

УДК 616-092.4:616-092.9:616.61:571.27  
DOI 10.34014/2227-1848-2021-1-133-142

## ОСОБЕННОСТИ ПУРИНОВОГО ОБМЕНА В КОРКОВОМ ВЕЩЕСТВЕ ПОЧЕК ПРИ ИШЕМИИ С ПОСЛЕДУЮЩЕЙ РЕПЕРФУЗИЕЙ ОДНОЙ ИЗ НИХ (ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ)

М.Н. Дурицкий, Е.М. Франциянц, И.В. Каплиева, О.И. Кит

ФГБУ «Научный медицинский исследовательский центр онкологии»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации,  
г. Ростов-на-Дону, Россия

*Частичная нефрэктомия – стандарт лечения небольших опухолей почек. Ее неблагоприятный эффект – постгипоксическое повреждение нефронов, приводящее к нарушению их функциональной активности. Чувствительными маркерами тканевой гипоксии являются пурины.*

*Цель – изучить динамику пуринов и их расчетных коэффициентов в корковом веществе почек при 20-минутной ишемии с последующей реперфузией одной из них в эксперименте.*

*Материалы и методы. На 61 старом самце белых беспородных крыс исследована динамика аденина, гуанина, ксантина, гипоксантина и мочевой кислоты (МК) в корковом веществе почек: ишемизированной и контралатеральной – после 20-минутной ишемии с последующей реперфузией (1, 3 и 48 ч) одной из них; контроль – интактные крысы. Метод определения – прямая спектрофотометрия водного раствора термокоагулянта лизатов клеток почек.*

*Результаты. 20-минутная ишемия одной из почек сопровождалась рецессией пуринов в обеих почках, в большей степени – в ишемизированной. На ранних сроках реперфузии (1–3 ч) в почках регистрировались однотипные сдвиги пуринов и их расчетных коэффициентов. Содержание МК было одинаково низким, как и на этапе ишемии; концентрации других пуринов в контралатеральной почке уже через 1 ч реперфузии восстанавливались до интактных значений, а в ишемизированной – не достигали интактного уровня и через 3 ч; на фоне увеличения интенсивности пуринового обмена снижалась активность ксантиноксидазы и уменьшалась выраженность гипоксии. Через 48 ч содержание всех пуринов уменьшалось повторно, причем МК – ниже ишемических значений; динамика интенсивности пуринового обмена, активности ксантиноксидазы и проявлений гипоксии соответствовала ранним срокам реперфузии, но выраженность ее была больше.*

*Выводы. Полученные данные надо учитывать при ведении возрастных пациентов мужского пола, подвергшихся ишемии-реперфузии одной из почек, в раннем послеоперационном периоде.*

**Ключевые слова:** пурины, ишемия почки, реперфузия почки, старые крысы, самцы.

**Введение.** Рак почки является одним из 10 наиболее распространенных видов рака и часто диагностируется при размерах опухоли менее 4 см в диаметре. Частичная нефрэктомия – это стандартное оперативное пособие при удалении небольших опухолевых образований почек [1]. Такой вид лечения при опухолях почек T1a, согласно популяционным исследованиям, используется в 49,4 % случаев, тогда как центры передового опыта сообщают о 90 % прооперированных таким образом пациентов [2]. Резекция почки – технически сложная процедура, которая дает адекватный онкологический результат с макси-

мальным сохранением почечной функции. Функциональная польза при резекции почки зависит от количества и качества оставшихся нефронов [3].

Ишемическое-реперфузионное повреждение считается одной из основных причин нарушения функции почек после резекции. Оно включает ишемическое повреждение, вторичное по отношению к пережатию сосуда (теплая или холодная ишемия), а также реперфузионное повреждение, вторичное по отношению к генерации активных форм кислорода и дальнейшему воспалению. Время тепловой ишемии – это хирургически изменяемый фак-

тор, который, как было показано, влияет на послеоперационную функцию почек [4–7]. Современные точки зрения на влияние тепловой ишемии противоречивы: некоторые морфометрические исследования не выявляют значительной атрофии паренхимы почек после тепловой ишемии [8], тогда как другие свидетельствуют о том, что пациентам с предоперационной хронической болезнью почек полезно избегать такого воздействия во время удаления опухоли [9, 10].

Считается, что гипоксия, связанная с ишемизацией органов, имеет патологические эффекты. Однако она также участвует и в поддержании нормальных физиологических функций. На клеточном уровне адаптация включает переключение энергетического метаболизма с окислительного фосфорилирования на анаэробный гликолиз, который увеличивает поглощение глюкозы и экспрессию стрессовых белков, связанных с выживанием или смертью клеток [11]. Изменение белков, например фосфорилирование, или изменение их окислительно-восстановительного состояния в основном происходят в ответ на острую гипоксию (в течение нескольких минут), в то время как изменение экспрессии генов – в ответ на хроническую гипоксию, продолжающуюся от нескольких минут до нескольких часов.

Пурины – гетероциклические органические азотистые вещества, входящие в состав нуклеотидов и нуклеозидов. Они являются важными структурными элементами нуклеиновых кислот (ДНК, РНК), источников энергии (АТФ) и ферментов (НАДФ, НАД, ФАД). Количество пуринов в здоровом организме зависит от пола, возраста и физической подготовленности человека. Как оказалось, пурины участвуют и в целом ряде патологических состояний, в т.ч. являются чувствительными маркерами последствия ишемии – тканевой гипоксии [12–16].

**Цель исследования.** Изучение динамики пуринов и их расчетных коэффициентов в корковом веществе почек при 20-минутной ишемии с последующей реперфузией одной из них в эксперименте.

**Материалы и методы.** Работа проведена на старых самцах белых беспородных крыс (n=61). Выбор такого контингента эксперимен-

тальных животных был обусловлен тем, что рак почки – это по большей части возрастная патология, кроме того, старые крысы, как более крупные, обеспечивают достаточным количеством материала для исследования, что требует меньшего расхода животных. Крысы содержались при естественном режиме освещения со свободным доступом к воде и пище. Для воспроизведения экспериментальной ишемии использована модель «две почки, один зажим».

Работа с животными осуществлялась в соответствии с правилами «Европейской конвенции о защите животных, используемых в экспериментах» (директива 86/609/ЕЕС) и приказом Минздрава России от 19.06.2003 № 267 «Об утверждении правил лабораторной практики». Исследование было одобрено биоэтическим комитетом по работе с животными ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России (протокол от 26.11.2014 № 3/11).

Предварительно всех животных вводили в ксила-золетилловый наркоз: 0,05 мл/кг массы тела ксилазина и 1 мг/10 г массы тела золетила 50; способ введения – внутримышечный. Наркотизированных крыс размещали в положении «на спине» и делали разрез вдоль срединной линии живота, предварительно удалив с кожи шерсть. На выделенную сосудистую ножку правой почки накладывали зажим Холстеда на 20 мин. Операционную рану на протяжении экспериментального воздействия накрывали салфеткой, смоченной физиологическим раствором. После 20-минутной ишемии зажим Холстеда снимали, тем самым восстанавливали кровоснабжение ишемизированной почки (реперфузия). На рану послойно накладывали швы и выводили животных из наркоза. Все манипуляции проводили в условиях строгой асептики. Через определенные промежутки времени от момента реперфузии (1, 3 и 48 ч) крыс умерщвляли декапитацией.

Критический срок ишемии – 20 мин – был выбран в связи с тем, что на этом этапе изменялся цвет (обычный цвет почечной ткани становился темно-вишневым) и размер (увеличение за счет отека) ишемизированной почки. Крыс декапитировали на гильотине. Обе почки изымали на льду и выделяли из них корковую составляющую. Корковое вещество ткани в количестве 100 мг промывали 1×фос-

фатно-солевым буфером (PBS), гомогенизировали в 1 мл 1×PBS и оставляли на ночь при -20 °С. Для полного разрушения клеточных мембран проводили два цикла замораживания-оттаивания. Полученную суспензию центрифугировали 5 мин при 5000 g (2–8 °С). Супернатант отбирали, делили на аликвоты и хранили при -20 °С.

В тканях методом прямой спектрофотометрии в водном растворе термокоагулянта лизатов клеток почек по методике Е.В. Орешникова и соавт. (2008) определяли метаболиты пуринов: аденина (А), гуанина (Г), гипоксантина (ГК), ксантина (К) и мочевой кислоты (МК) [13]. Вычисляли расчетные коэффициенты. Активность ксантиноксидазы (КО) – ключевого фермента окисления пуринов – на разных этапах ее работы оценивали путем вычисления соотношений К/ГК, МК/К, МК/ГК. Отношение К/ГК отражает активность работы КО на первом этапе – превращение ГК в К, отношение МК/К – активность работы КО на втором этапе – превращение К в МК, а отношение МК/ГК – общую активность фермента. В качестве индикатора интенсивности пуринового обмена (ИПО) рассчитывали величину, определяющую уровень необратимого катаболизма пуринов:  $ИПО = \frac{ГК}{К + МК}$ . Также вычисляли показатель тяжести гипоксии (ПТГ):  $ПТГ = \frac{К}{Г}$  [13]. В качестве контроля исследовали ложно оперированных животных соответствующего пола и возраста без ишемии.

Статистическую обработку полученных результатов проводили при помощи программы Statistica 10.0. Все результаты были проверены на соответствие закону о нормальном распределении (критерий Шапиро–Уилка). Для показателей с нормальным распределением использовали критерий Стьюдента, для показателей, распределение которых не соответствовало нормальному, – критерий Манна–Уитни. Данные представлены в виде среднего арифметического значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Значимыми считали отличия при  $p < 0,05$ .

**Результаты.** Под действием 20-минутной ишемии уменьшалось количество всех пуринов в ишемизированной почке: Г и ГК – в среднем в 1,67 раза ( $p < 0,05$ ), А и К – в 1,73 раза ( $p < 0,05$ ), МК – в 1,52 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 1).

Через 1 ч после восстановления кровоснабжения содержание пуринов в ишемизированной почке частично восстанавливалось (увеличивалось): Г, ГК и А – в среднем в 1,28 раза ( $p < 0,05$ ), К – в 1,20 раза ( $p < 0,05$ ). Через 3 ч реперфузии уровни Г, ГК, А и К возрастали еще значительно, чем через 1 ч: Г и ГК – в среднем в 1,16 раза ( $p < 0,05$ ), А и К – в 1,22 раза ( $p < 0,05$ ), при этом содержание ГК и А восстанавливалось до интактных значений, а величины других пуринов оставались меньше интактных цифр: Г – в 1,15 раза ( $p < 0,05$ ), К – в 1,25 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Концентрация МК через 1 и 3 ч реперфузии оставалась по-прежнему низкой, как и через 20 мин ишемии. Через 48 ч после восстановления кровоснабжения в правой почке содержание всех пуринов в ней уменьшалось по сравнению с предыдущим периодом исследования (через 3 ч): Г и ГК – в среднем в 1,35 раза ( $p < 0,05$ ), А – в 1,46 раза ( $p < 0,05$ ), К – в 1,61 раза ( $p < 0,05$ ), МК – в 1,53 раза ( $p < 0,05$ ) – до уровня пуринов в ишемизированной ткани без реперфузии, кроме МК, концентрация которой уменьшалась еще значительно – в 1,70 раза ( $p < 0,05$ ), по сравнению с ишемизированной тканью почки без реперфузии (табл. 1).

Динамика пуринов в контралатеральной почке была такой же, как и в ишемизированной, но количественные изменения показателей происходили в меньшей степени. Так, концентрации всех пуринов становились меньше интактных значений: Г, ГК, К и А – в среднем в 1,34 раза ( $p < 0,05$ ), МК – в 1,38 раза ( $p < 0,05$ ) (табл. 1). Через 1 ч после восстановления кровотока в ишемизированной почке содержание практически всех пуринов в контралатеральной почке возвращалось к интактным значениям, кроме МК, уровень которой оставался по-прежнему низким (табл. 1). Через 3 ч реперфузии еще больше – в 1,4 раза ( $p < 0,05$ ) по сравнению с предыдущим сроком наблюдения – уменьшалось количество МК в контралатеральной почке, при этом концентрации и МК, и К были меньше, чем у интактных крыс, соответственно в 1,74 ( $p < 0,05$ ) и 1,17 раза ( $p < 0,05$ ). Через 48 ч реперфузии содержание всех пуринов в контралатеральной почке, как и в ишемизированной, вновь уменьшалось по сравнению с предыдущим периодом исследо-

вания: Г, ГК и А – в среднем в 1,42 раза ( $p<0,05$ ), К и МК – в среднем в 1,56 раза ( $p<0,05$ ) – и становилось ниже интактных ве-

личин: Г – в 1,53 раза ( $p<0,05$ ), ГК и А – в среднем в 1,46 раза ( $p<0,05$ ), К – в 1,86 раза ( $p<0,05$ ), МК – в 2,70 раза (табл. 1).

Таблица 1

Table 1

**Динамика содержания пуринов в корковом веществе почек под влиянием 20-минутной ишемии с последующей реперфузией 1, 3 и 48 ч одной из них, ед. экст./г ткани**

**Dynamics of purine levels (ext. U/g of tissue) in the renal cortex after 20-minute ischemia with subsequent 1-, 3- and 48-hour reperfusion of one kidney**

		Ишемизированная почка Ischemic kidney					Контралатеральная почка Contralateral kidney				
		Г G	ГК HX	А A	К X	МК UA	Г G	ГК HX	А A	К X	МК UA
<b>Интактные, n=10 Intact, n=10</b>		3,93± ±0,20	3,93± ±0,20	4,32± ±0,30	4,10± ±0,30	2,40± ±0,20	4,38± ±0,60	4,37± ±0,60	4,70± ±0,70	4,46± ±0,60	2,73± ±0,50
<b>Ишемия правой почки, n=12 Right kidney ischemia, n=12</b>		2,37± ±0,13 *	2,33± ±0,14 *	2,47± ±0,19 *	2,38± ±0,13 *	1,58± ±0,16 *	3,27± ±0,09 *, и	3,25± ±0,13 *, и	3,54± ±0,19 *, и	3,36± ±0,05 *, и	1,98± ±0,18 *
<b>Реперфузия Reperfusion</b>	<b>1 ч, n=13 1-hour n=13</b>	2,98± ±0,08 *, °	3,00± ±0,07 *, °	3,20± ±0,06 *, °	2,74± ±0,07 *, °	1,49± ±0,05 *	4,11± ±0,21 °, и	4,08± ±0,21 °, и	4,29± ±0,22 °, и	3,78± ±0,19 и	2,12± ±0,13 *, и
	<b>3 ч, n=13 3-hour n=13</b>	3,41± ±0,17 *, °, 1	3,53± ±0,17 °, 1	3,93± ±0,18 °, 1	3,28± ±0,16 *, °, 1	1,43± ±0,11 *	4,02± ±0,21 °	4,21± ±0,23 °	4,73± ±0,26 °	3,80± ±0,17 °	1,57± ±0,09 *, 1
	<b>48 ч, n=13 48-hour n=13</b>	2,54± ±0,08 *, 1, 3	2,59± ±0,07 *, °, 1, 3	2,69± ±0,10 *, 1, 3	2,03± ±0,06 *, 1, 3	0,93± ±0,07 *, °, 1, 3	2,86± ±0,16 *, °, 1, 3	2,97± ±0,16 *, 1, 3	3,24± ±0,14 *, 1, 3, и	2,40± ±0,11 *, °, 1, 3, и	1,01± ±0,08 *, °, 1, 3

**Примечание.** Статистически значимые отличия по сравнению с: \* – интактными самцами, ° – 20-минутной ишемией без реперфузии, <sup>1</sup> – 1 ч реперфузии, <sup>3</sup> – 3 ч реперфузии, и – ишемизированной почкой.

**Note.** Differences are statistically significant in comparison with \* – intact males, ° – 20-minute ischemia without reperfusion, <sup>1</sup> – 1-hour reperfusion, <sup>3</sup> – 3-hour reperfusion, и – ischemic kidney;  $p<0.05$ .

При сравнении двух почек между собой обращает на себя внимание большее содержание пуринов в контралатеральной почке по сравнению с ишемизированной. Так, на этапе ишемии в контралатеральной почке содержалось в среднем в 1,40 раза ( $p<0,05$ ) больше пуринов, за исключением МК, уровень которой оказался одинаково низким в обеих почках (табл. 1). Через 1 ч реперфузии уровень всех пуринов в контралатеральной почке оставался (Г, ГК, А, К) или становился (МК) в среднем в 1,40 раза ( $p<0,05$ ) больше, чем в

ишемизированной. Через 3 ч реперфузии по содержанию пуринов почки не отличались друг от друга. Через 48 ч в контралатеральной почке вновь содержалось в среднем в 1,19 раза ( $p<0,05$ ) больше А и К, чем в ишемизированной, хотя динамика пуринов была одинаковой (табл. 1).

При анализе расчетных коэффициентов обращает на себя внимание увеличение на 19,7 % коэффициента, который характеризовал 2-й этап работы КО – скорость превращения К в МК в ишемизированной почке (табл. 2).

Таблица 2

Table 2

Динамика расчетных коэффициентов в корковом веществе почек под влиянием 20-минутной ишемии с последующей реперфузией 1, 3 и 48 ч одной из них, отн. ед.

Dynamics of estimated coefficients in the renal cortex after 20-minute ischemia with subsequent 1-, 3- and 48-hour reperfusion of one kidney

	Ишемизированная почка Ischemic kidney					Контралатеральная почка Contralateral kidney					
	КО ХО			ИПО IPE	ПТГ IHS	КО ХО			ИПО IPE	ПТГ IHS	
	I этап Stage 1	II этап Stage 2	Оба этапа Both stages			I этап Stage 1	II этап Stage 2	Оба этапа Both stages			
<b>Интактные, n=10 Intact, n=10</b>	1,03± ±0,01	0,61± ±0,02	0,62± ±0,02	0,60± ±0,01	1,02± ±0,01	1,02± ±0,02	0,61± ±0,02	0,63± ±0,03	0,61± ±0,02	1,02± ±0,01	
<b>Ишемия правой почки, n=12 Right kidney ischemia, n=12</b>	1,05± ±0,04	0,73± ±0,01 *	0,78± ±0,05	0,58± ±0,04	1,03± ±0,04	1,04± ±0,04	0,63± ±0,06	0,56± ±0,07 и	0,61± ±0,04	1,03± ±0,03	
<b>Реперфузия Reperfusion</b>	<b>1 ч, n=13 1-hour, n=13</b>	0,90± ±0,01 *, °	0,56± ±0,01 °	0,50± ±0,01 *, °	0,70± ±0,01 *, °	0,92± ±0,02 *, °	0,94± ±0,01 *	0,54± ±0,02 *	0,49± ±0,01 *	0,71± ±0,01 *	0,92± ±0,02 *, °
	<b>3 ч, n=13 3-hour, n=13</b>	0,92± ±0,01 *, °	0,43± ±0,01 *, °, 1	0,40± ±0,01 *, °, 1	0,76± ±0,01 *, °	0,96± ±0,02 *	0,90± ±0,01 *, °	0,41± ±0,02 *, °, 1	0,37± ±0,02 *, °, 1	0,78± ±0,02 *, °, 1	0,94± ±0,01 *, °
	<b>48 ч, n=13 48-hour, n=13</b>	0,78± ±0,01 *, °, 1, 3	0,47± ±0,03 *, °, 1	0,37± ±0,02 *, °, 1	0,87± ±0,01 *, °, 1, 3	0,80± ±0,02 *, °, 1, 3	0,81± ±0,01 *, °, 1, 3	0,40± ±0,01 *, °, 1, и	0,34± ±0,01 *, °, 1	0,87± ±0,01 *, °, 1, 3	0,84± ±0,01 *, °, 1, 3

**Примечание.** Статистически значимые отличия по сравнению с: \* – интактными самцами, ° – 20-минутной ишемией без реперфузии, <sup>1</sup> – 1 ч реперфузии, <sup>3</sup> – 3 ч реперфузии, и – ишемизированной почкой.

**Note.** Differences are statistically significant in comparison with \* – intact males, ° – 20-minute ischemia without reperfusion, <sup>1</sup> – 1-hour reperfusion, <sup>3</sup> – 3-hour reperfusion, и – ischemic kidney; p<0.05.

Через 1 ч после восстановления кровоснабжения все расчетные коэффициенты изменялись. Так, активность КО и ПТГ уменьшалась относительно ткани почек, находящейся в состоянии ишемии: I этап – на 14,3 %, II этап – на 23,3 %, оба этапа – на 35,9 %, ПТГ – на 10,7 %, при этом активность КО (I этап и оба этапа) и значение ПТГ были меньше интактных величин: КО (I этап) – на 12,6 %, КО (оба этапа) – на 19,4 %, ПТГ – на 9,8 % (табл. 2).

Активность КО (II этап) не отличалась от активности КО интактных крыс. ИПО, напротив, увеличивалась и относительно интактных показателей, и относительно показателей крыс с ишемией в среднем на 18,7 % (табл. 2). Через 3 ч реперфузии активность КО уменьшалась еще значительно – более чем на 20,0 % относительно предыдущих цифр за счет ее торможения на II этапе; ИПО и ПТГ не изменялись. Через 48 ч реперфузии на 15,2 %

снижалась активность КО (I этап), на 16,7 % уменьшался ПТГ и на 14,5 % увеличивалась ИПО относительно 3-часовой реперфузии (табл. 2).

Значения расчетных коэффициентов в контралатеральной почке после 20-минутной ишемии не отличались от интактных (табл. 2). Через 1 ч реперфузии, так же как и в ишемизированной почке, активность КО и ПТГ становились меньше интактных показателей: КО (I этап) – на 7,8 %, КО (II этап) – на 11,5 %, КО (оба этапа) – на 22,2 %, ПТГ – на 9,8 %, а ИПО, напротив, увеличивалась на 16,4 %. Из всех коэффициентов только ПТГ статистически значимо изменялся относительно периода ишемии – уменьшался на 10,7 % (табл. 2). Через 3 ч реперфузии активность КО (II этап и оба этапа) уменьшалась, а ИПО увеличивалась еще больше, в результате данные показатели отличались относительно соответствующих коэффициентов через 1 ч реперфузии на 24,0 и 9,9 % соответственно. КО (I этап) и ПТГ оставались низкими, как и на предыдущем этапе исследований. Через 48 ч реперфузии к низким показателям КО (II и оба этапа), как и в ишемизированной почке, присоединялась и низкая активность КО (I этап) – она была, как и ПТГ, на 10,0 % меньше по сравнению с 3-часовой реперфузией, тогда как ИПО увеличивалась на 11,5 % (табл. 2).

При сравнении значений расчетных коэффициентов обеих почек обращает на себя внимание меньшая активность КО в контралатеральной почке: в период ишемии – на 28,2 % (оба этапа), через 48 ч реперфузии – на 15,0 % (II этап) (табл. 2).

**Обсуждение.** У старых самцов 20-минутная ишемия одной из почек сопровождалась рецессией пуринов в обеих почках, в большей степени – в ишемизированной. Разный уровень пуринов в корковом веществе, вероятно, был обусловлен особенностями активности КО в условиях нарушенного кровоснабжения почек: в правой почке, в которой мочевыделение прекращалось, происходил сдвиг в сторону нарастания синтеза МК из К, тогда как в левой почке, на которую увеличивалась нагрузка по мочевыделению, продукция МК уменьшалась.

На ранних сроках реперфузии (1 и 3 ч) в обеих почках регистрировались однотипные сдвиги пуринов и их расчетных коэффициентов. Так, содержание МК и в правой, и в левой почках было одинаково низким, как и через 20 мин ишемии, тогда как концентрации других пуринов возрастали. Но если в ишемизированной почке их количество увеличивалось постепенно: через 1 ч – незначительно, через 3 ч – больше, но не достигало интактных цифр, то в контралатеральной почке – восстанавливалось уже через 1 ч после устранения ишемии. В ближайшие часы после возобновления кровоснабжения одной из почек в обеих снижалась активность КО (максимально – через 3 ч), уменьшался ПТГ и увеличивалась ИПО.

Через 48 ч реперфузии содержание всех пуринов, включая и МК, в обеих почках вновь уменьшалось, причем количество А и К в ишемизированной почке было меньше, чем в контралатеральной. К максимально низким значениям КО (II и оба этапа), впервые появившимся через 3 ч реперфузии, присоединялись максимально низкие значения КО (I этап) и ПТГ и максимально высокая ИПО.

Таким образом, у старых самцов крыс на 20-минутную ишемию одной из почек обе реагируют, в большей степени – ишемизированная, уменьшением концентрации всех исследуемых пуринов в ткани органа. Реперфузия в течение 2 сут после ишемии не приводит к нормализации пуринового обмена в парном фильтрующем органе мочевыделительной системы, а сопровождается повторным снижением концентрации пуриновых метаболитов в обеих почках до низких ишемических значений, а мочевой кислоты – еще ниже, на фоне компенсаторного увеличения интенсивности пуринового обмена и уменьшения активности КО. ПТГ с увеличением времени реперфузии прогрессивно уменьшается в обеих почках, достигая минимума через 48 ч, что свидетельствует о положительном прогнозе по функциональному постгипоксическому восстановлению нефронов.

Ранее при исследовании динамики маркеров острого повреждения почек: цистатина С, L-FABP, ИЛ-18, NGAL и KIM1 – в корковом веществе почки, подвергнутой тепловой ише-

мии в течение 15, 20 и 25 мин, нами было показано, что старые самцы крыс занимают второе место после молодых самок по сохранности почечной ткани [4]. Полученные данные навели на мысль о защитной роли эстрогенов в этом процессе. В данном исследовании эстрогены, по всей видимости, также сыграли свою положительную роль и поспособствовали до-

статочно быстрому уменьшению проявлений гипоксии в обеих почках после возобновления прекращенного кровоснабжения одной из них.

**Заключение.** Полученные данные надо учитывать при ведении возрастных пациентов мужского пола, подвергшихся ишемии-реперфузии одной из почек, в раннем послеоперационном периоде.

*Исследование выполнено в рамках государственного задания № 115032420006 от 24.03.2015 «Нейро-эндокринные, метаболические и иммуноморфологические аспекты злокачественного роста».*

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

### Литература

1. *Ljungberg B., Bensalah K., Canfield S., Dabestani S., Hofmann F., Hora M., Kuczyk M.A., Lam T., Marconi L., Merseburger A.S., Mulders P., Powles T., Staehler M., Volpe A., Bex A.* EAU guidelines on renal cell carcinoma: 2014 update. *Eur. Urol.* 2015; 67: 913–924.
2. *Schiffmann J., Bianchi M., Sun M., Becker A.* Trends in surgical management of T1 renal cell carcinoma. *Curr. Urol. Rep.* 2014; 15: 383.
3. *Aquil S., Olvera-Posada D., Navaratnam R., Mikhail D., Levine M.A., Luke P.P., Sener A.* Comparative Study Assessing Postoperative Renal Loss Using Two Different Partial Nephrectomy Techniques: Off-Clamp versus Standard On-Clamp Surgery. *Current urology.* 2020; 14 (1): 38–43. DOI: 10.1159/000499262.
4. *Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Каплиева И.В., Трениаки Л.К.* Экспрессия молекулярных маркеров острого повреждения почек в динамике экспериментальной ишемии. Экспериментальная и клиническая урология. 2014; 4: 12–15.
5. *Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Каплиева И.В., Трениаки Л.К., Черярина Н.Д., Погорелова Ю.А.* Роль маркеров острого повреждения почек в выборе тактики хирургического лечения больных раком почки. *Онкоурология.* 2015; 11 (3): 34–39.
6. *Кит О.И., Франциянц Е.М., Димитриади С.Н., Шевченко А.Н., Каплиева И.В., Трениаки Л.К.* Экспрессия маркеров неоангиогенеза и фибринолитической системы в динамике экспериментальной ишемии почки у крыс. *Экспериментальная и клиническая урология.* 2015; 1: 20–23.
7. *Chan E., Boyle S.L., Campbell J., Luke P.P.* Ipsilateral renal function preservation following minimally invasive partial nephrectomy: the effect of tumour characteristics and warm ischemic time. *Can. Urol. Assoc. J.* 2017; 11: 344–349.
8. *Campbell S., Demirjian S., Zhang Z.* Renal function after renal cancer surgery. *AUA Update Series.* 2015; 34: 23.
9. *Campbell J., Chan G., Luke P.P.* Early clamp release during laparoscopic partial nephrectomy: implications for preservation of renal function. *Can. Urol. Assoc. J.* 2017; 11: E261–265.
10. *Deng W., Liu X., Hu J., Chen L., Fu B.* Off-clamp partial nephrectomy has a positive impact on short- and long-term renal function: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol.* 2018; 19: 188.
11. *Chen P.S., Chiu W.T., Hsu P.L., Lin S.C., Peng I.C., Wang C.Y., Tsai S.J.* Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *Journal of biomedical science.* 2020; 27 (1): 63. DOI: 10.1186/s12929-020-00658-7.
12. *Кит О.И., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Трениаки Л.К., Димитриади С.Н.* Гендерные отличия содержания пуринов в плазме и эритроцитах людей разного возраста. *Фундаментальные исследования.* 2014; 4: 290–294.
13. *Орешиников Е.В., Гунин А.Г., Мадянов И.В., Орешиникова С.Ф.* Пурины ликвора и крови при беременности. *Проблемы репродукции.* 2008; 7: 74–80.
14. *Хоролец Е.В., Хашиева Л.А., Шлык С.В., Кательницкая Л.И.* Особенности пуринового обмена и перекисного окисления липидов у больных инфарктом. *Рациональная фармакотерапия в кардиологии.* 2010; 6 (1): 42–47.

15. Farthing D.E., Farthing C.A., Xi L. Inosine and hypoxanthine as novel biomarkers for cardiac ischemia: from bench to point-of-care. *Exp. Biol. Med.* (Maywood). 2015; 240 (6): 821–831. DOI: 10.1177/1535370215584931.
16. Fisher O., Benson R.A., Imray C.H. The clinical application of purine nucleosides as biomarkers of tissue Ischemia and hypoxia in humans *in vivo*. *Biomark. Med.* 2019; 13 (11): 953–965. DOI: 10.2217/bmm-2019-0049.

Поступила в редакцию 24.12.2020; принята 20.02.2021.

#### Авторский коллектив

**Дурицкий Максим Николаевич** – руководитель консультативно-диагностического отделения, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7912-6957>.

**Франциянц Елена Михайловна** – доктор биологических наук, профессор, заместитель генерального директора по науке, руководитель лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>.

**Каплиева Ирина Викторовна** – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории изучения патогенеза злокачественных опухолей, ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63; e-mail: kaplirina@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>.

**Кит Олег Иванович** – доктор медицинских наук, профессор, член-корреспондент РАН, генеральный директор ФГБУ «НМИЦ онкологии» Минздрава России. 344037, Россия, г. Ростов-на-Дону, ул. 14-я Линия, 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>.

#### Образец цитирования

Дурицкий М.Н., Франциянц Е.М., Каплиева И.В., Кит О.И. Особенности пуринового обмена в корковом веществе почек при ишемии с последующей реперфузией одной из них (экспериментальное исследование). *Ульяновский медико-биологический журнал*. 2021; 1: 133–142. DOI: 10.34014/2227-1848-2021-1-133-142.

## CHARACTERISTICS OF PURINE METABOLISM IN RENAL CORTEX DURING ISCHEMIA WITH SUBSEQUENT REPERFUSION OF ONE KIDNEY (EXPERIMENTAL STUDY)

M.N. Duritskiy, E.M. Frantsiyants, I.V. Kaplieva, O.I. Kit

Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation,  
Rostov-on-Don, Russia

*Partial nephrectomy is the standard to treat small kidney tumors. Post-hypoxic nephron damage is considered to be its unfavorable effect, leading to a disruption of functional activity. Purines are sensitive markers of tissue hypoxia.*

*The purpose of the paper is to study purine dynamics and estimated coefficients in the renal cortex during 20-minute ischemia followed by renal reperfusion of one kidney in the experiment.*

*Materials and Methods. The dynamics of adenine, guanine, xanthine, hypoxanthine, and uric acid (UA) in the renal cortex was studied on 61 old male white outbred rats: ischemic and contralateral – after 20-minute ischemia followed by renal reperfusion of one kidney (1, 3, and 48 h); the control group included intact rats. Direct spectrophotometry of an aqueous solution of a thermocoagulant of renal cell lysates was used as a test method.*

*Results. 20-minute ischemia of one of the kidneys was accompanied by purine recession in both kidneys, to a greater extent in the ischemic one. In the early stages of reperfusion (1–3 h), the similar purine shifts and their estimated coefficients were recorded in the kidneys. The UA level was equally low, as it was during ischemia; after 1 hour of reperfusion, concentrations of other purines in the contralateral kidney were restored to intact values, and in the ischemic kidney, they did not reach the intact level even in 3 hours.*

As the intensity of purine metabolism increased, the activity of xanthine oxidase and the severity of hypoxia decreased. In 48 hours, the content of all purines decreased again, UA level being lower than ischemic values; the dynamics of the intensity of purine metabolism, xanthine oxidase activity and manifestations of hypoxia corresponded to the early stages of reperfusion, but its severity was greater.

Conclusion. The data obtained should be taken into account in the management of aged male patients who underwent ischemia-reperfusion of one kidney in the early postoperative period.

**Keywords:** purines, renal ischemia, renal reperfusion, old rats, males.

This study was supported by state assignment 115032420006, March 24, 2015 "Neuroendocrine, metabolic and immunomorphological aspects of malignant growth".

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

## References

1. Ljungberg B., Bensalah K., Canfield S., Dabestani S., Hofmann F., Hora M., Kuczyk M.A., Lam T., Marconi L., Merseburger A.S., Mulders P., Powles T., Staehler M., Volpe A., Bex A. EAU guidelines on renal cell carcinoma: 2014 update. *Eur. Urol.* 2015; 67: 913–924.
2. Schiffmann J., Bianchi M., Sun M., Becker A. Trends in surgical management of T1 renal cell carcinoma. *Curr. Urol. Rep.* 2014; 15: 383.
3. Aquil S., Olvera-Posada D., Navaratnam R., Mikhail D., Levine M.A., Luke P.P., Sener A. Comparative Study Assessing Postoperative Renal Loss Using Two Different Partial Nephrectomy Techniques: Off-Clamp versus Standard On-Clamp Surgery. *Current urology.* 2020; 14 (1): 38–43. DOI: 10.1159/000499262.
4. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Dimitriadi S.N., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K. Ekspressiya molekulyarnykh markerov ostrogo povrezhdeniya pochek v dinamike eksperimental'noy ishemii [Expression of molecular markers of acute kidney injury in experimental ischemia dynamics]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya.* 2014; 4: 12–15 (in Russian).
5. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Dimitriadi S.N., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Cheryarina N.D., Pogorelova Yu.A. Rol' markerov ostrogo povrezhdeniya pochek v vybore taktiki khirurgicheskogo lecheniya bol'nykh rakom pochki [Markers of acute kidney injury for surgical treatment of patients with kidney cancer]. *Onkourologiya.* 2015; 11 (3): 34–39 (in Russian).
6. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Dimitriadi S.N., Shevchenko A.N., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K. Ekspressiya markerov neoangiogeneza i fibrinoliticheskoy sistemy v dinamike eksperimental'noy ishemii pochki u krysa [Expression of neoangiogenesis and fibrinolytic system markers in experimental renal ischemia in rats]. *Eksperimental'naya i klinicheskaya urologiya.* 2015; 1: 20–23 (in Russian).
7. Chan E., Boyle S.L., Campbell J., Luke P.P. Ipsilateral renal function preservation following minimally invasive partial nephrectomy: the effect of tumour characteristics and warm ischemic time. *Can. Urol. Assoc. J.* 2017; 11: 344–349.
8. Campbell S., Demirjian S., Zhang Z. Renal function after renal cancer surgery. *AUA Update Series.* 2015; 34: 23.
9. Campbell J., Chan G., Luke P.P. Early clamp release during laparoscopic partial nephrectomy: implications for preservation of renal function. *Can. Urol. Assoc. J.* 2017; 11: E261–265.
10. Deng W., Liu X., Hu J., Chen L., Fu B. Off-clamp partial nephrectomy has a positive impact on short- and long-term renal function: a systematic review and meta-analysis. *BMC Nephrol.* 2018; 19: 188.
11. Chen P.S., Chiu W.T., Hsu P.L., Lin S.C., Peng I.C., Wang C.Y., Tsai S.J. Pathophysiological implications of hypoxia in human diseases. *Journal of biomedical science.* 2020; 27 (1): 63. DOI: 10.1186/s12929-020-00658-7.
12. Kit O.I., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Trepitaki L.K., Dimitriadi S.N. Gendernye otlichiya sodержaniya purinov v plazme i eritrotsitakh lyudey raznogo vozrasta [Gender differences in purine content in plasma and erythrocytes in people of different ages]. *Fundamental'nye issledovaniya.* 2014; 4: 290–294 (in Russian).
13. Oreshnikov E.V., Gunin A.G., Madyanov I.V., Oreshnikova S.F. Puriny likvora i krovi pri beremennosti [Cerebrospinal fluid and blood purines in pregnancy]. *Problemy reproduksii.* 2008; 7: 74–80 (in Russian).

14. Khorolets E.V., Khaisheva L.A., Shlyk S.V., Katel'nitskaya L.I. Osobennosti purinovogo obmena i perekisnogo okisleniya lipidov u bol'nykh infarktom [Peculiarities of purine metabolism and lipid peroxidation in patients with heart attack]. *Ratsional'naya farmakoterapiya v kardiologii*. 2010; 6 (1): 42–47 (in Russian).
15. Farthing D.E., Farthing C.A., Xi L. Inosine and hypoxanthine as novel biomarkers for cardiac ischemia: from bench to point-of-care. *Exp. Biol. Med. (Maywood)*. 2015; 240 (6): 821–831. DOI: 10.1177/1535370215584931.
16. Fisher O., Benson R.A., Imray C.H. The clinical application of purine nucleosides as biomarkers of tissue Ischemia and hypoxia in humans in vivo. *Biomark Med.* 2019; 13 (11): 953–965. DOI: 10.2217/bmm-2019-0049.

Received 24 December 2020; accepted 20 February 2021.

### Information about the authors

**Duritskiy Maksim Nikolaevich**, Head of the Consultative and Diagnostic Department, Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 liniya Str., 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-7912-6957>.

**Frantsiyants Elena Mikhaylovna**, Doctor of Sciences (Biology), Professor, Deputy General Director for Science, Head of the Laboratory for Studying the Pathogenesis of Malignant Tumors, Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14-liniya St., 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0003-3618-6890>.

**Kaplieva Irina Viktorovna**, Doctor of Sciences (Medicine), Senior Researcher, Laboratory for Studying the Pathogenesis of Malignant Tumors, Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 liniya St., 63; e-mail: kaplirina@yandex.ru, ORCID ID: <http://orcid.org/0000-0002-3972-2452>.

**Kit Oleg Ivanovich**, Doctor of Sciences (Medicine), Professor, Corresponding Member of the Russian Academy of Sciences, Rostov Cancer Research Institute, Ministry of Health of the Russian Federation. 344037, Russia, Rostov-on-Don, 14 liniya St., 63; e-mail: super.gormon@ya.ru, ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0003-3061-6108>.

### For citation

Duritskiy M.N., Frantsiyants E.M., Kaplieva I.V., Kit O.I. Osobennosti purinovogo obmena v korkovom veshchestve pochek pri ishemii s posleduyushchey reperfuziey odnoy iz nikh (eksperimental'noe issledovanie) [Characteristics of purine metabolism in renal cortex during ischemia with subsequent reperfusion of one kidney (experimental study)]. *Ul'yanovskiy mediko-biologicheskij zhurnal*. 2021; 1: 133–142. DOI: 10.34014/2227-1848-2021-1-133-142 (in Russian).