

**Перспективи подальших досліджень.** Продовження вивчення блокади  $\beta$ -адренорецепторів за умов різної функціональної активності епіфіза та дослідження можливостей корекції виявлених порушень ниркових функцій за допомогою різноманітних фармацевтичних препаратів.

#### Література

1. Давыдова И.В. Бета-адреноблокаторы: механизмы действия, классификация, показания и противопоказания к применению / И.В. Давыдова // Кардиология. – 2009. – Т. 60, № 4. – С. 70-78.
2. Кривчанська М.І. Вплив анаприліну на показники іонорегулювальної та кислоторегулювальної функції нирок за умов гіпофункції шиш-

коподібної залози: Тези доп. Всеукр. наук.-практ. конф. молод. вчених [Акт. питання медичної науки та практики], 29 вересня 2011 р. / М.І. Кривчанська. – Запоріжжя, 2011. – Вип. 78, Т. 2, Кн. 1. – С. 20-26.

3. Пішак В.П. Вплив мелатоніну на хроноритми транспорту іонів натрію у нирках / В.П. Пішак, М.І. Милованова // Бук. мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 3. – С. 138-140.
4. Хронометричні особливості екскреторної функції нирок за умов гіпофункції шишкоподібної залози / В.П. Пішак, Р.Є. Булик, Н.М. Шумко [та ін.] // Бук. мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 1. – С. 94-96.

### ПОКАЗАТЕЛИ ПОЧЕЧНЫХ ФУНКЦИЙ В УСЛОВИЯХ СТАНДАРТНОГО РЕЖИМА ОСВЕЩЕНИЯ И ДЕЙСТВИЯ АНАПРИЛИНА

*В.П. Пішак, М.І. Кривчанська, М.І. Грицюк, Ю.В. Ломакіна, В.Г. Хоменко*

**Резюме.** В статье приведены особенности показателей почечных функций в условиях стандартного режима освещения и действия анаприлина. Это важно для изучения часовой организации ренальных функций, понимания природы хронопатологических явлений.

**Ключевые слова:** хроноритмы, анаприлин, функции почек,  $\beta$ -адреноблокаторы,  $\beta$ -адренорецепторы.

### INDICES OF THE RENAL FUNCTIONS UNDER THE STANDARD LIGHTING AND ANAPRILINUM ACTION

*V.P. Pishak, M.I. Kryvchanska, M.I. Hrytsiuk, Yu.V. Lomakina, V.H. Khomenko*

**Abstract.** The paper presents the peculiarities of the indices of the renal functions under the conditions of the standard lighting regimen and anaprilinum action. It is of great importance for better learning the time organization of the renal functions, understanding the nature of chronopathological phenomena.

**Key words:** chronorhythms, anaprilinum, renal functions, beta-adrenoblockers, beta-adrenoreceptors.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi, Ukraine)

Рецензент – проф. І.І. Заморський

Buk. Med. Herald. – 2012. – Vol. 16, № 3 (63), part 2. – P. 183-185

Надійшла до редакції 10.09.2012 року

© В.П. Пішак, М.І. Кривчанська, М.І. Грицюк, Ю.В. Ломакіна, В.Г. Хоменко, 2012

УДК 615.254-08-039.71

*М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская, О.И. Братчиков,  
И.Н. Должикова, С.В. Мягченко, В.А. Филимонов*

### ЭКСПРЕССИЯ ЭНДОГЛИНА И ЭНДОТЕЛИАЛЬНОЙ NO-СИНТАЗЫ В ПОЧКАХ ПРИ ДИСТАНТНОМ И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОМ ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИИ

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

**Резюме.** В статье изложены результаты исследований влияния дистантного прекодиционирования путем создания кратковременной ишемии конечностей и фармакологического прекодиционирования ингибиторами фосфодиэстеразы-5 на экспрессию эндотелиального фактора CD105 (эндоглина) и эндотелиальной NO-синтазы в клубочковых капиллярах почек в отдаленном периоде после ишемии-реперфузии. Установлено сопо-

ставимое протективное действие как дистантного, так и фармакологического прекодиционирования и их кумулятивный эффект. Обсуждаются возможные механизмы защитного действия прекодиционирования при ишемии-реперфузии почек.

**Ключевые слова:** ишемия-реперфузия почек, эндоглин, NO-синтаза.

© М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская, О.И. Братчиков, И.Н. Должикова, С.В. Мягченко, В.А. Филимонов, 2012

**Введение.** Одной из самых острых проблем при патологии сердечно-сосудистой системы, нарушениях мозгового кровообращения, медицинских манипуляциях, связанных с временным исключением кровотока, является профилактика ишемических и реперфузионных повреждений органов. Одним из перспективных подходов к решению данной проблемы является разработка методов, основанных на феномене прекодиционирования – включении механизмов повышения резистентности структур органов к недостаточному кровоснабжению. Данное явление впервые открыто С.Е. Mitty и соавт. [8] как повышение резистентности миокарда к повреждению путем коротких эпизодов коронарной ишемии. Спектр исследований в настоящее время вышел далеко за рамки ишемической болезни сердца. Сформировалось не менее перспективное направление фармакологического прекодиционирования, основанное на знаниях отдельных механизмов повышения резистентности органов к ишемии [1, 3, 4]. На разных моделях показано протективное действие ингибиторов фосфодиэстеразы-5 при ишемических [6] и токсических повреждениях миокарда [7], гипоксических повреждениях нейронов [5]. В связи с имеющимися неизученными аспектами проблемы нами была поставлена цель изучения эффектов дистантного и фармакологического прекодиционирования с применением ингибитора фосфодиэстеразы-5 тадалафила при ишемии-реперфузии почек.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на 60 белых лабораторных крысах-самцах массой 200-250 г. Животные распределены на шесть серий по 10 особей в каждой: контрольная (серия 1) и пять экспериментальных (табл.). Животных выводили из эксперимента через 21 сутки после моделирования ишемии. Для иммуногистохимического исследования изготавливали мультиблоку по типу технологии «TissueMicroarray» по 15 кусочков размером 3x3 мм из участков сохраненной почечной ткани. Используются поликлональные антитела к CD105 (SpringBioscience, USA; «Биовитрум») и эндотелиальной (eNOS) NO-синтазе (CellMarque, США; «Микротесты») в рекомендованных разведениях.

**Результаты исследования и их обсуждение.** На 21-е сутки после моделирования ишемии-реперфузии в почках завершаются процессы организации очагов некрозов с развитием нефросклероза различной степени выраженности. У интактных животных средняя относительная масса левой почки составляет 0,0049 г/г. На 21-е сутки во всех экспериментальных сериях масса левых почек снижена практически в равной степени: в серии 2 – 0,0035, серии 3 – 0,0031, серии 4 – 0,0032, серии 5 – 0,0030, серии 6 – 0,0032. Однако гравиметрические показатели не отражают структурные изменения, произошедшие в подвергнутых ишемии-реперфузии почках и в контрлатеральных почках. Через три недели после повреждения паренхимы левых почек на 50-75 % по ре-

зультатам обзорного патогистологического исследования замещена склеротической фиброзной тканью, тогда как в сериях с различными вариантами прекодиционирования нефросклеротические изменения имели сегментарный характер с поражением не более 50% почечной ткани. Закономерных изменений относительной массы правых почек, которая могла бы отражать компенсаторную гипертрофию, мы не выявили, но в группе 2 она была наибольшей (0,0042). Результаты количественной оценки экспрессии CD105 и eNOS представлены в таблице. В норме оба маркера относительно равномерно экспрессируются в эндотелии клубочковых капилляров, в несколько меньшей степени в перитубулярных капиллярах. Определяется яркая экспрессия в эндотелии мелких артерий (рис. 1, 2). На 21-е сутки после ишемии-реперфузии почек как визуально, так и при количественном анализе определяется достоверное снижение экспрессии обоих маркеров в клубочковых капиллярах (рис. 1Б, 2Б) вне зависимости от топографии и диаметров почечных телец. При корреляционном анализе не выявлено достоверной зависимости между экспрессией CD105 и eNOS во всех сериях, кроме 6-й (с введением глибенкламида). В этой серии коэффициент линейной корреляции составил 0,92, коэффициент корреляции Спирмена 0,88 ( $p < 0,05$ ). При различных вариантах прекодиционирования выявлены в целом положительные, но отличающиеся по степени выраженности эффекты. В серии 3 с дистантным прекодиционированием экспрессия CD105 приблизилась к значениям у интактных контрольных животных, экспрессия eNOS осталась достоверно ниже. Напротив, при фармакологическом прекодиционировании ингибитором фосфодиэстеразы-5 сиалисмом (серия 4) уровень экспрессии CD105 оказался ниже контрольных значений, а экспрессия eNOS вернулась к показателям у контрольных животных. При комбинированном прекодиционировании (серия 5) показатели экспрессии обоих маркеров не отличались от контрольных, уровень CD105 был даже несколько выше (таблица). Введение глибенкламида, как показывают количественный анализ и визуально наблюдавшиеся изменения, в равной степени блокирует эффект комбинированного прекодиционирования в отношении как CD105, так и eNOS.

### Выводы

1. Дистантное прекодиционирование путем кратковременной ишемии конечности и фармакологическое прекодиционирование ингибитором фосфодиэстеразы-5 сиалисмом обладает протективным эффектом на эндотелий сосудов клубочков почек, уменьшая степень повреждения в отдаленном периоде после ишемии-реперфузии, что реализуется по эндотелиального фактора (CD105) и эндотелиальной NO-синтазы (eNOS) зависимым путем.

2. При дистантном прекодиционировании восстановление экспрессии CD105 происходит

Таблица

## Количественные показатели экспрессии эндотелина (CD105) и эндотелиальной NO-синтазы (eNOS)

№ серии	Вид эксперимента	Удельная площадь иммунореактивного вещества (%) среднее значение + $\sigma$	
		CD105	eNOS
1	Контрольная серия	15,67±1,65	24,30±3,48
2	Ишемия-реперфузия левой почки	7,23±1,73*	5,73±1,82*
3	Дистантное прекондиционирование ишемия-реперфузия почки	14,47±1,55	15,80±1,94*
4	Фармакологическое прекондиционирование – ишемия- реперфузия почки	12,27±1,72*	25,63±3,09 5
5	Фармакологическое+дистантное прекондиционирование – ишемия реперфузия почки	17,8±1,47*	24,90±3,29
6	Фармакологическое+дистантное прекондиционирование на фоне введения глибенкламида – ишемия- реперфузия почки	6,80±1,61* *	7,03±1,77

Примечание. \* –  $p < 0,05$  по критерию t Стьюдента

раньше, чем eNOS; при фармакологическом пре-кондиционировании наблюдается обратная зависимость.

3. Дистантное и фармакологическое пре-кондиционирование обладают кумулятивным защитным эффектом при ишемии-реперфузии почек.

## Литература

1. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте / Е.Б. Артюшкова, Д.В. Пашков, М.В. Покровский [и др.] // Эксперим. и клин. фармакол. – 2008. – Т. 71, № 3. – С. 23-25.
2. Методические подходы для количественной оценки развития эндотелиальной дисфункции при L-NAME-индуцированной модели дефицита оксида азота в эксперименте / М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская [и др.] // Кубан. науч. мед. вестник. – 2006. – № 10 (91). – С. 72-77.
3. Фармакологическая коррекция L-аргинином «ADMA-ENOS-ассоциированных мишеней» при экспериментальной преэклампсии / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, В.В. Гуреев [и др.] // Кубан. науч. мед. вестник. – 2010. – № 1. – С. 85-92.
4. Phosphodiesterase-5 inhibition abolishes neuron apoptosis induced by chronic hypoxia independently of hypoxia-inducible factor-1  $\alpha$  signaling / A. Caretti, P. Bianciardi, R. Ronchi [et al.] // J. of Experimental Biology and Medicine. – 2012. – Vol. 233. – P. 1222-1230.
5. Das A. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis / A. Das, L. Xi, C. Kukreja // The J. of Biological Chemistry. – 2005. – Vol. 280, № 13. – P. 12944-12955.
6. Phosphodiesterase 5 inhibition with sildenafil attenuates cardiomyocyte apoptosis and left ventricular dysfunction in a chronic model of doxorubicin cardiotoxicity / P.W. Fisher, F.N. Salloum, A. Das [et al.] // Circulation. – 2005. – Vol. 111. – P. 1601-1610.
7. Murry C.E. Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer // Circulation. – 1986. – Vol. 14. – P. 1124-1136.

## ЕКСПРЕСІЯ ЕНДОГЛІНУ І ЕНДОТЕЛІАЛЬНОЇ NO-СИНТАЗИ В НИРКАХ ПРИ ДИСТАНТНОМУ І ФАРМАКОЛОГІЧНОМУ ПРЕКОНДИЦІОНУВАННІ

*М.В. Покровський, В.І. Кочкаров, Т.Г. Покровська, О.І. Братчиков, І.М. Должикова, С.В. Мягченко, В.А. Філімонов*

**Резюме.** У статті викладені результати досліджень впливу дистантного прекондиціонування шляхом створення короткочасної ішемії кінцівок і фармакологічного прекондиціонування інгібіторами фосфодіестерази-5 на експресію ендотеліального фактора CD105 (ендогліну) і ендотеліальної NO-синтази в клубочкових капілярах нирок у віддаленому періоді після ішемії-реперфузії. Встановлено зрівняну протективну дію як дистантного, так і фармакологічного прекондиціонування та їх кумулятивний ефект. Обговорюються можливі механізми захисної дії прекондиціонування при ішемії-реперфузії нирок.

**Ключові слова:** ішемія-реперфузія нирок, ендоглін, NO-синтаза.

**EXPRESSION OF ENDOGLIN AND ENDOTHELIAL NO-SYNTHASE IN THE KIDNEYS WITH DISTANT AND PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING**

*M.V. Pokrovsky, V.I. Kochkarov, T.G. Pokrovskaya, O.I. Bratchikov, I.N. Dolzhikova, S.V. Myagchenko, V.A. Filimonov*

**Abstract.** The paper sets forth the results of investigations of the influence of distant preconditioning via creating short-term ischemia of extremities and pharmacological preconditioning by means of the inhibitor of phosphodiesterase-5 on the expression of endothelial factor CD105 (endoglin) and endothelial NO-synthase in glomerular capillaries of the kidneys during a remote period following ischemia-reperfusion. A comparable protective action of both distant and pharmacological preconditioning and their cumulative effect have been established. Possible mechanisms of a protective action of preconditioning in renal ischemia-reperfusion are discussed.

**Key words:** renal ischemia-reperfusion, endoglin, NO synthase.

State National Research University (Belgorod, Russian Federation)

Рецензент – проф. І.І. Заморський

Buk. Med. Herald. – 2012. – Vol. 16, № 3 (63), part 2. – P. 185-188

Надійшла до редакції 10.09.2012 року

---

© М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская, О.И. Братчиков, И.Н. Должикова, С.В. Мягченко, В.А. Филимонов, 2012

УДК 615.254-08-039.71

*М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская, О.И. Братчиков, И.Н. Должикова, С.В. Мягченко, В.А. Филимонов*

**УРОВЕНЬ ЭКСПРЕССИИ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2 В ПОЧКАХ ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ И НА ФОНЕ ДИСТАНТНОГО И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ**

Белгородский государственный национальный исследовательский университет, Белгород, Россия

---

**Резюме.** В статье изложены результаты исследований влияния дистантного и фармакологического preconditionирования ингибитором фосфодиэстеразы-5 салисом на экспрессию циклооксигеназы-2 (СОХ-2) в почках при ишемии-реперфузии. Установлено выраженное влияние фармакологического preconditionирования на экспрессию СОХ-2 в почках, превышающее

эффект дистантного preconditionирования. Обсуждены возможные эффекты preconditionирующих влияний и роль СОХ-2.

**Ключевые слова:** ишемия почек, preconditionирование, фосфодиэстераза-5, циклооксигеназа-2.

---

**Введение.** Явление preconditionирования, открытое и впервые изученное С. Е. Murry и соавт. [7] как повышение резистентности миокарда к повреждению путем коротких эпизодов коронарной ишемии, в настоящее время является одним из перспективных в теоретическом и прикладном отношении направлений исследований в фармакологии. В результате изучения на различных моделях ишемического повреждения и влияния на него дистантного и фармакологического preconditionирования [1, 2, 3] выявлены многие механизмы preconditionирующих влияний. Одним из доказанных в ряде моделей preconditionирующим фармакологическим агентом являются ингибиторы фосфодиэстеразы-5 (ФДЭ-5). Их эффективность продемонстрирована при ишемических [5, 8, 9] и токсических повреждениях миокарда [6], гипоксических повреждениях нейронов [7]. Основной эффект ингибиторов ФДЭ-5

связан с увеличением накопления циклического гуанозинмонофосфата (ц-ГМФ).

**Цель исследования.** Изучить влияние дистантного и фармакологического preconditionирования с применением ингибитора ФДЭ-5 на экспрессию СОХ-2 в структурах почек в раннем и позднем периодах после моделирования ишемии-реперфузии.

**Материал и методы.** Исследование выполнено на 90 белых лабораторных крысах-самцах массой 200-250 г. Животные распределены на девять серий по десять особей в каждой: контрольная (серия 1) и восемь экспериментальных.

Животных выводили из эксперимента через 21 сутки после моделирования ишемии. Для иммуногистохимического исследования изготавливали мультиблоки по типу технологии «TissueMicroarray» по 15 кусочков размером 3x3 мм из участков сохранный почечной ткани.

---

© М.В. Покровский, В.И. Кочкаров, Т.Г. Покровская, О.И. Братчиков, И.Н. Должикова, С.В. Мягченко, В.А. Филимонов, 2012