
© Коллектив авторов, 2018

УДК 616.611-005.04+616.16:615.015+615.83

DOI 10.21886/2308-6424-2018-6-2-5-12

ISSN 2308-6424

Коррекция нарушений функции эндотелия в почке дистантным ишемическим и фармакологическим прекондиционированием при тепловой ишемии

О.И. Братчиков¹, М.В. Покровский², В.В. Елагин¹, Д.А. Костина²

¹ФГБОУ ВО «Курский государственный медицинский университет» МЗ РФ; Курск, Россия

²ФГАОУ ВО «Белгородский государственный национальный исследовательский университет» Минобрнауки РФ; Белгород, Россия

В работе представлены результаты исследования нарушений функции эндотелия, возникающих при моделировании «тепловой ишемии» почки и возможности их коррекции дистантным ишемическим и фармакологическим прекондиционированием. Моделирование «тепловой ишемии» почки характеризуется нарушением микроциркуляции и экспрессией eNOS в ткани почек. Применение дистантного ишемического прекондиционирования и ингибиторов фосфодиэстеразы 5 типа силденафила и тадалафила приводит к выраженной коррекции нарушений микроциркуляции и активности eNOS. При моделировании «тепловой ишемии» почки на фоне дисфункции эндотелия вызванной ADMA-подобным L-NAME индуцированным дефицитом оксида азота наблюдаются более выраженные нарушения микроциркуляции и активности eNOS. Применение дистантного ишемического и фармакологического прекондиционирования ингибиторами фосфодиэстеразы 5 типа при данном типе патологии приводило к выраженной коррекции нарушений микроциркуляции и активности eNOS. Введение блокатора АТФ-зависимых K⁺ каналов глибенкламида при коррекции дистантным ишемическим и фармакологическим прекондиционированием нарушений, вызванных моделированием «тепловой ишемии» почки, приводит к снижению их эффективности.

Ключевые слова: тепловая ишемия; микроциркуляция почки; прекондиционирование; реперфузия; ингибиторы фосфодиэстеразы 5 типа

Раскрытие информации: Исследование не имело спонсорской поддержки. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила в редакцию: 04.06.2018. **Принята к публикации:** 20.06.2018.

Автор для связи: Елагин Владислав Викторович; тел.: +7 (919) 219-02-85; e-mail: vlad.elagin2014@yandex.ru

Для цитирования: Братчиков О.И., Покровский М.В., Елагин В.В., Костина Д.А. Коррекция нарушений функции эндотелия в почке дистантным ишемическим и фармакологическим прекондиционированием при тепловой ишемии. *Вестник урологии*. 2018;6(2):5-12. DOI: 10.21886/2308-6424-2017-6-2-5-12

The correction of endothelial dysfunction with the help of distant ischemic and pharmacological preconditioning with thermal local asphyxia of kidney

O.I. Bratchikov¹, M.V. Pokrovskiy², V.V. Elagin¹, D.A. Kostina²

¹Kursk State Medical University; Kursk, Russian Federation

²Belgorod National Research University; Belgorod, Russian Federation

This article contains the results of research of the endothelial dysfunction arising during the modeling of thermal local asphyxia of kidney and possibilities of their correction by distant ischemic and pharmacological preconditioning. The modeling of thermal local asphyxia of kidney is characterized by the disturbance of

microcirculation and expression of eNOS in the kidney tissue. The usage of distant ischemic preconditioning and phosphodiesterase inhibitors type 5 sildenafil and tadalafil leads to pronounced correction of microcirculation dysfunction and activity of eNOS. During the modeling of thermal local asphyxia of kidney against endothelium dysfunction caused by ADMA-like L-NAME induced deficiency of nitric oxide more pronounced dysfunction of microcirculation and activity of eNOS are observed. The usage of distant ischemic and pharmacological preconditioning with the help of phosphodiesterase inhibitors type 5 in this type of pathology led to pronounced correction of microcirculation dysfunction and activity of eNOS. The injection of glibenclamide blocker of ATP – dependent K⁺ channels during the correction of the disturbance caused by the modeling of thermal local asphyxia of kidney with the help of distant ischemic and pharmacological preconditioning leads to the decrease of its efficiency.

Key words: thermal local asphyxia; microcirculation of kidney; preconditioning; reperfusion; phosphodiesterase inhibitors type 5

Disclosure: The study did not have sponsorship. The authors have declared no conflicts of interest.

Received: 04.06.2018. **Accepted:** 20.06.2018.

For correspondence: Vladislav V. Elagin; tel.: +7 (919) 219-02-85; e-mail: vlad.elagin2014@yandex.ru

For citation: Bratchikov O.I., Pokrovskiy M.V., Elagin V.V., Kostina D.A. The correction of endothelial dysfunction with the help of distant ischemic and pharmacological preconditioning with thermal local asphyxia of kidney. *Herald Urology*. 2018;6(2):5-12. (In Russ.). DOI:10.21886/2306-6424-2018-6-2-5-12

Введение

В современной хирургии, с развитием оперативных вмешательств, требующих временного прекращения кровотока по определенным сосудам на одной из лидирующих позиций стоит проблема ишемических и реперфузионных повреждений органов и тканей. Особое место в этом отношении занимает тепловая ишемия почки, при которой расширение временного интервала обескровливания органа имеет принципиальное значение. Одним из способов повышения резистентности органов к дефициту кислорода является физиологическое воздействие на систему регуляции клеточного метаболизма путем периодического создания условий умеренного дефицита кислорода. В эксперименте давно доказан «тренирующий» эффект периодической гипоксии, адаптирующей организм животного к условиям недостатка кислорода. В механизме этой адаптации важную роль играют как реакции на уровне организма (гипервентиляция, активизация деятельности сердца, усиление эритропоэза и др.), так и модификация клеточного метаболизма (активизация гликолиза, повышение способности утилизировать кислород при его низком содержании, увеличение мощности антиоксидантной системы клеточной защиты и др.). В результате, гипоксическая тренировка приводит к лучшей переносимости клетками дефицита кислорода в ходе ишемии и в начальных периодах реперфузии [1]. В 1964 году Janoff назвал этот феномен преко́ндиционированием или толерантностью.

Ишемическим преко́ндиционированием называют воздействие кратковременной ишемии (2–15 мин) и реперфузии (5–10 мин) на орган-мишень (головной мозг, сердце) перед моделированием длительной ишемии [2]. Детальное изучение механизмов действия ишемического преко́ндиционирования на аффлекторную клетку выявило основной путь реализации этого феномена. Это активация митохондриальных и ретикулярных АТФ зависимых K⁺ каналов посредством активации рецепторов аденозина 1 типа [3]. Другая интересная гипотеза возникла на основе концепции стимуляции эндогенного защитного механизма. Преко́ндиционирование вызывает экспрессию эндогенных антиоксидантных ферментов (GSHPx-1) и белков теплового шока HSP27, HSP32 и HSP70. Кроме этого преко́ндиционирование формирует каскад преобразования сигналов, подавляя сигналы гибели и активируя сигналы выживания [1, 4]. Следовательно, весьма вероятно, что некоторые проапоптозные и антиапоптозные гены и факторы матричного анализа (в том числе JNK-1, c-Jun, NF-κB и AP-1) играют весьма важную роль в процессе преко́ндиционирования (подобно роли окиси азота).

Огромную роль во вторичных повреждениях ткани при воздействии ишемии играют так называемые реперфузионные повреждения [5]. Было установлено, что возобновление кровотока в системе сосудов органа после перенесенного эпизода ишемии приводит к еще большему усилению клеточного повреждения за счёт активации оксидантного и нитрозативного стресса [6, 7].

Было показано положительное влияние преко́ндиционирования на развитие реперфузионных осложнений [8, 9]. Однако в реальной жизни невозможно заранее знать время начала процесса. Поэтому исследования последних лет акцентируют свое внимание на феномене ишемического постко́ндиционирования.

Основная масса работ посвящена исследованию феномена преко́ндиционирования в кардиологии, неврологии, хирургии, в том числе и в урологии, однако полученные результаты проведенных работ ещё далеки от желаемых. При этом остаётся неисследованной возможность коррекции ишемических нарушений при операциях на почке в условиях тепловой ишемии. Одним из ключевых звеньев в патогенезе острого реперфузионного повреждения является дисфункция эндотелия в этот период, что проявляется нарушением микроциркуляции в органе. В связи с этим **целью настоящей работы** явилось изучение микроциркуляции почки и возможности коррекции ее нарушений препаратами из группы ингибиторов фосфодиэстеразы 5 типа в ранний и поздний реперфузионные периоды.

Материалы и методы

Опыты были выполнены на 100 крысах самцах линии «Wistar» массой 250-300 гр. Распределение животных осуществлялось рандомизацией по массе, каждая рандомизированная группа состояла не менее, чем из 10 крыс. Для проведения эксперимента отобраны крысы, прошедшие 14-дневный карантинный режим в условиях вивария, без внешних признаков наличия болезни. Условиями содержания животных в течение проведения исследований были: стандартная экспериментальная биологически чистая комната, по 12 часов нахождения в темном и светлом режиме освещения за сутки, температура воздуха 22-24 °С. Крысы получали гранулированный корм и фильтрованную водопроводную воду. Эксперименты проводились во второй половине дня в соответствии с положениями из «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» (Страсбург, 18.03.1986 г.). Для наркоза использовали хлоралгидрат (300 мг/кг внутрибрюшинно).

Дистантное ишемическое преко́ндиционирование осуществляли при помощи наложения эластичного жгута на верхнюю треть контрлатерального бедра на 10 минут с последующей реперфузией в течение 30 минут перед непосредственным моделированием ишемии почки. Отсутствие пульсации артерий нижней конечности, появление бледности и синюшности кожи являлось контролем эффективности манипуляции.

Ингибиторы фосфодиэстеразы-5 силденафил и тадалафил вводили внутрибрюшинно в дозе

4 мг/кг и 1 мг/кг массы животного соответственно с учетом межвидового пересчета доз на 10% диметилсульфоксиде за 30 минут до моделирования ишемии-реперфузии почек.

Блокатор АТФ зависимых K⁺ каналов глибенкламид (Sigma) вводили внутрибрюшинно в дозе 5 мг/кг веса на 10% диметилсульфоксиде за 30 минут до проведения дистантного ишемического преко́ндиционирования и/или введения изученных препаратов. Моделирование АДМА-подобного состояния производили предварительным введением АДМА-подобного агента – неселективного блокатора NO-синтазы N-нитро-L-аргинин-метилового эфира (L-NAME) в дозе 25 мг/кг/сут. Далее моделировали ишемическое и реперфузионное повреждение почек. Животное фиксировали, лёжа на спине, удаляли шерсть и обрабатывали кожу антисептиками. Доступ к почкам осуществлялся лапаротомически, производили вскрытие брюшной полости, петли кишечника и брыжейка смещались в левую сторону, затем мобилизовалась почка и сосудистая ножка, накладывался атравматичный сосудистый зажим на 30 минут. Аналогичную манипуляцию проводили на левой почке. Критерием достаточного пережатия почечной ножки служило изменение цвета органа с красного на темно-красный. Вслед за этим, почки покрывали смоченной антисептиками салфеткой и погружали в рану. Через 30 минут производили выведение органов в рану, снятие зажимов и запуск реперфузионного периода длительностью 40 минут. Визуально определяли макроскопическое состояние поверхности почки.

Оценку уровня микроциркуляции производили при помощи аппарата для электрофизиологических исследований MP150, производства «БИОПАК Системс, Инк» (США) в комплекте с модулями лазерной доплеровской флоуметрии (ЛДФ) и инвазивного игольчатого датчика TSD144. Игольчатые датчики устанавливали в пяти точках на поверхности почки. Уровень микроциркуляции выражался в перфузионных единицах (ПЕд). Запись и обработку результатов ЛДФ выполняли с помощью программы AcqKnowledge, версия 3.8.1. В соответствии с протоколом исследования измерения уровня микроциркуляции производили через 40 минут от начала реперфузионного периода и спустя двое суток после снятия зажима. Для оценки функционального состояния почки через сутки после реперфузии, согласно дизайну эксперимента, животных помещали в метаболические клетки на 24 часа с целью сбора суточной мочи. Затем, измеряли суточный диурез и определяли концентрацию креатинина в моче и плазме крови. За скорость клубочковой фильтрации принят клиренс креатинина, рассчитанный по формуле.

Экспрессию эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) определяли иммуногистохимическим методом. Описательное исследование гистологических и иммуногистохимических препаратов выполняли под микроскопом Axio Scope A1 (Carl Zeiss Microimaging GmbH, Германия).

Для всех данных была применена описательная статистика: данные проверены на нормальность распределения. Тип распределения определялся критерием Шапиро-Уилка. В случае нормального распределения были подсчитаны среднее значение (M) и стандартная ошибка среднего (m). Межгрупповые различия анализировались параметрическими (t -критерий Стьюдента) или непараметрическими (критерий Манна-Уитни) методами, в зависимости от типа распределения. Все расчеты выполнены с помощью пакета статистических программ Microsoft Excel 7.0.

Результаты и обсуждение

Оценка уровня микроциркуляции в почках и экспрессия eNOS. После моделирования патологии через 40 минут и 48 часов осуществляли измерение микроциркуляции методом ЛДФ. Результаты представлены в таблице 1. Показатели микроциркуляции в почках у интактных животных составили $814,66 \pm 63,22$ ПЕд. В группе животных с 30-минутной ишемией почек через 40 минут после снятия зажима с сосудистой ножки отмечалось выраженное увеличение микроциркуляции до $2069,51 \pm 71,99$ ПЕд, что достоверно выше показателей в группе интактных животных. Данное повышение показателя свидетельствует о развитии реактивной гиперемии. Применение дистантного ишемического прекондиционирования (ДИП) и ингибиторов фосфодиэстеразы 5 типа (иФДЭ-5) силденафила и тадалафила приводило к уменьшению уровня микроциркуляции через 40 минут после снятия зажима по сравнению с контрольной группой и составило $1306,01 \pm 101,17$ ПЕд, $1235,17 \pm 77,66$ ПЕд и $1330,73 \pm 93,72$ ПЕд соответственно.

Введение блокатора АТФ зависимых K^+ каналов – глибенкламида до моделирования ишемии практически не влияло на уровень микроциркуляции через 40 минут после снятия зажима, который составил $2114,76 \pm 73,20$ ПЕд. С другой стороны, после 30 минутного моделирования ишемии при применении дистантного ишемического прекондиционирования и фармакологического прекондиционирования иФДЭ-5 в сочетании с глибенкламидом уровень микроциркуляции для ДИП составил $1712,31 \pm 117,02$ ПЕд, для силденафила $1813,04 \pm 132,57$ ПЕд, для тадалафила – $1946,92 \pm 93,92$ ПЕд. Таким образом подтверждается гипотеза о вовлечении АТФ зависимых K^+ каналов в реализацию ренопротективных эффектов дистантного ишемического прекондиционирования

и фармакологического прекондиционирования иФДЭ-5, силденафилом и тадалафилом.

Сочетание моделирования ишемии с L-NAME-индуцированным дефицитом оксида азота не показало существенной разницы в показателях микроциркуляции через 40 минут по сравнению с группой животных, которым L-NAME предварительно не вводился. Моделирование 30-минутной ишемии, применение ДИП и иФДЭ-5 в сочетании с введением L-NAME привело к статистически достоверному снижению микроциркуляции в сравнении с группой животных с предварительным введением ингибитора NO-синтазы, но без применения ДИП и фармакологического прекондиционирования. Так, в группе с применением ДИП показатели микроциркуляции через 40 минут после возобновления кровотока составили $1152,68 \pm 56,90$ ПЕд, с применением силденафила – $1248,07 \pm 59,28$ ПЕд, тадалафила – $1378,18 \pm 79,88$ ПЕд. На вторые сутки после возобновления кровотока в группе с 30-минутной ишемией уровень микроциркуляции резко снизился до $316,77 \pm 25,29$ ПЕд. Коррекция дистантным ишемическим и фармакологическим прекондиционированием силденафилом и тадалафилом приводила к нормализации показателей микроциркуляции в почечной ткани до $588,37 \pm 44,15$ ПЕд, $701,59 \pm 55,35$ ПЕд и $632,55 \pm 67,81$ ПЕд соответственно. При этом, полученные результаты достоверно отличались от показателей микроциркуляции в группе интактных животных и группе с моделированием ишемии. Следует отметить, что предварительное введение глибенкламида до моделирования ишемии не приводило к статистически значимому снижению уровня микроциркуляции в ткани почек, который составил $273,70 \pm 18,30$ ПЕд. Введение глибенкламида нивелировало выраженные ренопротективные эффекты дистантного ишемического и фармакологического прекондиционирования. Уровень микроциркуляции был достоверно лучше группы с моделированием 30-минутной ишемии лишь в группе тадалафила ($406,21 \pm 35,18$).

Сочетание моделирования ишемии с L-NAME-индуцированным дефицитом оксида азота не показало существенной разницы в показателях микроциркуляции через 48 часов реперфузии по сравнению с группой животных, которым L-NAME предварительно не вводился. На вторые сутки исследования показатели микроциркуляции при применении ДИП, силденафила и тадалафила и предварительного введения L-NAME оказались достоверно ниже относительно таковых без введения блокатора NO-синтазы и составили $350,69 \pm 29,18$ ПЕд, $372,00 \pm 33,73$ ПЕд, $302,20 \pm 23,62$ ПЕд соответственно.

Таблица 1. Оценка уровня микроциркуляции в почках крыс через 40 минут и на вторые сутки после моделирования ишемии**Table 1. Evaluation of microcirculation level in the rats` kidneys after 40 minutes and on the second day after ischemia modeling**

Группы животных <i>Groups of laboratory animals</i>	Микроциркуляция, ПЕд <i>Microcirculation, Perfusion Units</i>		Экспрессия eNOS, % <i>Expression of eNOS, %</i>
	40 минут <i>40 minutes</i>	2 сутки <i>Second day</i>	2 сутки <i>Second day</i>
Интактные <i>Intact</i>	814,66±63,22	898,28±72,64	18,75±1,70
Ишемия <i>Ischemia</i>	2069,51±71,99*	316,77±25,29*	4,55±1,10*
Ишемия+ДИП <i>Ischemia + Distant Ischemic Preconditioning</i>	1306,01±101,17 ^x	588,37±44,15 ^{*x}	9,10±1,05 ^{*x}
Ишемия + Силденафил <i>Ischemia + Sildenafil</i>	1235,17±77,66 ^x	701,59±55,35 ^{*x}	16,48±1,49 ^{*x}
Ишемия + Тадалафил <i>Ischemia + Tadalafil</i>	1330,73±93,72 ^x	632,55±67,81 ^{*x}	14,10±1,13 ^{*x}
Ишемия + Глибенкламид <i>Ischemia + Glibenclamide</i>	2114,76±73,20*	273,70±18,30*	4,00±1,02*
Ишемия + ДИП + Глибенкламид <i>Ischemia + Distant Ischemic Preconditioning + Glibenclamide</i>	1712,31±117,02 ^y	428,59±47,42 ^y	6,20±0,90 ^y
Ишемия + Силденафил + Глибенкламид <i>Ischemia + Sildenafil + Glibenclamide</i>	1813,04±132,57 ^y	459,55±40,74 ^y	13,46±1,40 ^y
Ишемия + Тадалафил + Глибенкламид <i>Ischemia + Tadalafil + Glibenclamide</i>	1946,92±93,92 ^y	406,21±35,18 ^{xy}	11,38±1,15 ^{xy}
Ишемия + L-NAME <i>Ischemia + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	2083,44±74,3*	226,78±23,29*	2,92±1,09*
Ишемия + ДИП + L-NAME <i>Ischemia + Distant Ischemic Preconditioning + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	1152,68±56,90 ^z	350,69±29,18 ^z	4,46±0,77 ^z
Ишемия + Силденафил + L-NAME <i>Ischemia + Sildenafil + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	1248,07±59,28 ^z	372,00±33,73 ^z	9,96±1,08 ^z
Ишемия + Тадалафил + L-NAME <i>Ischemia + Tadalafil + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	1378,18±79,88 ^z	302,20±23,62 ^z	7,65±1,04 ^z

Примечание:

* – p < 0,05 в сравнении с группой интактных;

x – p < 0,05 в сравнении с группой животных с 30-минутной ишемией;

y – p < 0,05 в сравнении с группой животных с 30-минутной ишемией и предварительным введением глибенкламида;

z – p < 0,05 в сравнении с группой животных с 30-минутной ишемией и предварительным введением L-NAME.

Comment:

* - p < 0.05 in comparison with the group of intact;

x - p < 0.05 in comparison with the group of animals after 30-minute ischemia;

y - p < 0,05 in comparison with group of animals after 30-minute ischemia and preliminary introduction of Glibenclamide;

z - p < 0.05 in comparison with the group of animals after 30-minute ischemia and preliminary introduction of N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME).

Экспрессия eNOS, определяемая удельной площадью иммунореактивного вещества в эндотелии сосудов коркового вещества почки у интактных животных составила $18,75 \pm 1,70\%$ (табл. 1). Через двое суток после моделирования ишемии экспрессия eNOS в клубочках значительно снижена – $4,55 \pm 1,10\%$. На фоне применения ДИП отмечался некоторый позитивный эффект, среднее значение экспрессии eNOS составляло $9,10 \pm 1,05\%$, что в 2 раза выше значения при моделировании ишемии. Введение ингибиторов фосфодиэстеразы-5 способствовало выраженному росту экспрессии eNOS по сравнению с контрольной группой и составило $16,48 \pm 1,49\%$ и $14,10 \pm 1,13\%$ для силденафила и тадалафила соответственно. При фармакологическом контроле блокатором АТФ-зависимых калиевых каналов глибенкламидом на фоне дистантного ишемического прекондиционирования отмечалось снижение экспрессии eNOS, как и в случае фармакологического прекондиционирования силденафилом и тадалафилом, до уровня $6,20 \pm 0,90\%$, $13,46 \pm 1,40\%$ и $11,38 \pm 1,15\%$ соответственно. На фоне введения L-NAME отмечалось ещё более выраженное уменьшение экспрессии eNOS, при ДИП экспрессия составила $4,46 \pm 0,77\%$, при введении силденафила $9,96 \pm 1,08\%$, тадалафила $7,65 \pm 1,04\%$.

Оценка функционального состояния почек.

Результаты, полученные в ходе оценки функционального состояния почек представлены в таблице 2. В контрольной группе животных с ишемическими и реперфузионными повреждениями почек концентрация креатинина повышалась в 1,9 раз по сравнению с данными интактной группы, что соответствует критериям острого почечного повреждения. Применение дистантного ишемического прекондиционирования снижало концентрацию креатинина до $109,3 \pm 7,16$ мкмоль/л. Применение силденафила и тадалафила также способствовало снижению концентрации креатинина до $98,6 \pm 6,08$ и $87,5 \pm 4,97$ мкмоль/л соответственно. Однако, лишь применение тадалафила позволяло нормализовать данный показатель до значений, не отличавшихся статистически от уровня креатинина интактных животных.

Применение глибенкламида, блокатора АТФ-зависимых калиевых каналов, не усугубляло течение ишемии-реперфузии, однако нивелировало положительные ренопротективные эффекты ДИП, силденафила и тадалафила. Значение уровня креатинина находилось на уровне $133,7 \pm 5,4$ мкмоль/л, $131,7 \pm 4,67$ мкмоль/л, $129,6 \pm 6,25$ мкмоль/л соответственно и не отличалось от группы животных с изолированным моделированием 30-минутной ишемии, за исключением группы тадалафила. Дополнительное моделирование дефицита оксида азота с помощью L-NAME приводило к значитель-

ному усугублению острого почечного повреждения по показателю креатинина, концентрация в плазме крови которого составила $166,8 \pm 7,79$, что соответствует более тяжелой степени почечной недостаточности. Коррекция дистантным ишемическим и фармакологическим прекондиционированием с использованием силденафила и тадалафила привела к незначительному снижению уровня креатинина до $130 \pm 4,19$ мкмоль/л, $115,5 \pm 6,26$ мкмоль/л, $122,2 \pm 6,29$ мкмоль/л соответственно. Данные, приведенные в таблице 2, указывают, что ишемия и реперфузия почек сопровождаются резко выраженным снижением скорости клубочковой фильтрации; так у крыс с моделированием билатеральной ишемии СКФ на вторые сутки наблюдения снижалась в 1,8 раз по сравнению с интактными животными. На фоне применения дистантного ишемического и фармакологического прекондиционирования силденафилом отмечалось незначительное улучшение функции почек, о чем свидетельствует повышение среднего значения СКФ до $0,81 \pm 0,08$ мл/мин и $0,96 \pm 0,09$ мл/мин соответственно. Фармакологическая коррекция ишемических и реперфузионных повреждений тадалафилом достоверно повышало показатели СКФ до $1,16 \pm 0,04$ мл/мин, что свидетельствует о наиболее высоком ренопротективном потенциале. Блокада ключевой мишени для потенциальных фармакологических агентов глибенкламидом, не приводила к усугублению функциональных маркеров почечной недостаточности, однако не позволяла реализовывать ренопротективные эффекты ДИП, силденафила и тадалафила. В подтверждение гипотезы об усугублении течения почечного повреждения наличием коморбидной ADMA-ассоциированной патологии, средний показатель СКФ на фоне предварительного введения L-NAME составил $0,43 \pm 0,05$ мл/мин. Применение дистантного ишемического и фармакологического прекондиционирования ингибиторами фосфодиэстеразы силденафилом и тадалафилом на фоне блокады NO-синтазы позволило восстановить показатель СКФ до значений животных из группы с моделированием 30-минутной ишемии.

Заключение

Применение дистантного ишемического и фармакологического прекондиционирования ингибиторами фосфодиэстеразы 5 типа силденафилом и тадалафилом дает протективный эффект, выражающийся в улучшении показателей микроциркуляции и функционального состояния почки при её «тепловой ишемии». В реализации положительных эффектов дистантного ишемического и фармакологического прекондиционирования при «тепловой ишемии» почки значительную роль

Таблица 2. Показатели функционального состояния почек (M±m)
Table 2. Indices of the kidneys functional state (M±m)

Группы животных <i>Groups of laboratory animals</i>	Креатинин, мкмоль / л <i>Creatinine, μmol / L</i>	СКФ, мл/мин <i>Glomerular filtration rate, ml / min</i>
Интактные <i>Intact</i>	73,4±4,27	1,27±0,04
Ишемия <i>Ischemia</i>	141,9±11,09*	0,69±0,06*
Ишемия+ДИП <i>Ischemia + Distant Ischemic Preconditioning</i>	109,3±7,16**	0,81±0,08**
Ишемия + Силденафил <i>Ischemia + Sildenafil</i>	98,6±6,08**	0,96±0,09**
Ишемия + Тадалафил <i>Ischemia + Tadalafil</i>	87,5±4,97 ^x	1,16±0,04 ^x
Ишемия + Глибенкламид <i>Ischemia + Glibenclamide</i>	152±5,37*	0,51±0,07*
Ишемия + ДИП + Глибенкламид <i>Ischemia + Distant Ischemic Preconditioning + Glibenclamide</i>	133,7±5,4 ^y	0,76±0,1*
Ишемия + Силденафил + Глибенкламид <i>Ischemia + Sildenafil + Glibenclamide</i>	131,7±4,67 ^y	0,77±0,07*
Ишемия + Тадалафил + Глибенкламид <i>Ischemia + Tadalafil + Glibenclamide</i>	129,6±6,25 ^{xy}	0,82±0,06*
Ишемия + L-NAME <i>Ischemia + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	166,8±7,79**	0,43±0,05 ^x
Ишемия + ДИП + L-NAME <i>Ischemia + Distant Ischemic Preconditioning + N-nitro- L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	130±4,19 ^z	0,76±0,06 ^z
Ишемия + Силденафил + L-NAME <i>Ischemia + Sildenafil + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	115,5±6,26 ^z	0,74±0,1 ^z
Ишемия + Тадалафил + L-NAME <i>Ischemia + Tadalafil + N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME)</i>	122,2±6,29 ^z	0,79±0,07 ^z

Примечание:

* – p < 0,05 в сравнении с группой интактных;

x – p < 0,05 в сравнении с группой животных с 30-минутной ишемией;

y – p < 0,05 в сравнении с группой животных с 30-минутной ишемией и предварительным введением глибенкламида;

z – p < 0,05 в сравнении с группой животных с 30-минутной ишемией и предварительным введением L-NAME.

Comment:

* - p < 0.05 in comparison with the group of intact;

x - p < 0.05 in comparison with the group of animals after 30-minute ischemia;

y - p < 0.05 in comparison with group of animals after 30-minute ischemia and preliminary introduction of Glibenclamide;

z - p < 0.05 in comparison with the group of animals after 30-minute ischemia and preliminary introduction of N-nitro-L-arginine-methyl ester (L-NAME).

играет активация АТФ-зависимых K⁺ каналов. В условиях ADMA-подобного состояния (дефицит оксида азота в результате ингибирования eNOS введением L-NAME) расстройства микроциркуляции

и функционального состояния почки при «тепловой ишемии» более выражены, а положительные эффекты дистантного ишемического и фармакологического preconditionирования снижаются.

ЛИТЕРАТУРА

1. Лихванцев В.В., Мороз В.В., Гребенчиков О.А., Гороховатский Ю.И., Заржецкий Ю.В., Тимошин С.С., Левиков Д.И., Шайбакова В.Л. Ишемическое и фармакологическое preconditioning. *Общая реаниматология*. 2011;7(6):59. DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-59
2. Маслов Л.Н. Новые подходы к профилактике и терапии ишемических и реперфузионных повреждений сердца при остром инфаркте миокарда. *Сибирский медицинский журнал*. 2010;25(2-1):17-24.
3. Cohen MV, Baines CP, Downey JM. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP. *Annual Review of Physiology*. 2000;62:79-109. DOI: 10.1146/annurev.physiol.62.1.79
4. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, Yellon DM. Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2005;288(2):H971-6. DOI: 10.1152/ajpheart.00374.2004
5. Inserte J, Barrabés JA, Hernando V, Garcia-Dorado D. Orphan targets for reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2009;83(2):169-78. DOI: 10.1093/cvr/cvp109
6. Perrelli MG, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species. *World J Cardiol*. 2011;3(6):186-200. DOI: 10.4330/wjc.v3.i6.186
7. Ruiz-Meana M, García-Dorado D. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury: new therapeutic options for acute myocardial infarction. *Revista Española de Cardiología*. 2009;62(2):199-209. DOI: 10.1016/S1885-5857(09)71538-5
8. Ragulina VA, Kostina DA, Dovgan AP, Burda YE, Nadezhdin SV. Nuclear factor kappa B as a potential target for pharmacological correction endothelium-associated pathology. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2017;3(1):114-124. DOI: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-114-124
9. Danilenko LM, Klochkova GN, Kizilova IV, Korokin MV. Pharmacological preconditioning by recombinant erythropoietin as the possibility of increasing the stability of tissue of the retina to reperfusion ischemia in experiment. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016;2(3):95-100. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-95-100

Сведения об авторах

Брагчиков Олег Иванович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой урологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

ORCID iD 0000-0002-0906-9851

e-mail: bratov45@mail.ru

Покровский Михаил Владимирович – д.м.н., профессор, заведующий кафедрой фармакологии и клинической фармакологии Медицинского института, директор НИИ Фармакологии живых систем НИУ «БелГУ»

ORCID iD 0000-0004-4895-1674

e-mail: pokrovskii@bsu.edu.ru

Елагин Владислав Викторович – ассистент кафедры урологии ФГБОУ ВО КГМУ Минздрава России

ORCID iD 0000-0001-6403-6131

e-mail: vlad.elagin2014@yandex.ru

Костина Дарья Александровна – ассистент кафедры фармакологии и клинической фармакологии Медицинского института НИУ «БелГУ» Минобрнауки РФ

ORCID iD 0000-0002-4505-3988

e-mail: kostina_da@bsu.edu.ru

REFERENCES

1. Likhvantsev VV, Moroz VV, Grebenchikov OA, Gorokhovatsky YI, Zarzhetsky YV, Timoshin SS, Levikov DI, Shaibakova VL. Ischemic and Pharmacological Preconditioning. *General Reanimatology*. 2011;7(6):59. (In Russ.) DOI: 10.15360/1813-9779-2011-6-59
2. Maslov LN. New approaches to prophylaxis and therapy of ischemic and reperfusion damages of the heart at acute myocardial infarction. *Sibirskiyi medicinskiy jurnal*. 2010;25(2-1):17-24. (in Russ.)
3. Cohen MV, Baines CP, Downey JM. Ischemic preconditioning: from adenosine receptor to KATP. *Annual Review of Physiology*. 2000;62:79-109. DOI: 10.1146/annurev.physiol.62.1.79
4. Hausenloy DJ, Tsang A, Mocanu MM, Yellon DM. Ischemic preconditioning protects by activating prosurvival kinases at reperfusion. *Am. J. Physiol. Heart Circ. Physiol*. 2005;288(2):H971-6. DOI: 10.1152/ajpheart.00374.2004
5. Inserte J, Barrabés JA, Hernando V, Garcia-Dorado D. Orphan targets for reperfusion injury. *Cardiovasc Res*. 2009;83(2):169-78. DOI: 10.1093/cvr/cvp109
6. Perrelli MG, Pagliaro P, Penna C. Ischemia/reperfusion injury and cardioprotective mechanisms: Role of mitochondria and reactive oxygen species. *World J Cardiol*. 2011;3(6):186-200. DOI: 10.4330/wjc.v3.i6.186
7. Ruiz-Meana M, García-Dorado D. Pathophysiology of ischemia-reperfusion injury: new therapeutic options for acute myocardial infarction. *Revista Española de Cardiología*. 2009;62(2):199-209. DOI: 10.1016/S1885-5857(09)71538-5
8. Ragulina VA, Kostina DA, Dovgan AP, Burda YE, Nadezhdin SV. Nuclear factor kappa B as a potential target for pharmacological correction endothelium-associated pathology. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2017;3(1):114-124. DOI: 10.18413/2500-235X-2017-3-1-114-124
9. Danilenko LM, Klochkova GN, Kizilova IV, Korokin MV. Pharmacological preconditioning by recombinant erythropoietin as the possibility of increasing the stability of tissue of the retina to reperfusion ischemia in experiment. *Research result: pharmacology and clinical pharmacology*. 2016;2(3):95-100. DOI: 10.18413/2500-235X-2016-2-3-95-100

Information about the author

Oleg I. Bratchikov – MD, PhD (M), DMS, Full Professor, Head of the Department of Urology, Kursk State Medical University

ORCID iD 0000-0002-0906-9851

e-mail: bratov45@mail.ru

Mikhail V Pokrovskiy – MD, PhD (M), DMS, Full Professor, Head of the Medical Institute's Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Director of the Research Institute of Living System's Pharmacology, Belgorod National Research University

ORCID iD 0000-0004-4895-1674

e-mail: pokrovskii@bsu.edu.ru

Vladislav V. Elagin – MD, Assistant of the Department of Urology, Kursk State Medical University

ORCID iD 0000-0001-6403-6131

e-mail: vlad.elagin2014@yandex.ru

Darya A. Kostina – MD, Assistant of the Medical Institute's Department of Pharmacology and Clinical Pharmacology, Belgorod National Research University

ORCID iD 0000-0002-4505-3988

e-mail: kostina_da@bsu.edu.ru