmonary artery hypertension. / Z. Qingyan [et al.] // *Rev Esp Cardiol (Engl Ed)*. – 2015. – Vol. 7, № 68. – P. 562–570.
20. Maron, B. A. The role of the renin-angiotensin-aldosterone system in the pathobiology of pulmonary arterial hypertension (2013 Grover Conference series). / B. A. Maron [et al.] // *Pulm Circ*. – 2014. – Vol. 4, № 2. – P. 200–210.
21. Liu, Q. Effects of renal denervation on monocrotaline induced pulmonary remodeling. / Q. Liu [et al.] // *Oncotarget*. – 2017. – Vol. 8, № 29. – P. 46846–46855.
22. Russell, W. M. S. The 3Rs: past, present, and future. / W.M.S. Russell [et al.] // *Anim Welf*. – 2005. – Vol. 14. – P. 279–286.
23. Causes of Death 2008 [online database]. Geneva, World Health Organization.
24. Lim, S. S. A comparative risk assessment of burden of disease and injury attributable to 67 risk factors and risk factor clusters in 21 regions, 1990-2010 : a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study. / S. S. Lim [et al.] // *Lancet*. – 2012. – Vol. – P. 2224–2260.
25. World Health Organization. Global status report on noncommunicable diseases. –2010. Geneva, World Health Organization, 2011.
26. Lewington, S. Age-specific relevance of usual blood pressure to vascular mortality: a meta-analysis of individual data for one million adults in 61 prospective studies. / S. Lewington [et al.] // *Lancet*. – 2002. – Vol. 360. – P. 1903-1913.
27. Pezzini A. Predictors of long-term recurrent vascular events after ischemic stroke at young age: the Italian Project on Stroke in Young Adults. / A. Pezzini [et al.] // *Circulation*. – 2014. – Vol. 129. – P. 1668–1676.

28. Roger, V. L. Heart disease and stroke statistics--2012 update: a report from the American Heart Association. / V. L. Roger [et al.] // *Circulation*. – 2012. – Vol. 125. – P. 216–220.
29. Calhoun, D. A. Resistant hypertension: diagnosis, evaluation, and treatment: a scientific statement from the American Heart Association Professional Education Committee of the Council for High Blood Pressure Research. / D. A. Calhoun // *Circulation*. – 2008. – Vol. 117. – P. 520–526.
30. Krum, H. Catheter-based renal sympathetic denervation for resistant hypertension: a multicentre safety and proof-of-principle cohort study. / H. Krum [et al.] // *Lancet*. – 2009. – Vol. 373. – P. 1275–1281.
31. Böhm, M. Rationale and design of two randomized sham-controlled trials of catheter-based renal denervation in subjects with uncontrolled hypertension in the absence (SPYRAL HTN-OFF MED Pivotal) and presence (SPYRAL HTN-ON MED Expansion) of antihypertensive medications: a novel approach using Bayesian design. / M. Böhm [et al.] // *Clin Res Cardiol*. – 2020. – Vol. 3, № 109. – P. 289–302.
32. DiBona, G. F. Physiology in perspective: the wisdom of the body. Neural control of the kidney. / G. F. DiBona [et al.] // *Am J Regul, Integr Comp Physiol*. – 2005. – Vol. 289. – P. 633–641.
33. Thorpe, J. J. Poindexter. Bilateral thoracolumbar sympathectomy for hypertension; a study of 500 cases. / J. J. Thorpe [et al.] // *Am J Med*. – Vol. 9. – P. 500–515.
34. Whitelaw, G. P. Factors influencing the choice of treatment in essential hypertension: surgical, medical or a combination of both. / G. P. Whitelaw [et al.] // *Am J Surg*. – 1964. – Vol. 107. – P. 220–231.
35. Katholi, R. E. Decrease in peripheral sympathetic nervous system activity following renal denervation or unclipping in the one-kidney one-clip Goldblatt hypertensive rat. / R.E. Katholi [et al.] // *J Clin Invest*. – 1982. – Vol. 69. – P. 55–62.
36. Tellez, A. Renal artery nerve distribution and density in the porcine model:

- biologic implications for the development of radiofrequency ablation therapies. / A. Tellez [et al.] // *Transl Res.* – 2013. – Vol. 162. – P. 381–389.
37. Sakakura, K. Anatomic assessment of sympathetic peri-arterial renal nerves in man. / K. Sakakura [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2014. – Vol. 64. – P. 635–643.
  38. Mahfoud, F. Comparison of branch and distally focused main renal artery denervation using two different radio-frequency systems in a porcine model. / M. Mahfoud [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2017. – Vol. 241. – P. 373–378.
  39. Fengler, F. Blood pressure response to main renal artery and combined main renal artery plus branch renal denervation in patients with resistant hypertension. / K. Fengler [et al.] // *J Am Heart Assoc.* – 2017. – Vol. 6, № 8.
  40. Пекарский, С.Е. Анатомически оптимизированная дистальная ренальная денервация – стойкий гипотензивный эффект в течение 3 лет после вмешательства / С.Е. Пекарский, А.Е. Баев, А.Ю. Фальковская [и др.] // *Патология кровообращения и кардиохирургия.* – 2020. – Т.24, №3S. – С. 98–107.
  41. Bunte, M. C. Endovascular treatment of resistant and uncontrolled hypertension: therapies on the horizon. / M. C. Bunte [et al.] // *JACC Cardiovasc Interv.* – 2013. – Vol. 6. – P. 1–9.
  42. Haines, D. E. The biophysics of radiofrequency catheter ablation in the heart: the importance of temperature monitoring. / D.E. Haines // *Pacing Clin Electrophysiol.* – 1993. – Vol. 16. – P. 586–591.
  43. Worthley, S. G. Safety and efficacy of a multi-electrode renal sympathetic denervation system in resistant hypertension: the EnligHTN I trial. / S. G. Worthley [et al.] // *Eur Heart J.* – 2013. – Vol. 34. – P. 2132–2140.
  44. Worthley, S. G. Safety and performance of the second generation EnligHTN Renal Denervation System in patients with drug-resistant, uncontrolled hypertension. / S. G. Worthley [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2017. – Vol. 262. – P. 94–100.
  45. Whitbourn, R. Symplicity multi-electrode radiofrequency renal denervation

- system feasibility study. / R. Whitbourn [et al.] // *EuroIntervention*. – 2015. – Vol. 11. – P. 104–109.
46. Al Raisi, S. I. Comparison of new-generation renal artery denervation systems: assessing lesion size and thermodynamics using a thermochromic liquid crystal phantom model. / S. I. Al Raisi [et al.] // *EuroIntervention*. – 2017. – Vol. 13. – P. 1242–1247.
47. Kapil, V. Renal Sympathetic Denervation - A Review of Applications in Current Practice. / V. Kapil [et al.] // *Interv Cardiol*. – 2014. – Vol. 9, № 1. – P. 54–61.
48. Wang, Q. Noninvasive renal sympathetic denervation by extracorporeal high-intensity focused ultrasound in a pre-clinical canine model. / Q. Wang [et al.] // *J Am Coll Cardiol*. – 2013. – Vol. 61. – P. 2185–2192.
49. Sakakura, K. Controlled circumferential renal sympathetic denervation with preservation of the renal arterial wall using intraluminal ultrasound: a next-generation approach for treating sympathetic overactivity. / K. Sakakura [et al.] // *EuroIntervention*. – 2015. – Vol. 10. – P. 1230–1238.
50. Pathak, A. Renal sympathetic nerve denervation using intraluminal ultrasound within a cooling balloon preserves the arterial wall and reduces sympathetic nerve activity. / A. Pathak [et al.] // *EuroIntervention*. – 2015. – Vol. 11. – P. 477–484.
51. Mabin, T. First experience with endovascular ultrasound renal denervation for the treatment of resistant hypertension. / T. Mabin [et al.] // *EuroIntervention*. – 2012. – Vol. 8. – P. 57–61.
52. Schmieder, R. E. Phase II randomized sham-controlled study of renal denervation for individuals with uncontrolled hypertension - WAVE IV. / R.E. Schmieder [et al.] // *J Hypertens*. – 2018. – Vol. 36. – P. 680–689.
53. Stefanadis, C. Chemical denervation of the renal artery by vincristine in swine. A new catheter based technique. / C. Stefanadis [et al.] // *Int J Cardiol*. – 2013. – Vol. 167. – P. 421–425.
54. Stefanadis, C. Chemical denervation of the renal artery with vincristine for the

- treatment of resistant arterial hypertension: first-in-man application. / C. Stefanadis [et al.] // *Hellenic J Cardio.* – 2013. – Vol. 54. – P. 318–321.
55. Fischell, T. A. Ethanol-mediated perivascular renal sympathetic denervation: preclinical validation of safety and efficacy in a porcine model. / T. A. Fischell [et al.] // *EuroIntervention.* – 2013. – Vol. 9. – P. 140–147.
56. Fischell, T. A. Next generation renal denervation: chemical "perivascular" renal denervation with alcohol using a novel drug infusion catheter. / T. A. Fischell [et al.] // *Cardiovasc Revasc Med.* – 2015. – Vol. 16. – P. 221–227.
57. Bertog, S. Randomised, blinded and controlled comparative study of chemical and radiofrequency-based renal denervation in a porcine model. / S. Bertog [et al.] // *EuroIntervention.* – 2017. – Vol. 12. – P. 1898–1906.
58. Fischell, T. A. Transcatheter alcohol-mediated perivascular renal denervation with the peregrine system: first-in-human experience. / T. A. Fischell [et al.] // *JACC Cardiovasc Interv.* – 2016. – Vol. 9. – P. 589–598.
59. Peng, Q. Lasers in medicine. / Q. Peng [et al.] // *Rep Prog Phys.* – 2008. – Vol. 71. – 056701.
60. Gerstenfeld, E. P. Have lasers finally found their niche in interventional cardiology? / E. P. Gerstenfeld // *Heart.* – 2012. – Vol. 7, № 98. – P. 525–527.
61. Sagerer-Gerhardt, M. Catheter Based Renal Sympathetic Denervation by Segmental Endoluminal Laser Radiation in a Pig Model: Anatomical and Histopathological Results. / M. Sagerer-Gerhardt [et al.] // *J Vet Sci Ani Husband.* – 2021. – Vol. 9, № 1. – P. 103.
62. Sakamoto, F.H. Selective photothermolysis to target sebaceous glands: Theoretical estimation of parameters and preliminary results using a free electron laser. / F.H. Sakamoto [et al.] // *Las Surg Med.* – 2012. – Vol. 44. – P. 175–183.
63. Prochnau, D. Percutaneous catheter-based cryoablation of the renal artery is effective for sympathetic denervation in a sheep model. / D. Prochnau // *Int J Cardiol.* – 2011. – Vol. 152. – P. 268–270.
64. Qian, P. C. Transcatheter non-contact microwave ablation may enable

- circumferential renal artery denervation while sparing the vessel intima and media. / P.C. Qian[et al.] // *EuroIntervention*. – 2017. – P. 1907–1915.
65. Humbert, M. Pathology and pathobiology of pulmonary hypertension: state of the art and research perspectives. / M. Humbert [et al.] // *The European Respiratory Journal*. – 2019. – Vol. 53, 1801887.
66. Kasmi, E. L. Adventitial fibroblasts induce a distinct proinflammatory/profibrotic macrophage phenotype in pulmonary hypertension. / El Kasmi [et al.] // *Journal of Immunology*. – 2014. – Vol. 193. – P. 597–609.
67. de Man, F.S. Dysregulated renin-angiotensin-aldosterone system contributes to pulmonary arterial hypertension. / F.S. de Man [et al.] // *Am J Respir Crit Care Med*. – 2012. – Vol. 8, № 186. – P. 780–789.
68. Chen, S. L. Hemodynamic, functional, and clinical responses to pulmonary artery denervation in patients with pulmonary arterial hypertension of different causes: phase II results from the Pulmonary Artery Denervation-1 study. / S. L. Chen // *Circ Cardiovasc Interv*. – 2015. – Vol. 8, № 11, 002837.
69. Ntokou, A. Vagal nerve stimulation for pulmonary hypertension: some promise, some skepticism. / A. Ntokou [et al.] // *JACC Basic Transl Sci*. – 2018, -Vol. 3, № 5. – P. 672–674.
70. Zhang, S. Beneficial effects of renal denervation on pulmonary vascular remodeling in experimental pulmonary artery hypertension. / S. Zhang [et al.] // *Zhonghua Yi Xue Za Zhi*. – 2015. – Vol. 14, № 95. – P. 1108–1112.
71. Voelkel, N. F. Hypoxia-induced pulmonary vascular remodeling: a model for what human disease? / N. F. Voelkel [et al.] // *J Clin Invest*. – 2000. – Vol. 106. – P. 733–738.
72. Shelub, I. A model of embolic chronic pulmonary hypertension in the dog. / I. Shelub [et al.] // *J Appl Physiol Respir Environ Exerc Physiol*. – 1984. – Vol. 56. – P. 810–815.
73. Van Albada, M. E. The role of increased pulmonary blood flow in pulmonary arterial hypertension. / M. E. Van Albada [et al.] // *Eur Respir J*. – 2005. – Vol.

26. – P. 487–493.
74. Nicolls, M.R. New models of pulmonary hypertension based on VEGF receptor blockade-induced endothelial cell apoptosis. / M.R. Nicolls [et al.] // *Pulm Circ.* – 2012. – Vol. 2. – P. 434–442.
75. Umar, S. Novel approaches to treat experimental pulmonary arterial hypertension: a review. / S. Umar [et al.] // *J Biomed Biotechnol.* – 2010: 702836.
76. Okada, M. Establishment of canine pulmonary hypertension with dehydromonocrotaline. Importance of larger animal model for lung transplantation. / M. Okada [et al.] // *Transplantation.* – 1995. – Vol. 60. – P. 9–13.
77. Zeng, G. Q. Single intraperitoneal injection of monocrotaline as a novel large animal model of chronic pulmonary hypertension in Tibet minipigs. / G. Q. Zeng [et al.] // *PLoS One.* – 2013. – Vol. 8: e78965.
78. Madhavan, M. Transvenous stimulation of the renal sympathetic nerves increases systemic blood pressure: a potential new treatment option for neurocardiogenic syncope. / M. Madhavan [et al.] // *J Cardiovasc Electrophysiol.* – 2014. – Vol. 10, № 25. – P. 1115–1118.
79. Chinushi, M. Blood pressure and autonomic responses to electrical stimulation of the renal arterial nerves before and after ablation of the renal artery. / M. Chinushi [et al.] // *Hypertension.* – 2013. – Vol. 2, № 61. – P. 450–456.
80. Чичкова, Т.Ю. Эффективность и безопасность многополюсной биполярной ренальной денервации и значение стимуляции почечных нервов для прогнозирования результатов вмешательства / Т.Ю. Чичкова, С.Е. Мамчур, Е. А. Хоменко [и др.] // *Комплексные проблемы сердечно-сосудистых заболеваний.* – 2017. – Т.6, №4. – С. 89–94.
81. Сайт.com: сайт. – 2018. – URL: <https://kartendesign.com/works/vessix> (дата обращения: 27.09.2021). – Режим доступа: общий доступ.
82. Сайт.com: сайт. 2019. – URL: <https://www.dicardiology.com/> (дата обращения: 25.09.2021). – Режим доступа: общий доступ.



83. Roehl, A. B. Comparison of 3 methods to induce acute pulmonary hypertension in pigs. / A. B. Roehl [et al.] // *Comp Med.* – 2009. – Vol. 3, № 59. – P. 280–286.
84. Mahfoud, F. Effects of renal denervation on kidney function and long-term outcomes: 3-year follow-up from the Global SYMPPLICITY Registry. / F. Mahfoud [et al.] // *Eur Heart J.* – 2019. – Vol. 40, № 42. – P. 3474–3482.
85. Donazzan, L. Effects of catheter-based renal denervation on cardiac sympathetic activity and innervation in patients with resistant hypertension. / L. Donazzan [et al.] // *Clin Res Cardiol.* – 2016. – Vol. 4, № 105. – P. 364–371.
86. Fink, G. D. Can we predict the blood pressure response to renal denervation? / G. D. Fink // *Auton Neurosci.* – 2017. – Vol. 204. – P. 112–118.
87. Cohen-Mazor, M. Evaluation of renal nerve morphological changes and norepinephrine levels following treatment with novel bipolar radiofrequency delivery systems in a porcine model. / M. Cohen-Mazor [et al.] // *J Hypertens.* – 2014. – Vol. 8, № 32. – P. 1678–1692.
88. Vogiatzakis, N. Effect of renal sympathetic denervation on short-term blood pressure variability in resistant hypertension: a meta-analysis. / N. Vogiatzakis [et al.] // *J Hypertens.* – 2017. – Vol. 9, № 35. – P. 1750–1757.
89. Sapoval, M. Endovascular Renal Artery Denervation: Why, When, and How? / M. Sapoval [et al.] // *Cardiovasc Intervent Radiol.* – P. 2012. – Vol. 35. – P. 463–471.
90. Pansieri, M. Renal denervation for resistant hypertension without general anesthesia: advantage of a MEOPA morphine protocol. Preliminary experience. / M. Pansieri [et al.] // *Ann Cardiol Angeiol (Paris).* – 2013. – Vol. 5, № 62. – P. 283–286.
91. Tsiachris, D. Electrical stimulation of the renal arterial nerves does not unmask the blindness of renal denervation procedure in swine. / D. Tsiachris [et al.] // *Int J Cardiol.* – 2014. – Vol. 3, № 176. – P. 1061–1063.
92. Goncharova, N.S. Electrical stimulation-guided approach to pulmonary artery catheter ablation in patients with idiopathic pulmonary arterial hypertension: a

- pilot feasibility study with a 12-month follow-up. / N. S. Goncharova [et al.] // *Biomed Res Int.* – 2020:8919515.
93. Taborsky, M. Early morphologic alterations in renal artery wall and renal nerves in response to catheter-based renal denervation procedure in sheep: difference between single-point and multiple-point ablation catheters. / M. Taborsky [et al.] // *Physiol Res.* – 2017. – Vol. 4, № 66. – P. 601–614.
  94. Su, E. Acute changes in morphology and renal vascular relaxation function after renal denervation using temperature-controlled radiofrequency catheter. / E. Su [et al.] // *BMC Cardiovasc Disord.* – 2019. – Vol. 19:67.
  95. Mechelinck, M. Adaptation to acute pulmonary hypertension in pigs. / M. Mechelinck [et al.] // *Physiol. Rep.* – 2018. – Vol. 5, № 6.
  96. Sparks, M. A. Thromboxane receptors in smooth muscle promote hypertension, vascular remodeling, and sudden death. / M. A. Sparks [et al.] // *Hypertension.* – 2013. – Vol. 1, № 61. – P. 166–173.
  97. West, J. D. Antagonism of the thromboxane-prostanoid receptor is cardioprotective against right ventricular pressure overload. / J. D. West // *Pulm. Circ.* – 2016. – Vol. 2, № 6. – P. 211–223.
  98. Maarman, G. A comprehensive review: the evolution of animal models in pulmonary hypertension research; are we there yet? / G. Maarman [et al.] // *Pulm.Circ.* – 2013. – Vol. 3, № 4. – P. 739–756.
  99. Vakhrushev, A. D. Extended renal artery denervation is associated with artery wall lesions and acute systemic and pulmonary hemodynamic changes: a sham-controlled experimental study. / A. D. Vakhrushev [et al.] // *Cardiovasc Ther.* – 2020. – Vol. 28.
  100. Goncharova, N. S. Modeling of acute pulmonary arterial hypertension in pigs using a stable Thromboxane A2 analogue (U46619): dose adjustment and assessment of hemodynamic reactions. / N. S. Goncharova [et al.] // *Bull Exp Biol Med.* – 2021. – Vol. 6, № 170. –P. 729–733.
  101. Sakakura, K. Comparison of histopathologic analysis following renal sympathetic denervation over multiple time points. / K. Sakakura [et al.] //

- Circulation. Cardiovascular interventions. – 2015. – Vol. 2, № 8, e001813.
102. Henegar, J. R. Catheter-Based Radiofrequency Renal Denervation: Location Effects on Renal Norepinephrine. / J. R. Henegar [et al.] // *Am J Hypertens.* – 2015. – Vol. 7, № 28. – P. 909–914.
  103. da Silva Goncalves. Renal denervation reduces pulmonary vascular remodeling and right ventricular diastolic stiffness in experimental pulmonary hypertension. / da Silva Goncalves // *JACC Basic Transl Sci.* – 2017. – Vol. 1, № 2. – P. 22–35.
  104. Yoldas, A. Morphological characteristics of renal artery and kidney in rats. / A. Yoldas [et al.] // *ScientificWorldJournal.* – 2014: 468982.
  105. Gomez, F. A. Morphological characterization of the renal arteries in the pig. Comparative analysis with the human. / F. A. Gomez // *Int. J. Morphol.* – 2017. – Vol. 1, № 35. – P. 319–324.
  106. Schlegel, F. Early effects in perivascular nerves and atrial media following renal artery denervation / F. Schlegel [et al.] // *Hypertension.* – 2014. – Vol. 63. – P. 123–125.