

Влияние системной ишемии-реперфузии на уровень глюко- и минералокортикоидных рецепторов почек

Член-корр. РАН Л.А. Балыкова¹, к.м.н. Г.А. Байбурина²,
д.б.н. Т.В. Тарасова¹, д.м.н. Л.М. Мосина¹, к.м.н. А.Г. Стачук³, Д.А. Хайдар³,
Д.Э. Байбурина², Н.В. Карасева³, Р.С. Тарасов¹

¹ФГБОУ ВО «МГУ им. Н.П. Огарева», Саранск

²ФГБОУ ВО БГМУ Минздрава России, Уфа

³ФГАУ ВО РУДН, Москва

РЕЗЮМЕ

Введение: внезапное нарушение притока крови к почке вызывает ишемическое повреждение органа. Такие изменения кровотока могут возникать при нарушении системного кровотока. При устранении ишемии и восстановлении кровотока в почке восстанавливается реперфузия. В этот период происходит неспецифическая перестройка физиологических и биохимических процессов как в самом органе, так и в организме в целом. Восстановление почки происходит под действием кортикостероидных гормонов.

Цель исследования: выявить влияние системной ишемии-реперфузии на уровень глюко- и минералокортикоидных рецепторов почек.

Материал и методы: в исследование было включено 80 самцов белых крыс. Все животные были разделены на две группы: основную (n=70; по 10 крыс на каждый этап наблюдения) и группу контроля (n=10). В основной группе наблюдения создавали модель системной ишемии-реперфузии. У всех животных определяли уровень глюкокортикоидов и минералокортикоидов в сыворотке крови. Также исследовали количество глюко- и минералокортикоидных рецепторов в почках. Мониторинг за животными осуществлялся на 1, 3, 5, 7, 14, 21 и 35-е сутки.

Результаты исследования: в первые сутки наблюдения у животных основной группы был резкий скачок содержания глюко- и минералокортикоидов в сыворотке крови в ответ на системное повреждение почек. К 3-му дню уровень этих гормонов резко падал и на протяжении 30 дней не восстанавливался до исходных значений. Количество рецепторов к этим гормонам в почке было самое низкое также на 3-й день (p<0,05). Динамика восстановления уровня рецепторов к кортикостероидам была в 3 раза быстрее по сравнению с рецепторами к минералокортикоидам.

Заключение: после остановки системного кровообращения возникает ишемия-реперфузия почки с резким выбросом глюко- и минералокортикоидов. Уровень кортикостероидных рецепторов в почках крыс приближается к исходным значениям ближе к 30-му дню и обусловлен сроками восстановления после ишемически-реперфузионного повреждения, что обеспечивает устойчивость особи к гипоксии.

Ключевые слова: кортикостероиды, глюкокортикоидные рецепторы, минералокортикоидные рецепторы, ишемия-реперфузия, повреждение почки.

Для цитирования: Балыкова Л.А., Байбурина Г.А., Тарасова Т.В. и др. Влияние системной ишемии-реперфузии на уровень глюко- и минералокортикоидных рецепторов почек. *PMЖ.* 2022;7:28–31.

ABSTRACT

The effect of systemic ischemia-reperfusion injury on the level of gluco- and mineralocorticoid receptors of the kidneys

L.A. Balykova¹, G.A. Bayburina², T.V. Tarasova¹, L.M. Mosina¹, A.G. Stachuk³, D.A. Khaidar³, D.E. Bayburina², N.V. Karaseva³, R.S. Tarasov¹

¹Ogarev Mordovia State University, Saransk

²Bashkir State Medical University, Ufa

³Russian University of Peoples' Friendship, Moscow

Background: sudden blood flow disturbance through the renal artery causes ischemic organ damage. Such changes in blood flow can occur when the systemic blood supply is disrupted. During the ischemia elimination and restoration of renal blood flow, reperfusion is restored. Upon this period, there is a nonspecific alteration of physiological and biochemical processes both in the organ itself and in the body as a whole. The kidney is restored under the action of corticosteroid hormones.

Aim: to identify the effect of systemic ischemia-reperfusion injury on the level of gluco- and mineralocorticoid receptors of the kidneys.

Materials and Methods: 80 male white rats were included in the study. All animals were divided into two groups: the main group (n=70; 10 rats for each follow-up stage) and the control group (n=10). In the main study group, we created a model of systemic ischemia-reperfusion injury. In all animals, we determined the level of serum glucocorticoids and mineralocorticoids. We also examined the number of gluco- and mineralocorticoid receptors in the kidneys. Follow-up of animals was conducted on 1, 3, 5, 7, 14, 21 and 35 days.

Results: on the first day of follow-up, the main group had a sharp jump in the content of serum gluco- and mineralocorticoids in response to systemic kidney disease. By the third day, the level of these hormones dropped sharply and did not recover to its baseline values for 30 days. The number of receptors for these hormones in the kidney was the lowest also on the third day (p<0.05). The tendency of corticosteroid receptor recovery was 3 times faster versus mineralocorticoid receptors.

Conclusion: *ischemia-reperfusion injury of the kidney occurs with a sharp release of gluco- and mineralocorticoids after the systemic circulation stops. The level of corticosteroid receptors in the kidneys of rats approaches the baseline values closer to the 30th day and is due to the recovery time after ischemia-reperfusion injury, which ensures the tolerance of the subject to hypoxia.*

Keywords: *corticosteroids, glucocorticoid receptors, mineralocorticoid receptors, ischemia-reperfusion injury, kidney disease.*

For citation: *Balykova L.A., Bayburina G.A., Tarasova T.V. et al. The effect of systemic ischemia-reperfusion injury on the level of gluco- and mineralocorticoid receptors of the kidneys. RMJ. 2022;7:28–31.*

ВВЕДЕНИЕ

Почка — это орган, который очень чувствителен к нарушениям гемодинамики и ишемии [1]. Ишемия-реперфузия почки связана с высокой заболеваемостью и смертностью, причем эффективные методы лечения этого состояния отсутствуют. Ишемически-реперфузионное повреждение почек обусловлено двумя ключевыми факторами: внезапным затруднением притока крови к органу (ишемия) и восстановлением кровотока (реперфузия), которое не всегда приводит к полной регенерации тканей органа [2]. Ишемия-реперфузия почки в половине случаев является причиной возникновения острой почечной недостаточности. Работа зарубежных исследователей [3] показала, что ишемия-реперфузия почки также может быть фактором риска развития хронической болезни почек (ХБП).

Ишемия-реперфузия почки может возникнуть на фоне системных нарушений (кровопотеря, сужение сосудов, токсические повреждения, изменение артериального давления и т. д.) [4], а также при медицинских вмешательствах (трансплантация почки, аортальное шунтирование) [5]. Комплекс защитно-компенсаторных реакций, возникающих в результате экстремальной гипоксии, в первую очередь включает активацию гипоталамо-гипофизарно-адреналовой системы. Известно, что под действием кортикостероидных гормонов при стрессе любой этиологии происходит неспецифическая перестройка физиологических и метаболических процессов, необходимая для обеспечения согласованного функционирования всех систем организма и приспособления к патогенному фактору [6]. Также на фоне гипоксии тканей возникает оксидативный стресс, который способствует вторичному повреждению клеток [7–10]. Поэтому патологические процессы, возникающие в почке при ишемии-реперфузии, заключаются в нарушении почечной гемодинамики, повреждении канальцев нефрона, воспалительном процессе, активирующем пути пролиферации и гибели клеток [11].

В каскаде ответной реакции на ишемически-реперфузионное повреждение почек в основном страдает микроциркуляторное русло. В отличие от эпителиальных клеток канальцев нефрона, эндотелиальные клетки сосудистого клубочка обладают плохой способностью к репарации, что приводит к стойкому снижению плотности сосудов на 30–50% после ишемии-реперфузии. Считается, что снижение плотности сосудов в почке способствует гипоксии, ухудшает реабсорбцию натрия, что приводит к развитию ХБП и гипертонии [12].

При нарушении системного кровоснабжения эффекты кортикостероидных гормонов могут быть существенно искажены из-за изменения чувствительности рецепторов тканей-мишеней и расстройств процессов биотрансформации гормонов, что может вызвать серьезные дезадаптивные последствия [13]. Поэтому изучение реакции устойчивости к гипоксии после ишемически-реперфузионных нарушений является актуальной задачей.

Цель исследования: выявить влияние системной ишемии-реперфузии на уровень глюко- и минералокортикоидных рецепторов почек.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследование носило экспериментальный характер. В эксперимент было включено 80 половозрелых самцов белых крыс. При проведении исследования соблюдались этические принципы, установленные Европейской конвенцией по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей (Страсбург, 1986).

Все животные были разделены на две группы: основную (n=70; по 10 крыс на каждый этап наблюдения), в которой мы создавали модель системной ишемии-реперфузии, и контрольную (n=10), где модель системной ишемии-реперфузии не создавалась.

Вначале всем животным обеих групп давали эфирный наркоз. Затем животным основной группы моделировали 5-минутную остановку системного кровообращения путем пережатия сосудистого пучка сердца интраторакально. Далее этим животным осуществляли реанимационные мероприятия: наружный массаж сердца и искусственную вентиляцию легких. В контрольной группе крыс после эфирного наркоза остановку кровообращения не воспроизводили.

Мы оценивали реакцию устойчивости к гипоксии после сформированной системной ишемии-реперфузии на основании уровня глюко- и минералокортикоидных гормонов в сыворотке крови и рецепторов этих гормонов в тканевых гомогенатах почки. Гормоны плазмы крови (кортикостерон, альдостерон) изучали иммунорадиометрическим методом с использованием стандартных тест-систем фирмы IMMUNOTECH (Франция) и подсчетом *in vitro* на счетчике ГСБ-1 «Гамма-12» согласно протоколу производителя. Уровень глюко- и минералокортикоидных рецепторов определяли на анализаторе StatFox 2100 методом иммуноферментного анализа с использованием стандартных тест-наборов ELISA Kit (Китай) фирмы Cloud-CloneCorp (США).

Показатели устойчивости к системной ишемии-реперфузии изучали на 1, 3, 5, 7, 14, 21 и 35-е сутки.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием пакета программ Statistica 8.0. Для установления различий между группами применяли непараметрические критерии Крускала — Уоллиса (H), Манна — Уитни (U) и Данна. Различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В 1-е сутки постреанимационного периода мы зафиксировали выраженный скачок плазменной концентрации кортикостерона (рис. 1) и альдостерона (рис. 2) в основной группе животных на 29,4 и 20,3% по сравнению с кон-

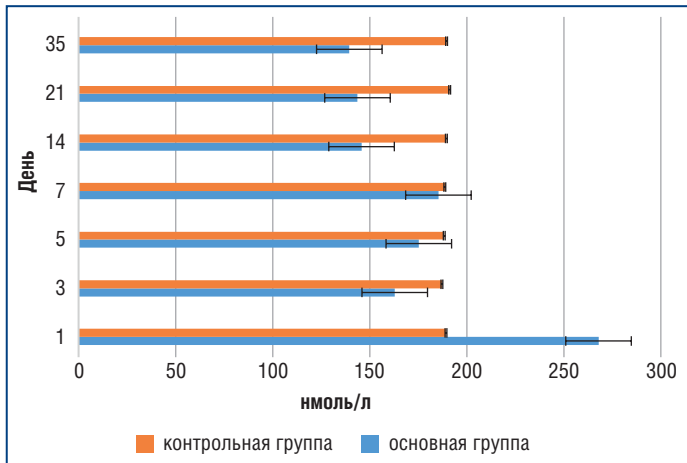


Рис. 1. Динамика уровня кортикостерона сыворотки крови в основной и контрольной группах животных ($p < 0,05$)

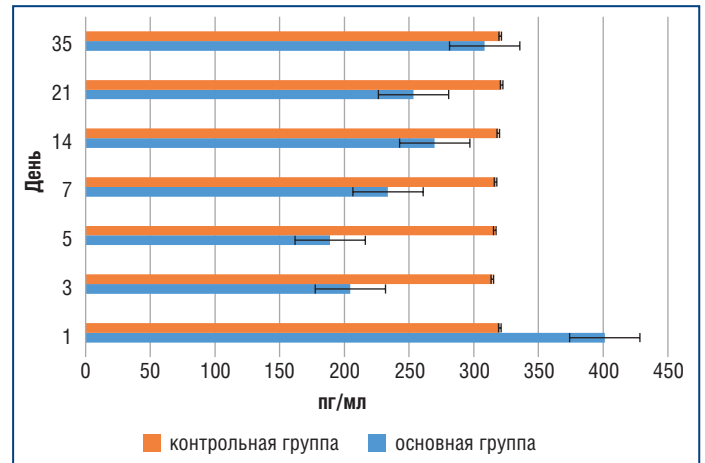


Рис. 2. Динамика уровня альдостерона сыворотки крови в основной и контрольной группах животных ($p < 0,05$)

трольной группой ($p < 0,05$). Однако не произошло ожидаемого скачка содержания рецепторов к кортикостероидам у экспериментальных крыс: уровень рецепторов к глюкокортикоидам остался на контрольных цифрах ($p = 0,8206$) (рис. 3), а к минералокортикоидам снизился на 15,5% ($p < 0,05$) (рис. 4). К третьему дню наблюдения показатели гормонов коркового вещества надпочечников (кортикостерона и альдостерона) снизились на 39,2 и 49,1% соответственно по сравнению с показателями этой группы в первый день ($p < 0,001$) и на 13 и 35% соответственно по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$). Далее на протяжении всего срока наблюдения показатели сывороточного кортикостерона колебались от $139,52 \pm 27,36$ до $185,46 \pm 28,65$ нмоль/л ($p < 0,05$), а уровень сывороточного альдостерона неуклонно увеличивался и достиг почти исходного уровня ($p < 0,05$).

У животных основной группы мы наблюдали кратковременный период (на протяжении первых 3 дней) снижения содержания как глюкокортикоидных ($p < 0,05$), так и минералокортикоидных ($p < 0,01$) рецепторов (см. рис. 3, 4). Этот факт можно объяснить возможной структурно-функциональной перестройкой физиологических и биохимических систем для реализации комплекса реакций адаптации к изменившимся внутренним условиям. Начиная с 5-го дня постреанимационного периода мы наблюдали постепенное повышение активности глюкокортикоидных и снижение активности минералокортикоидных рецепторов. Причем уровень глюкокортикоидных рецепторов плавно нарастал и к окончанию срока наблюдения достоверно был выше на 23% ($p < 0,05$) (см. рис. 3).

Динамику роста уровня минералокортикоидных рецепторов мы зафиксировали через 2 нед. после ишемически-реперфузионного повреждения (см. рис. 4). К окончанию срока наблюдения уровень рецепторов к минералокортикоидам достоверно не отличался от показателей в контрольной группе животных.

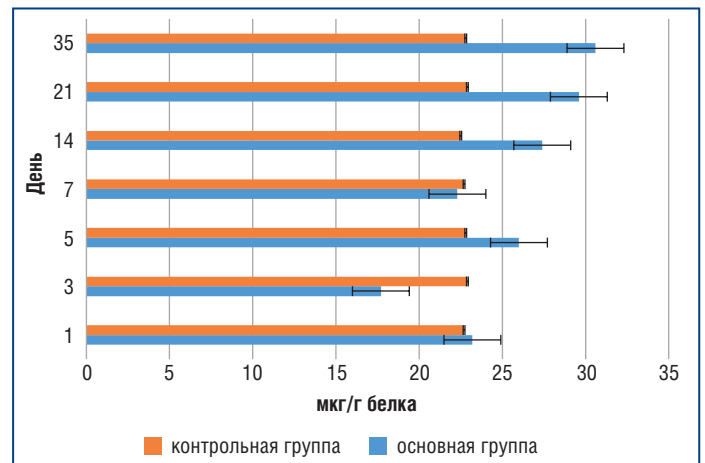


Рис. 3. Динамика содержания глюкокортикоидных рецепторов в почках крыс в постреанимационном периоде ($p < 0,05$)

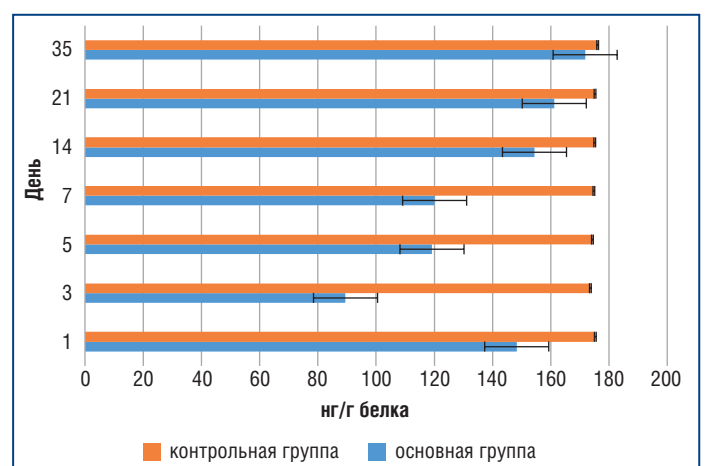


Рис. 4. Динамика содержания минералокортикоидных рецепторов в почках крыс в постреанимационном периоде

ОБСУЖДЕНИЕ

Адаптация к гипоксии — это реакция, направленная на поддержание жизнедеятельности организма в условиях дефицита кислорода. Она контролируется центральными, межклеточными и внутриклеточными регуляторными механизмами. В период срочного генерализованного

ответа на гипоксию происходит одномоментная активация различных сигнальных систем регуляции и увеличивается срочная резистентность организма к недостаточности кислорода [14]. Ведущую роль в этом процессе играет система «гипоталамус — гипофиз — надпочечники» и ее основные медиаторы — катехоламины и кортикостерои-

ды. В этот период также активируются множественные подчиненные сигнальные системы, которые обеспечивают формирование срочной компенсаторной защитной реакции организма в ответ на гипоксию [6].

Почка является одним из основных органов-мишеней при нарушении системного кровообращения. Исследование [15] показало, что альдостерон через минералокортикоидную сигнализацию играет ключевую роль в патогенезе ишемически-реперфузионного повреждения почки, проявляющегося в развитии прогрессирующей почечной дисфункции, протеинурии, гломерулосклероза, тубулоинтерстициального фиброза и т. д. Реакция почечной гемодинамики в ответ на реперфузионное повреждение после ишемии почки была изучена на животных моделях [12]. После снятия окклюзии почечной артерии общий кровоток в почке восстанавливается до исходного уровня и может оставаться в референсных пределах в течение нескольких минут с последующим снижением скорости кровотока на несколько часов. Было доказано, что мозговое вещество почки более подвержено влиянию гипоксии по сравнению с корковым веществом. Поэтому снижение перфузии мозгового вещества приводит к более глубоким повреждениям морфологических структур этой области [12].

Зарубежные исследователи [2] оценили влияние дефицита витамина D на устойчивую ишемию-реперфузию почки. Было обнаружено, что у крыс с дефицитом витамина D происходит снижение плотности капилляров сосудистого клубочка. Более того, у крыс с нарушением кровоснабжения почки на фоне недостаточности витамина D имелась выраженная инфильтрация активированных CD4⁺ и CD8⁺ клеток. Эти данные свидетельствуют о том, что дефицит витамина D снижает репаративную реакцию почки в ответ на ишемически-реперфузионное повреждение. Изменение плотности капилляров способствует развитию фиброза и воспаления, что отражается в дальнейшем на функции почки [3].

A. Hosszu et al. [16] на основании клинических и экспериментальных наблюдений выявили гендерные различия в восстановлении почки после ишемически-реперфузионного повреждения. Эти выводы возникли не только из-за половых различий в анатомии и физиологии почек. R. Tanaka et al. [17] выяснили, что устойчивость к острому ишемическому повреждению почек была выше у самок крыс по сравнению с самцами. Авторы обнаружили, что в развитии острого ишемического повреждения почек огромную роль играет норадреналин, уровень которого повышается после реперфузии. А эндогенный эстроген оказывает угнетающее действие на симпатическую нервную систему и тем самым ускоряет адаптацию животного к возникшей ишемии почки [17]. Позже эти данные подтвердила другая группа исследователей [16], которые продемонстрировали данные, свидетельствующие о защите женских половых гормонов от гипоксии и прямой корреляции мужских гормонов с тяжестью ишемически-реперфузионного повреждения почек.

В коррекции ишемически-реперфузионного повреждения почки используют разные группы препаратов: антиоксиданты, ангиопротекторы, нефропротекторы и т. д. [9, 18, 19]. По данным R. Varba-Navarro et al. [20], блокада минералокортикоидных рецепторов спиронолактоном (до или даже после ишемии) предотвращает острое функциональное и структурное повреждение, вызванное ишемией-реперфузией.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Почка является органом, который очень чувствителен к нарушениям гемодинамики и ишемии. После остановки системного кровообращения возникает ишемия-реперфузия почки с резким выбросом глюко- и минералокортикоидов. После ишемически-реперфузионного повреждения динамическое увеличение уровня глюкокортикоидных рецепторов в почке наблюдается с 5-го дня. Восстановление уровня минералокортикоидных рецепторов наблюдается с 14-го дня. Следовательно, в ранний постреанимационный период почка наиболее уязвима к действию факторов ремоделирования и фиброза. Уровень гормонов коркового вещества надпочечников и кортикостероидных рецепторов в почках крыс приближается к исходным значениям ближе к 30-му дню и обусловлен сроками восстановления после ишемически-реперфузионного повреждения, что обеспечивает устойчивость особи к гипоксии.

Литература

1. Zheng H.F., Zhang Y.N., He J.N. et al. Hydroxychloroquine Inhibits Macrophage Activation and Attenuates Renal Fibrosis After Ischemia-Reperfusion Injury. *Front Immunol.* 2021;12:645100. DOI: 10.3389/fimmu.2021.645100.
2. Громов А.И., Буилов В.М. Лучевая диагностика и терапия в урологии: национальное руководство. М.: ГЭОТАР-Медиа; 2011. [Gromov A.I., Builov V.M. Radiation diagnostics and therapy in urology. M.: GEOTAR-Media; 2011 (in Russ.).]
3. De Bragança A.C., Volpini R.A., Mehrotra P. et al. Vitamin D deficiency contributes to vascular damage in sustained ischemic acute kidney injury. *Physiol Rep.* 2016;4(13):e12829. DOI: 10.14814/phy2.12829.
4. Деметьев И.О., Ньюшко К.М., Карякин О.Б. и др. Роль биомаркеров острого повреждения почек в прогнозировании функциональных результатов хирургического лечения у больных локализованным раком почки. Исследования и практика в медицине. 2021;8(3):97–107. [Demetev I.O., Nyushko K.M., Karyakin O.B. et al. The role of biomarkers of acute kidney injury in predicting functional outcomes of surgical treatment of patients with localized kidney cancer. *Research Practical Med J.* 2021;8(3):97–107 (in Russ.).] DOI: 10.17709/2410-1893-2021-8-3-9.
5. Pabla N., Bajwa A. Role of Mitochondrial Therapy for Ischemic-Reperfusion Injury and Acute Kidney Injury. *Nephron.* 2022;146(3):253–258. DOI: 10.1159/000520698.
6. Байбурина Г.А., Нургалева Е.А., Самигуллина А.Ф., Аглетдинов Э.Ф. Влияние устойчивости к гипоксии на соотношение между показателями свободнорадикального окисления липидов и белков в почках крыс в постреанимационном периоде. Казанский медицинский журнал. 2017;98(6):949–954. [Bayburina G.A., Nurgaleeva E.A., Samigullina A.F., Agletdinov E.F. Effect of hypoxia tolerance on the relation between indicators of free radical oxidation of lipides and proteins in murine kidneys during the post-resuscitation period. *Kazan medical journal.* 2017;98(6):949–954 (in Russ.).] DOI: 10.17750/KMJ2017-949.
7. Кульченко Н.Г. Основные виды антиоксидантной терапии патоспермии. Вестник медицинского института «РЕАВИЗ»: реабилитация, врач и здоровье. 2018;1(31):41–48. [Kulchenko N.G. Antioxidant therapy for patospermia. *Bulletin of the Medical Institute "REAVIZ". Rehabilitation, Doctor and Health.* 2018;1(31):41–48 (in Russ.).]
8. Артемов Д.В., Зулкарнаев А.Б. Современный взгляд на патогенез синдрома ишемии-реперфузии при трансплантации почки. Нефрология. 2018;22(6):23–29. [Artemov D.V., Zulkarnaev A.B. The modern view on the pathogenesis of the ischemia-reperfusion syndrome in kidney transplantation. *Nephrology.* 2018;22(6):23–29 (in Russ.).] DOI: 10.24884/1561-6274-2018-22-6-23-29.
9. Zografos C.G., Chrysikos D., Pittaras T. et al. The Effects of Ascorbic Acid and U-74389G on Renal Ischemia-Reperfusion Injury in a Rat Model. *In Vivo.* 2020;34(5):2475–2484. DOI: 10.21873/invivo.12063.
10. Кульченко Н.Г. Оксидативный стресс в развитии необструктивной азооспермии. Трудный пациент. 2017;15(4–5):44–46. [Kulchenko N.G. Oxidative stress in the development of non-obstructive azoospermia. *Difficult patient.* 2017;15(4–5):44–46 (in Russ.).]
11. Кит О.И., Водолазский Д.И., Димитриади С.Н. и др. Активность проапоптотических генов повышается после ишемии/реперфузии почки. Молекулярная биология. 2017;51(3):502–511. [Kit O.I., Vodolazhsky D.I., Dimitriadi S.N. et al. The activity of proapoptotic genes increases after renal ischemia/reperfusion. *Molecular Biology.* 2017;51(3):502–511 (in Russ.).] DOI: 10.7868/S0026898417030090.
12. Basile D.P., Yoder M.C. Renal endothelial dysfunction in acute kidney ischemia reperfusion injury. *Cardiovasc Hematol Disord Drug Targets.* 2014;14(1):3–14. DOI: 10.2174/1871529x1401140724093505.
13. Jaisser F., Farman N. Emerging roles of the mineralocorticoid receptor in pathology: toward new paradigms in clinical pharmacology. *Pharmacol Rev.* 2016;68(1):49–75. DOI: 10.1124/pr.115.011106.

Полный список литературы Вы можете найти на сайте <http://www.rmj.ru>