

УДК: 615.254-08-039.71

## ЭКСПРЕССИЯ ЦИКЛООКСИГЕНАЗЫ-2 (СОХ-2) В ПОЧКАХ ПОСЛЕ ИШЕМИИ-РЕПЕРФУЗИИ И НА ФОНЕ ДИСТАНТНОГО И ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ПРЕКОНДИЦИОНИРОВАНИЯ

**А.А. ДОЛЖИКОВ<sup>1</sup>**  
**М.В. ПОКРОВСКИЙ<sup>1</sup>**  
**И.Н. ДОЛЖИКОВА<sup>1</sup>**  
**Т.Г. ПОКРОВСКАЯ<sup>1</sup>**  
**И.М. КОЛЕСНИК<sup>2</sup>**  
**С.В. МЯГЧЕНКО<sup>2</sup>**  
**В.А. ФИЛИМОНОВ<sup>2</sup>**  
**О.И. БРАТЧИКОВ<sup>2</sup>**  
**И.А. КОРОБЦОВА<sup>1</sup>**

<sup>1)</sup> *Белгородский государственный национальный исследовательский университет*

<sup>2)</sup> *Курский государственный медицинский университет*

*e-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru*

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-реперфузия почек, preconditionирование, ингибиторы фосфодиэстеразы-5, циклооксигеназа-2.

**Введение.** Явление preconditionирования, открытое и впервые изученное С. Е. Миггу и соавт. [23] 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, 3, 4] выявлены многие механизмы preconditionирующих влияний. Однако существенное значение имеют особенности чувствительности паренхиматозных элементов разных органов к гипоксии, компенсаторных и регуляторных механизмов, включающихся при снижении органного кровотока, временные параметры и сроки как ишемии, так и preconditionирования. Одним из органов со сложными регуляторными механизмами, предназначенными как для регуляции собственных функций, так и системной гемодинамики, являются почки. Среди регуляторных механизмов, направленных на поддержание физиологического уровня как внутривисцерального, так и системного кровообращения, важное значение имеет синтез простагландинов (P<sub>g</sub>), определяемый активностью циклооксигеназы-2 (СОХ-2). Сведения о связях СОХ-2 с другими биохимическими процессами в почках, несмотря на изучение в целом ряде работ, до настоящего времени противоречивы и нуждаются в продолжении исследований. Одним из доказанных в ряде моделей preconditionирующим фармакологическим агентом являются ингибиторы фосфодиэстеразы-5 (ФДЭ-5). Их эффективность продемонстрирована при ишемических [14, 27, 28] и токсических повреждениях миокарда [15], гипоксических повреждениях нейронов [7]. Основным эффектом ингибиторов ФДЭ-5 связан с увеличением накопления циклического гуанозинмонофосфата (ц-ГМФ). Влияние ц-ГМФ показано и в отношении активности сох-2 [10, 11]. Поэтому целью проведенной работы стало изучение влияния 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 исследования.** Исследование выполнено на 90 белых лабораторных крысах-самцах массой 200-250 гр. Эксперименты проведены с

соблюдением правил гуманного обращения с животными соответственно «Конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей», принятой Советом Европы (Strasbourg, Франция, 1986) и директивой совета 86/609/ЕЕС от 24.11.1986 «По согласованию законов, правил и административных распоряжений стран-участниц в отношении защиты животных, используемых в экспериментальных и научных целях» с осуществлением хирургических вмешательств под хлоралгидратным наркозом (300 мг/кг массы внутрибрюшинно), выведением животных из эксперимента передозировкой хлоралгидрата внутрибрюшинным введением. Эксперименты выполнены в лаборатории центра «Фармация» НИУ БелГУ.

Животные распределены на 9 серий по 10 особей в каждой: контрольная (серия 1) и 8 экспериментальных. В экспериментальных сериях 2 и 3 моделировали ишемическое-реперфузионное повреждение левой почки путем наложения лигатуры на почечную ножку с полным пережатием почечных артерии и вены на 30 минут; животных выводили из эксперимента через 24 часа и 21-е сутки после моделирования повреждения. В сериях 4, 5 (также 2 срока) осуществляли дистантное прекодиционирование по ранее исследованной методике [2] путем наложения жгута на верхнюю треть правого бедра с пережатием до полного прекращения пульсации артерий конечности за 30 минут до моделирования ишемии-реперфузии левой почки. В сериях 6, 7 за 1 час до моделирования ишемии животным внутрибрюшинно вводили 1% раствор ингибитора фосфодиэстеразы-5 тадалафила (препарат «Сиалис» производства Eli-Lilly, Великобритания) на 10% диметилсульфоксиде (ДМСО) в дозе 1 мг/кг. В сериях 8, 9 осуществляли комбинированное дистантное и фармакологическое прекодиционирование: введение раствора сиалиса на ДМСО за 1 час и дистантное прекодиционирование за 30 минут до моделирования ишемии.

Животных выводили из эксперимента через 21 сутки после моделирования ишемии. Почки взвешивали с определением относительной массы (гр/гр), после чего рассекали в продольном направлении через латеральный край и фиксировали в 10% забуференном (рН=7,0) формалине иммерсионным способом в течение 24 часов. Для гистологического исследования заливали половину продольно рассеченных почек в парафин и изготавливали срезы толщиной 4 мкм, которые окрашивали гематоксилином и эозином, по Ван-Гизон и по Маллори. Для иммуногистохимического исследования изготавливали мультиблоки по типу технологии «TissueMicroarray» по 15 кусочков размером 3x3 мм из участков сохраненной почечной ткани, выбранных после изучения обзорных препаратов. Иммуногистохимическое исследование выполнено с применением стандартного протокола высокотемпературной демаскировки антигенов при рН=6,0. Использованы кроличьи моноклональные антитела к СОХ-2 (клон SP-21; CellMarque, США; «Микротесты»), реагирующие с антигенами тканей крыс, в рекомендованном разведении 1:500. Для выявления реакции применена полимерная система детекции HistoFine (Япония; «Микротесты») с хромогеном диаминобензидином. Микропрепараты для последующего анализа сканировали с применением системы сканирования и архивирования изображений (MiraxDesk, Германия; «Оптэк»). Последующее изучение и морфометрию с определением количества иммунореактивных клеток в структурах коркового и мозгового вещества осуществляли на компьютерных изображениях. Морфологическое исследование выполнено в лаборатории научно-образовательного центра прикладной иммуноморфологии и цитогенетики НИУ БелГУ (руководитель – проф. А.А. Должиков). Статистическую обработку выполняли с применением статистического пакета Statistica 6.0 с предварительной оценкой типа распределения признаков и уровнем статистической значимости при  $p < 0,05$ .

**Результаты исследования.** У контрольных животных экспрессия СОХ-2 выявлена в клетках плотных пятен (рис. 4А), структурах почечных клубочков, по топографии и морфологическим признакам соответствующим подоцитам и мезангиальным клеткам, эпителиоцитах толстых сегментов петель нефронов и интерстициальных клетках мозгового вещества (рис. 4Б). В наибольшей степени реакция была выражена в интерстициальных клетках. Среднее количество почечных телец, в области которых выявлены плотные пятна с позитивной реакцией на СОХ-2, составило

9,1±1,0%, количество иммунопозитивных клеток в плотном пятне варьировало от 1 до 4 (в среднем 2,3±0,8). Количество иммунопозитивных клеток в составе эпителия толстых сегментов петель нефронов на 1 мм<sup>2</sup> составило в среднем 10,3±1,3. Через сутки после моделирования ишемии-реперфузии (серия 2) в зонах сохранившейся почечной паренхимы произошло достоверное снижение количества почечных телец с экспрессией СОХ-2 до 2,9±1,0%, среднего количества иммунореактивных клеток в толстых сегментах до 1,3±1,1 на 1 мм<sup>2</sup>. Среднее количество клеток в плотных пятнах не изменилось (рис. 2). На 21-е сутки ишемии изменения в корковом и мозговом веществе имели различный характер. Экспрессия СОХ-2 в плотных пятнах не изменилась, оставаясь на низком уровне (рис. 1), среднее количество клеток от контроля и серии 2 не отличалось. При этом количество клеток в тубулярном эпителии достоверно увеличилось в сравнении со сроком 1 сутки после моделирования ишемии-реперфузии, но не достигло контрольных значений (рис. 3). В мозговом веществе выявлена явная гиперплазия иммунореактивных на СОХ-2 интерстициальных клеток, которые определялись в виде крупных скоплений между канальцами (рис. 4Д). В корковом веществе выражены диффузные склеротические изменения, дилатация канальцев и обильное количество белковых цилиндров, которые давали неспецифическую реакцию в иммуногистохимических препаратах (рис. 4Г).

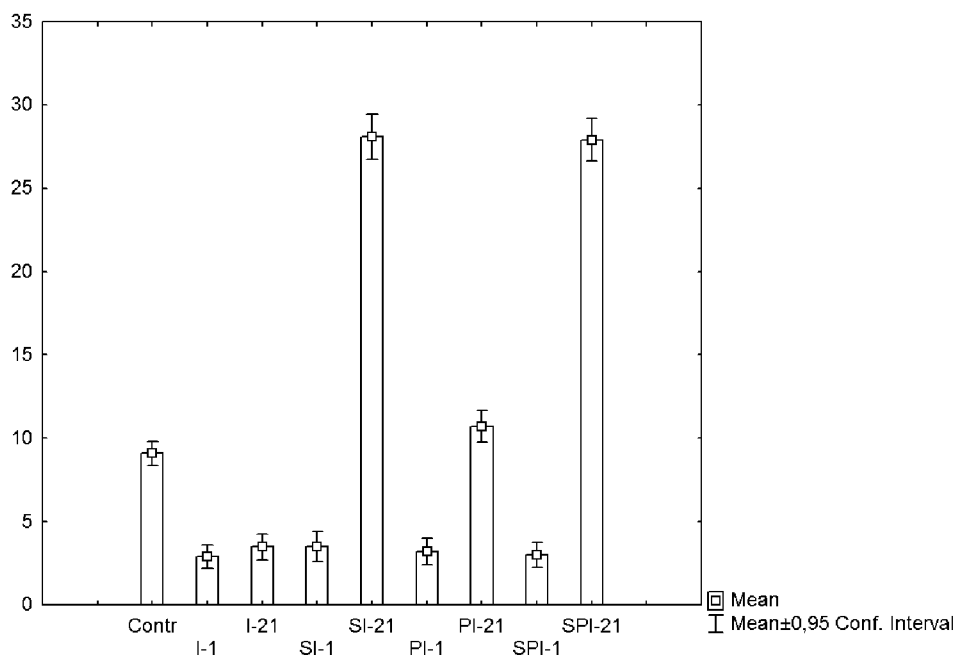


Рис. 1. Изменение количества почечных телец (в %) с экспрессией в клетках плотных пятен СОХ-2: I – ишемия-реперфузия, SI – ишемия-реперфузия на фоне введения сиалиса, PI – ишемия-реперфузия на фоне дистантного прекондиционирования, SPI – ишемия-реперфузия на фоне комбинированного прекондиционирования; цифры после обозначений серий – срок эксперимента в сутках

На фоне дистантного, фармакологического прекондиционирования и их комбинации через сутки эксперимента достоверных количественных изменений в экспрессии СОХ-2 в сравнении с серией ишемии-реперфузии не выявлено. Количество почечных телец с иммунореактивными плотными пятнами, среднее количество СОХ-2 позитивных эпителиоцитов и интерстициальных клеток не отличалось от серии без прекондиционирования и было достоверно ниже контрольных значений.

Принципиально иная динамика выявлена на 21-е сутки эксперимента со значимыми отличиями фармакологического прекондиционирования, дистантного прекондиционирования и их комбинированного действия. Количество почечных телец с иммунореактивными плотными пятнами в серии с введением сиалиса было достоверно выше контрольных значений, превышая их почти в 3 раза (28,1±1,9%), что было заметно и на качественном уровне при обзорном изучении микропрепаратов

(рис. 4З), достоверно выше было количество СОХ-2 позитивных клеток (рис. 4И) в тубулярном эпителии ( $14,8 \pm 1,9$  на  $1 \text{ мм}^2$ ), сходной с контролем была насыщенность мозгового вещества СОХ-2 позитивными клетками (рис. 4К).

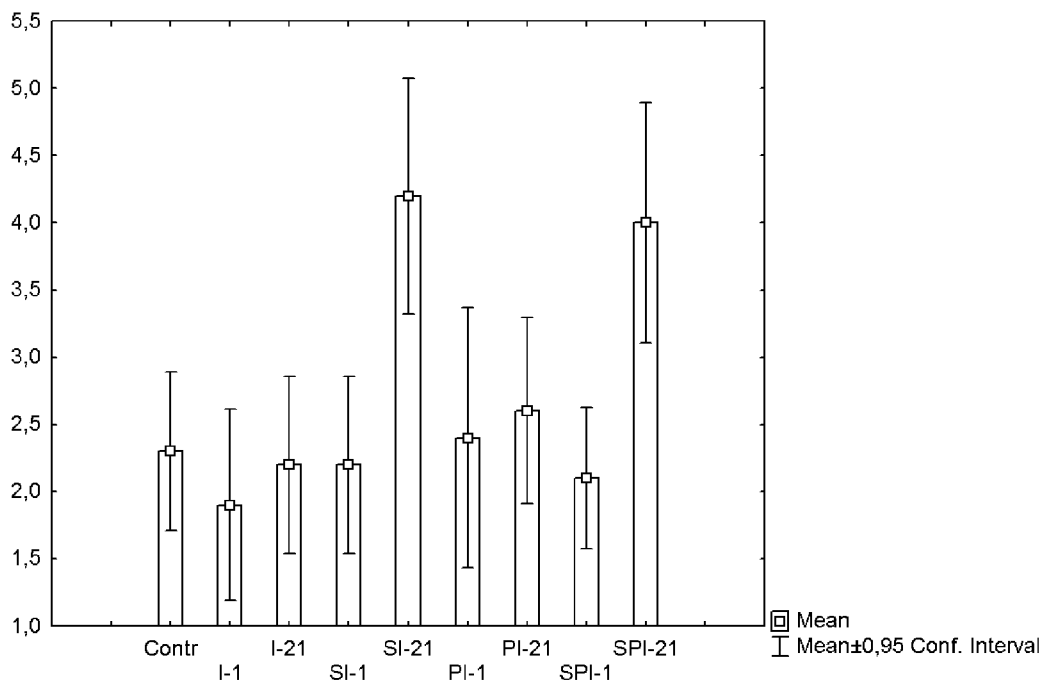


Рис. 2. Изменение количества СОХ-2 позитивных клеток в плотных пятнах: I – ишемия-реперфузия, SI – ишемия-реперфузия на фоне введения сиалиса, PI – ишемия-реперфузия на фоне дистантного preconditionирования, SPI – ишемия-реперфузия на фоне комбинированного preconditionирования; цифры после обозначений серий – срок эксперимента в сутках

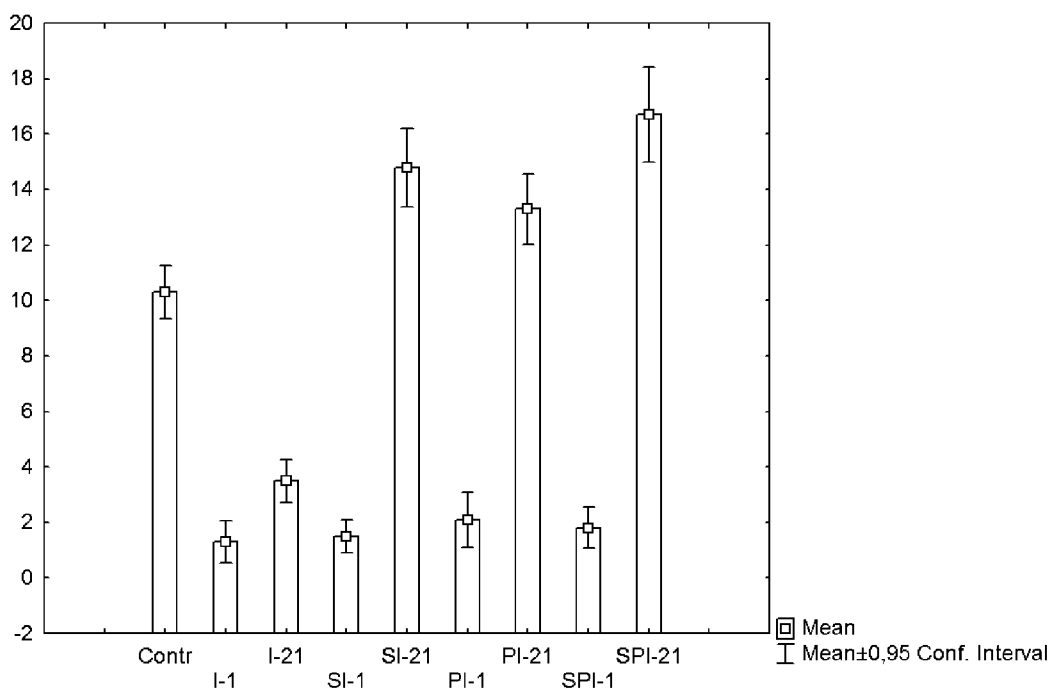


Рис. 3. Изменение количества СОХ-2 позитивных клеток (на  $1 \text{ мм}^2$ ) в эпителии толстых сегментов петель нефронов: I – ишемия-реперфузия, SI – ишемия-реперфузия на фоне введения сиалиса, PI – ишемия-реперфузия на фоне дистантного preconditionирования, SPI – ишемия-реперфузия на фоне комбинированного preconditionирования; цифры после обозначений серий – срок эксперимента в сутках

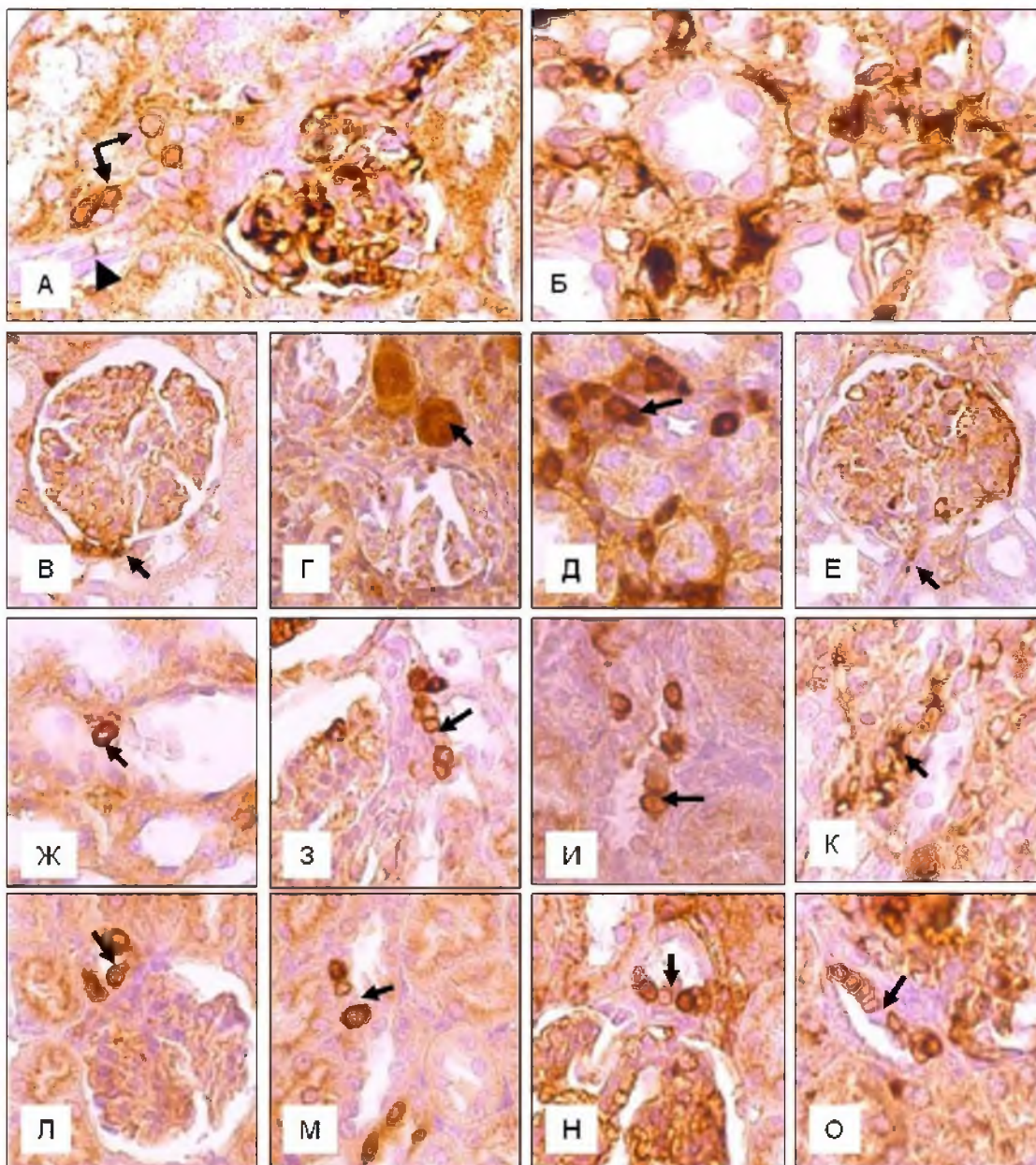


Рис. 4. Иммуногистохимическое исследование экспрессии СОХ-2 в контроле (А, Б), через 1 сутки (В), 21 сутки (Г, Д) после ишемии-реперфузии, через 1 (Е, Ж), 21 сутки (З, И, К) на фоне введения сиалиса, через 21 сутки (Л, М) на фоне дистантного прекондicionирования, 21 сутки (Н, О) после комбинированного прекондicionирования. А – экспрессия СОХ-2 в небольшом количестве клеток плотного пятна (двойная стрелка), мезангии и подоцитах почечного клубочка, кончиком стрелки указана приносящая артериола; Б – выраженная равномерная экспрессия СОХ-2 в интерстициальных клетках мозгового вещества; В, Г, Е – резкое снижение экспрессии СОХ-2 в плотных пятнах; Д – очаг гиперплазии интерстициальных клеток на 21-е сутки после ишемии-реперфузии; З, И, К – повышение количества СОХ-2 позитивных эпителиоцитов в плотных пятнах (З), тубулярном эпителии (И), высокое содержание фермента в интерстициальных клетках (К) на 21-е сутки на фоне фармакологического прекондicionирования; Л, М – идентичный контрольному уровню экспрессии СОХ-2 при дистантном прекондicionировании; Н, О – картина экспрессии СОХ-2 при комбинированном прекондicionировании идентична таковой при введении сиалиса. Иммуногистохимические реакции. Микрофото. х 400

При дистантном прекондicionировании отдаленные эффекты проявлялись выравниванием показателей содержания СОХ-2 в плотных пятнах с контрольными значениями (рис. 1, 2). Идентичным контролю было как количество почечных телец с иммунореактивными плотными пятнами, так и среднее количество СОХ-2 позитивных

эпителиоцитов в них (рис. 4Л). Однако количество СОХ-2 позитивных клеток в тубулярном эпителии было достоверно выше контрольных значений (13,3±1,8 на 1 мм<sup>2</sup>) и приближалось к таковому в серии с введением сиалиса (рис. 3). При комбинированном фармакологическом и дистантном прекондиционировании отличий от фармакологического прекондиционирования не выявлено по количеству почечных телец с СОХ-2 позитивными плотными пятнами и среднему количеству иммунореактивных клеток в них (рис. 1, 2, 4Н). Выше оказалось количество СОХ-2 позитивных клеток (рис. 4О) в тубулярном эпителии (16,7±2,4 на 1 мм<sup>2</sup>), но оно достоверно не отличалось от серии с фармакологическим прекондиционированием (рис. 3). Степень экспрессии СОХ-2 в интерстициальных клетках мозгового вещества в сериях с фармакологическим, дистантным прекондиционированием и их комбинации визуально не отличалась.

Таким образом, нами выявлены достоверные влияния фармакологического прекондиционирования введением препарата сиалис, дистантного прекондиционирования и их комбинации на степень экспрессии СОХ-2 в основных структурах, обеспечивающих связанные с данным ферментом физиологические эффекты. Проявлялись они только в отдаленном периоде после ишемии-реперфузии почек.

**Обсуждение результатов исследования.** СОХ-2 является, в основном, индуцируемым ферментом. Но в почках она конституционально присутствует в клетках толстого сегмента восходящей части петли Генле и в эпителиоцитах плотного пятна, в мозговом веществе СОХ-2 присутствует в интерстициальных клетках. Основной функцией фермента является обеспечение синтеза РгЕ<sub>2</sub>, но конечные эффекты активности СОХ-2 в корковом и мозговом веществе почек имеют некоторые отличия. В мозговом веществе синтез и секреция РгЕ<sub>2</sub> обеспечивает вазодилатирующий эффект на прямые сосуды и блокирует реабсорбцию натрия [18]. В корковом веществе РгЕ<sub>2</sub>, синтезируемые при участии СОХ-2, также оказывают дилатирующий эффект на артериолы. Кроме этого доказанной функцией СОХ-2 в плотных пятнах является стимуляция секреции ренина юкстагломерулярными клетками артериол [8, 9, 11, 17, 29, 31]. В условиях *in vivo* и *in vitro* показано, что образующийся конечный продукт ренин-ангиотензиновой системы – ангиотензин II обладает ингибирующим действием на секрецию ренина, реализуя данную отрицательную обратную связь как напрямую, так и через ингибирование синтеза СОХ-2 клетками плотного пятна [33].

Относительно регуляции синтеза СОХ-2 в клетках плотного пятна ряд фактов является общепринятым, другие являются дискуссионными, в том числе вследствие видовых отличий между экспериментальными животными и человеком, отличиями в использованных моделях и дизайне экспериментов. Постулатом является то, что стимуляторами СОХ-2 в клетках плотного пятна и клетках толстого сегмента петли Генле является гипонатриемия, снижение артериальной перфузии почек [18, 19, 21, 32]. Установлено, что при гипонатриемии стимуляторами СОХ-2 являются киназы ERK1/2 и p38, сосуществующие в клетках плотного пятна [34]; эти же клетки характеризуются активностью нейтральной NO-синтазы (nNOS). Эндотелиальная NOS также является стимулятором секреции ренина, что показано на модели с перфузией изолированных почек [9]. Однако степень зависимости между NO и СОХ-2 остается неясной. Связано это и с тем, что эффекты на изолированных клетках *in vitro*, у нокаутных по определенным генам животных и в естественных условиях *in vivo* оказываются разными и трудно сопоставимыми [24]. Имеются данные, указывающие как на существенную зависимость СОХ-2 от NO [11, 13, 20, 25], так и свидетельствующие о независимости NO и СОХ-2 [12] и даже противоположных эффектах [13, 16] в различных клетках. Показана также независимость сосуществующих в клетках плотного пятна СОХ-2 и nNOS в регуляции секреции ренина [30]. Отрицательный регуляторный эффект ангиотензина II на СОХ-2, замыкающий отрицательную обратную связь, является неоднозначным. Он реализуется через ангиотензиновые рецепторы 1 типа. Но при их ингибировании влияние ангиотензина через рецепторы 2 типа является стимулирующим для СОХ-2 [26]. В условиях *in vivo* допаминергические влияния ингибируют СОХ-2, хотя на изолированных клетках плотного пятна показано прямое стимулирующее влияние на секрецию ренина юкстагломерулярными клетками посредством накопления в них циклического аденозинмонофосфата [26]. Кроме указанных механизмов прямым стимулирующим влиянием на СОХ-2 обладает



ц-ГМФ, что продемонстрировано на модели изолированных клеток толстого сегмента петли Генле [10, 11].

В связи с проблемой прекондиционирования роль COX-2 исследована и обсуждается только в единичных работах, выполненных на модели ишемии миокарда [6]. Получены доказательства того, что COX-2 наряду с индуцибельной NOS является обязательным фактором отдаленного прекондиционирования, а значительная часть эффектов реализуется через PgE<sub>2</sub> и/или PgI<sub>2</sub>. В отношении почек роль COX-2 в механизмах прекондиционирования практически не рассматривалась. В данной связи интересны данные Kwon O. et al. [22], полученные на материале почечных трансплантатов человека. Установлено, что снижение образования NO поврежденным эндотелием, редукция активности nNOS плотного пятна является значимой причиной повреждений почек при ишемии-реперфузии.

В результате проведенного нами исследования получены данные, свидетельствующие о том, что в раннем периоде после ишемии-реперфузии значимых эффектов фармакологического и дистантного прекондиционирования, а также их комбинации на экспрессию COX-2 не наблюдается. Проявляются они в отдаленном периоде. При этом фармакологическое прекондиционирование введением блокатора ФДЭ-5 сиалиса оказывает достоверно более выраженное действие. Наблюдается даже некоторая гиперэкспрессия COX-2 в эпителиальных структурах. Дистантное прекондиционирование оказывает также нормализующее действие на уровень экспрессии COX-2, который достигает на 21-е сутки контрольных значений. Наиболее стабильными в условиях эксперимента оказываются интерстициальные клетки мозгового вещества почек. Учитывая изложенные выше известные факты о физиологическом значении выработки COX-2 в почках, можно полагать, что повышение ее экспрессии является фактором, направленным на компенсацию и стабилизацию почечного кровотока за счет синтеза простагландинов, обладающих вазодилатирующим действием. Кроме этого, известное усиление продукции ренина юкстагломерулярными клетками под действием COX-2, продуцируемой в эпителии плотных пятен, может быть направлено на обеспечение регуляции системного кровотока и адекватного преренального артериального давления, необходимого для почечного кровотока. С учетом имеющихся данных о возможности прямого влияния ц-ГМФ на экспрессию COX-2 выявленный эффект ингибитора ФДЭ-5 можно связать с основным его эффектом – накоплением ц-ГМФ. Позитивные эффекты прекондиционирующих влияний выявлены нами и при общеморфологическом изучении почек, которое показало существенно меньшую степень дистрофических и склеротических изменений почечной паренхимы на фоне фармакологического, дистантного прекондиционирования и их комбинации.

Полученные результаты позволяют сделать следующие **выводы**:

1. Введение ингибитора фосфодиэстеразы-5 сиалиса в эксперименте оказывает прекондиционирующий защитный эффект на систему синтеза COX-2 в плотных пятнах и эпителии толстых сегментов петель нефронов в отдаленном сроке после ишемии-реперфузии в почках.

2. При дистантном прекондиционировании в отдаленном сроке также наблюдается эффект нормализации экспрессии COX-2, которая становится идентичной интактным контрольным животным.

3. Действие ингибирования фосфодиэстеразы-5 достоверно более выражено, чем дистантного прекондиционирования; комбинированное прекондиционирование оказывает эффект, эквивалентный изолированному фармакологическому прекондиционированию введением ингибитора фосфодиэстеразы-5 сиалиса.

**Исследование выполнено в рамках государственного задания на НИОКР (госконтракт №4.913.2011).**

#### Литература

1. Возможности фармакологической коррекции хронической ишемии конечности в эксперименте / Е.Б. Артюшкова, Д.В. Пашков, М.В. Покровский и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 3. – С. 23-25.

2. Дистантное и фармакологическое прекондиционирование – новые возможности стимуляции неоваскулогенеза / И.М. Колесник, М.В. Покровский, О.С. Гудырев и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 6(120). – С. 56-58.
3. 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. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2006. – № 10(91). – С. 72-77.
4. Фармакологическая коррекция L-аргинином «ADMA-ENOS-ассоциированных мишеней» при экспериментальной преэклампсии / М.В. Покровский, Т.Г. Покровская, В.В. Гуреев и др. // Кубанский научный медицинский вестник. – 2010. – № 1. – С. 85-92.
5. The interaction between inhibitors of nitric oxide synthase and cyclooxygenase in formalin-induced pain in mice: an isobolographic study / A. Bhat, S. Tandan, D. Kumar et al. // J. of the International Anesthesia Research Society. – 2008. – Vol. 106. – P. 978-984.
6. Discovery of a new function of cyclooxygenase (COX)-2: COX-2 is a cardioprotective protein that alleviates ischemia/reperfusion injury and mediates the late phase of preconditioning / R. Bolli, K. Shinmura, X. Tang et al. // J. Cardiovasc. Research. – 2002. – Vol. 55. – P. 506-519.
7. 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.
8. Role of renocortical cyclooxygenase-2 for renal vascular resistance and macula densa control of renin secretion / H. Castrop, F. Schweda, K. Schumacher et al. // J. Am. Soc. Nephrol. – 2001. – Vol. 12. – P. 867-874.
9. Permissive role of nitric oxide in macula densa control of renin secretion / H. Castrop, F. Schweda, D. Mizel et al. // Am. J. physiol. – 2003. – Vol. 286. – P. 848-857.
10. Nitric oxide regulates renal cortical cyclooxygenase-2 expression / H. Cheng, J. Wang, M. Zhang et al. // Am. J. physiol. – 2000. – Vol. 279. – P.122-129.
11. Genetic deletion of COX-2 prevents increased rennin expression in response to ACE inhibition / H. Cheng, J. Wang, M. Zhang et al. // Am. J. physiol. – 2001. – Vol. 280. – P. 449-456.
12. Nitric oxide: a prostaglandin H synthase 1 and 2 reducing cosubstrate that does not stimulate cyclooxygenase activity or prostaglandin H synthase expression in murine macrophages / J. Curtis, N. Reddy, R. Mason et al. // Arch. Biochem. Biophys. – 1996. – Vol. 335. – P. 369-376.
13. Diaz-Cazorla, M. Dual effect of nitric oxide donors on cyclooxygenase-2 expression in human mesangial cells / M. Diaz-Cazorla, D. Perez-Sala, S. Lamas // J. Am. Soc. Nephrol. – 1999. – Vol. 10. – P. 943-952.
14. Das, A. Phosphodiesterase-5 inhibitor sildenafil preconditions adult cardiac myocytes against necrosis and apoptosis / A. Das, L. Xi, C. Kukreja // The Journal of Biological Chemistry. – 2005. – Vol. 280, №13. – P. 12944-12955.
15. 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.
16. Regulation of the expression of cyclooxygenase-2 by nitric oxide in rat peritoneal macrophages / A. Habib, C. Bernard, M. Lebreton et al. // J. Immunol. – 1997. – Vol. 158. – P. 3845-3851.
17. Harris, R. Macula densa signaling – a potential role of cyclooxygenase-2 (COX-2)? / R. Harris // J. of Nephrology Dialysis Transplantation. – 2000. – Vol. 15. – P. 1504-1506.
18. Harris, R. Physiological regulation of cyclooxygenase-2 in the kidney / R. Harris, M. Breyer // Am. J. physiol. – 2001. – Vol. 281. – P. 1-11.
19. Hartner, A. Role of macula densa cyclooxygenase-2 in renovascular hypertension / A. Hartner, N. Cordasic, M. Goppelt-Struebe // Am. J. Physiol. – 2003. – Vol. 284. – P. 498-502.
20. Knethen, A. Cyclooxygenase-2: an essential regulator of NO-mediated apoptosis / A. Knethen, B. Brune // FASEB J. – 1997. – Vol. 11. – P. 887-895.
21. Kramer, B. Acute upregulation of COX-2 by renal artery stenosis / B. Kramer, A. Kurtz // Am. J. Physiol. – 2001. – Vol. 280. – P. 119-125.
22. Kwon, O. Diminished NO generation by injured endothelium and loss of macula densa nNOS may contribute to sustained acute kidney injury after / O. Kwon, S. Hong, G. Ramesh // Am. J. Physiol. – 2009. – Vol. 296. – P. 25-33.
23. 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.
24. Inhibition of nNOS expression in the macula densa by COX-2-derived prostaglandin E2 / A. Paliege, D. Mizel, C. Medina et al. // Am. J. Physiol. – 2004. – Vol. 287. – P.152-159.
25. Perkins, D. Blockade of nitric oxide formation down-regulates cyclooxygenase-2 and decreases PGE2 biosynthesis in macrophages / D. Perkins, D. Kniss // J. Leukos Biol. – 1999. – Vol. 65. – P. 792-799.
26. Peti-Peterdi, J. Macula densa sensing and signaling mechanisms of renin release / J. Peti-Peterdi, R. Harris // J. Am. Soc. Nephrol. – 2010. – Vol. 21. – P. 1093-1096.





27. Reffelmann, T. Phosphodiesterase 5 inhibitors: are they cardioprotective? / T. Reffelmann, R. Kloner // *Cardiovasc. Research.* – 2009. – Vol. 83. – P. 204-212.
28. Phosphodiesterase-5 inhibitor, Tadalafil, protects against myocardial ischemia/reperfusion through protein-kinase G dependent generation of hydrogen sulfide / F.N. Salloum, V.Q. Chau, N.N. Hoke et al. // *Circulation.* – 2009. – Vol. 120. – P. 31-36.
29. Schnermann, J. Cyclooxygenase-2 and macula densa control of rennin secretion / J. Schnermann // *J. of Nephrology Dialysis Transplantation.* – 2001. – Vol. 16. – P. 1735-1738.
30. Epithelial COX-2 expression is not regulated by nitric oxide in rodent renal cortex / F. Theilig, V. Campean, A. Paliege et al. // *J. of the American Heart Association.* – 2002. – Vol. 39 – P. 848-853.
31. Wahg, J. Cyclooxygenase-2 inhibition decreases rennin content and lowers blood pressure in a model of renovascular hypertension / J. Wang, H. Cheng, R. Harris // *J. of the American Heart Association.* – 1999. – Vol. 34. – P. 96-101.
32. Upregulation of juxtaglomerular NOS1 and COX-2 precedes glomerulosclerosis in fawn-hooded hypertensive rats / W. Weichert, A. Paliege, A. Provoost et al. // *Am. J. Physiol.* – 2001. – Vol. 280. – P. 706-714.
33. Inhibition of the rennin-angiotensin system upregulates cyclooxygenase-2 expression in the macula densa / K. Wolf, H. Castrop, A. Hartner et al. // *J. of the American Heart Association.* – 1999. – Vol. 34. – P. 503-507.
34. Low chloride stimulation of prostaglandin E2 release and cyclooxygenase-2 expression in a mouse macula densa cell line / T. Yang, J. Parks, Y. Huang et al. // *J. of Biological Chemistry.* – 2000. – Vol. 275, №48. – P. 37922-37929.

## **EXPRESSION OF CYCLOOXYGENASE-2 (COX-2) IN KIDNEYS AFTER ISCHEMIA-REPERFUSION AND INFLUENCE OF THE DISTANT AND PHARMACOLOGICAL PRECONDITIONING**

**A.A. DOLZHIKOV<sup>1</sup>**  
**M.V. POKROVSKY<sup>1</sup>**  
**I.N. DOLZHIKOVA<sup>1</sup>**  
**T.G. POKROVSKAYA<sup>1</sup>**  
**I.M. KOLESNIK<sup>2</sup>**  
**S.V. MYAGCHENKO<sup>2</sup>**  
**V.A. FILIMONOV<sup>2</sup>**  
**O.I. BRATCHIKOV<sup>2</sup>**  
**I.A. KOROBTSOVA<sup>1</sup>**

In the paper the data about influence of the distant and pharmacological preconditioning by phosphodiesterase-5 inhibitor tadalafil on the expression of cyclooxygenase-2 (COX-2) have been presented. It is shown that pharmacological preconditioning is more effective in preconditioning of the kidneys from the ischemic injury. The possible mechanisms of defensive effects of preconditioning and the role of COX-2 in ischemia-reperfusion of the kidneys are discussed.

Key words: ischemia-reperfusion of kidneys, preconditioning, phosphodiesterase-5 inhibitor, cyclooxygenase-2.

<sup>1)</sup> *Belgorod National Research University*

<sup>2)</sup> *Kursk State Medical University*

*e-mail: dolzhikov@bsu.edu.ru*