Митохондриально-направленные подходы в терапии острого повреждения почек

С.С. Янкаускас[1], Е.Ю. Плотников[1], Л.Д. Зорова[2], В.А. Попков[3], И.Б. Певзнер[1], В.А. Бабенко[3], Н.В. Адрианова[4], С.Д. Зоров[2], Д.Н. Силачёв[1], Д.Б. Зоров[1]

[1] Научно-исследовательский институт физико-химической биологии имени А.Н.Белозерского Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова, 119992, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 40, Москва, Россия

[2] Международный учебно-научный лазерный центр МГУ имени М.В. Ломоносова, 119991, Москва, Ленинские горы, д. 1, стр. 62, Москва, Россия

[3] Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Ленинские горы д. 1, стр. 73, Москва, Россия

[4] ГБОУ ВПО Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова РНИМУ им. Н.И. Пирогова Минздрава России, 117997, Москва, ул. Островитянова, д. 1, Москва, Россия

Mitochondria-targeted approaches to prevent acute kidney injury

S.S. Jankauskas[1], E.Yu. Plotnikov[1], L.D. Zorova[2], V.A. Popkov[3], I.B. Pevzner[1], V.A. Babenko[3], N.V. Adrianova[4], S.D. Zorov[3], D.N. Silachev[1], D.B. Zorov[1]

[1] A.N. Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[2] International Laser Center, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[3] Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University, Moscow, Russian Federation

[4] Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russian Federation

Ключевые слова: *острое повреждение почек, нефротоксичность, митохондрия, окислительный стресс, прекондиционирование, антиоксиданты*

Экспериментальные работы последних десяти лет накопили достаточное количество фактов, убедительно показывающих, что митохондрии играют ключевую роль в развитии острого повреждения почек (ОПП) при воздействии различных повреждающих агентов, включающих ишемию/реперфузию, миоглобинурию, эндотоксемический шок и нефротоксичные препараты. Во всех перечисленных случаях происходит нарушение нормального функционирования митохондрий почки, одним из основных последствий которого становится чрезмерная продукция активных форм кислорода (АФК), в основном производящихся в дыхательной цепи митохондрий. Развивающийся окислительный стресс нарушает или изменяет целый ряд внутриклеточных процессов, в результате чего падает эффективность работы канальцевого эпителия и изменяется реактивность почечных сосудов. При большей выраженности митохондриальной дисфункции развивается гибель клеток, ведущая к уменьшению количества действующих нефронов.

В данном обзоре рассматриваются новые подходы к лечению ОПП, направленные на митохондриальные процессы. Первый из них заключается в использовании нового типа антиоксидантов, сконструированных таким образом, чтобы избирательно накапливаться в митохондриях клеток. Экспериментальные данные показывают, что достижение высоких концентраций антиоксидантных соединений в этих органеллах позволяет остановить цепочку деструктивных событий при моделировании ОПП и, как следствие, сохранить функцию почки. Вторая стратегия – умеренное разобщение дыхания митохондрий и окислительного фосфорилирования – изменяет работу дыхательной цепи таким образом, что уменьшает её способность к образованию кислородных радикалов. Третий подход связан не с уменьшением количества АФК, а с активацией эндогенных механизмов толерантности к окислительному стрессу путём «тренировки» органа короткими периодами ишемии. Пульсы АФК, образуемые дыхательной цепью митохондрии в эти периоды,

Адрес для переписки: *Зоров Дмитрий Борисович. НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ, 119992 Москва, Ленинские горы, 1, стр. 40*

Телефон: *+7 (495) 939-59-44* ***Факс:*** *+7 (495) 939-3181* ***E-mail:*** *zorov@genebee.msu.ru*

активируют сигнальные пути, которые делают органеллу более устойчивой к условиям, в которых генерируется много АФК. Целый ряд фармакологических агентов способен активировать данные сигнальные пути и уменьшать тяжесть ОПП в экспериментах на животных.

For last ten years a substantial number of facts have been accumulated to reveal a crucial role of mitochondria in the development of acute kidney injury (AKI) under exposure to various damaging factors including ischemia/reperfusion, myoglobinuria, endotoxemic shock and nephrotoxic drugs. All these factors are associated with a distortion of normal functioning of renal mitochondria resulting in impropriate production of reactive oxygen species (ROS). Resultant oxidative stress disrupts or modifies a number of intracellular processes, leading to the loss in the efficiency of tubular epithelium and changes of the vessels reactivity. As a result, severe mitochondrial dysfunction leads to a decrease in the number of active nephrons. The review describes new approaches to the treatment of AKI via targeting the mitochondria. The first approach suggests the usage of new antioxidants selectively accumulated in mitochondria. Resultant high concentrations of antioxidants in these organelles allows one to cease the destructive chain of events underlying AKI and, consequently, to preserve kidney function. The second strategy is a mild uncoupling of mitochondrial respiration and oxidative phosphorylation in order to reduce generation of ROS by the respiratory chain. The third approach is associated with the activation of endogenous mechanisms of tolerance to oxidative stress by «training» the organ through exposure to short periods of ischemia. Pulses of ROS produced by mitochondria in these periods activate signaling pathways that make the organelle more tolerant to ROS-mediated damage. A number of available pharmacological agents are able to activate these pathways and reduce the severity of AKI tested in animal studies.

Key words: *acute kidney injury, nephrotoxicity, mitochondria, oxidative stress, preconditioning, antioxidants*

Принятые сокращения: АТФ – аденозинтрифосфат, АФК – активные формы кислорода, ИПК – ишемическое прекондиционирование, ОПП – острое повреждение почек.

Введение

Острое повреждение почек (ОПП) – это синдром, характеризующийся быстрым (в течение часов или дней) снижением скорости клубочковой фильтрации, которое сопровождается накоплением в организме продуктов азотистого метаболизма, водно-электролитными и кислотно-щелочными нарушениями. ОПП представляет собой социально значимую патологию в силу ее широкой распространённости и провоцируемой ею высокой смертности. Данная патология развивается у 5% всех госпитализированных больных и у 30% пациентов отделений интенсивной терапии, а летальность составляет до 40-60% [108].

Такая высокая смертность частично объясняется преобладанием больных пожилого и старческого возраста в популяции больных ОПП, а также тем фактом, что в подавляющем большинстве случаев данная патология встречается как осложнение различных тяжёлых состояний (в пост-операционном периоде, при тяжёлых травмах, системных нарушениях гемодинамики, сепсисе, сердечной недостаточности) [108]. Однако главная причина высокого уровня смертности заключается, прежде всего, в отсутствии эффективной фармакологической терапии ишемической ОПП. Большинство современных подходов направлено на коррекцию осложнений, возникающих в результате нарушения работы почки, и носят симптоматический характер [3].

Структура смертности от ОПП определяется ренальной её формой, когда причиной почечной недостаточности становится повреждение ткани почек. В 55-75% случаев повреждающим агентом является ишемия органа, в 30-40% – нефротоксическое действие различных препаратов (аминогликозидные антибиотики, радиоконтрастные вещества, противораковые и иммуносупрессивные препараты) [13, 65, 126]. В обоих случаях наблюдается гибель канальцевого эпителия, окислительный стресс, лейкоцитарная инфильтрация ткани и нарушения внутриорганной гемодинамики. Эти процессы тесно взаимосвязаны и образуют порочный круг, стимулируя друг друга. Работы последних лет показали, что значительную роль в регуляции этих процессов играет митохондриальный ретикулум.

Роль митохондрии в патогенезе ОПП

Нарушение функции митохондрии

Повреждение митохондриального аппарата при ОПП убедительно продемонстрировано в экспериментах на животных. Среди морфологических изменений канальцевого эпителия после ишемии/реперфузии неизменной находкой является увеличение объёма (набухание) митохондрий, и этот феномен является одним из самых ранних ультраструктурных изменений в нефроне при ОПП [8, 40, 41]. В дальнейшем исследователи обнаружили, что морфологические изменения органеллы

сопровождаются и нарушением её работы. Основной функцией митохондрии является обеспечение клеток энергией. В результате работы цикла Кребса в матриксе митохондрии происходит восстановление NAD до NADH, а одним из промежуточных продуктов цепи энзиматических превращений является сукцинат. Обе молекулы служат донорами электронов и протонов для ферментных комплексов (комплекс I и комплекс II) дыхательной цепи, находящихся на внутренней мембране митохондрии. Затем акцептированные электроны передаются на III комплекс, а с него переносятся цитохромом С на IV комплекс. На IV комплексе происходит четырехэлектронное восстановление молекулы кислорода с присоединением протонов и образованием молекул воды. Перенос электронов по ферментам дыхательной цепи сопряжён с переносом протонов из матрикса органеллы в межмембранное пространство. Таким образом, на внутренней мембране митохондрии образуется градиент концентрации протонов. Данный трансмембранный потенциал необходим для синтеза АТФ, осуществляемого специальным ферментом – АТФ-синтазой – за счёт обратного переноса протонов в матрикс органеллы [10].

При моделировании ишемии/реперфузии почки было показано, что уже через 10 минут после восстановления кровоснабжения наблюдается падение трансмембранного потенциала митохондрий в клетках корковой зоны [95]. Через час после начала реперфузии уровень АТФ в ткани органа не поднимается выше 50% от предишемических значений [132], а через сутки после индукции ишемической ОПП дыхательный контроль, по которому оценивают работу дыхательной цепи митохондрий, оказывается патологически низким в митохондриях почки [139]. Уменьшение активности I комплекса дыхательной цепи и падение дыхательного контроля были зафиксированы и в митохондриях, выделенных из почек крыс, получавших инъекции гентамицина [81]. Важно отметить, что нарушение работы митохондрий наблюдали уже после трёх суток введения антибиотика, в то время как почечная недостаточность развивалась только на 6-е сутки курса, что говорит о том, что митохондриальная дисфункция является скорее причиной почечной недостаточности, чем её следствием. Изменения в работе дыхательной цепи и падение концентрации АТФ в почке были также показаны и на двух различных моделях септического шока, провоцирующего ОПП [71, 90].

Падение уровня АТФ крайне негативно сказывается на работе проксимального отдела нефрона. Прежде всего, это уменьшает транспорт натрия через базальную мембрану эпителиоцитов. Этот процесс осуществляет Na/K-АТФаза, для работы которой необходим АТФ. Падение уровня АТФ также делает невозможным поддержание нормальной архитектуры актинового цитоскелета клетки [43, 100]. Это, в свою очередь, приводит к потере плотных контактов и, как следствие, к потере полярности клетки [14, 80, 97]. В результате Na/K-АТФаза начинает равномерно распределяться по всей поверхности эпителиоцитов и выкачивать ионы натрия, в том числе, и в просвет канальцев [63, 78, 79]. Деградация актиновых структур приводит также к потере щёточной каёмки проксимальных канальцев [55, 63] и базального лабиринта [51]. Всё это снижает реабсорбцию в проксимальных канальцах. Как следствие, растёт концентрация натрия в дистальных отделах нефрона. Это способствует полимеризации белка Тамма-Хорсфалла [137] и активирует систему канальцево-клубочковой обратной связи [116]. Первое приводит к образованию гелеподобной структуры, которая служит основой для формирования гиалиновых цилиндров из мёртвых клеток и клеточного дебриса, слущенных в просвет канальца. Второе приводит к сужению почечных артериол и уменьшению доставки кислорода к повреждённым нефронам, что будет только усугублять энергетический дефицит.

Окислительный стресс и ОПП

Окислительный стресс является характерной чертой ОПП различного генеза. В экспериментах *in vivo* было показано, что после 40-минутной ишемии наблюдается многократное увеличение продукции активных форм кислорода (АФК) в почке по сравнению с неповреждённым органом [95]. Использование флуоресцентного зонда, чувствительного к АФК, при моделировании гентамициновой токсичности на животных также позволило обнаружить рост образования кислородных радикалов в коре почки уже через три часа после разовой инъекции гентамицина [94]. После 5-6 суток введения антибиотика исследователи регистрировали выраженные последствия окислительного стресса: карбонилирование белков и окисление липидных мембран [27, 81, 94, 134]. Увеличение в почечной ткани концентрации малонового диальдегида – продукта перекисного окисления липидов – отмечали и после индукции рабдомиолиза [93]. Признаки окислительного стресса в почке наблюдали после введения нефротоксичных концентраций цисплатина [105], рентгеноконтрастных веществ [32], а также при эндотоксемическом шоке [71].

Окислительный стресс и митохондрии

Ключевую роль в развитии окислительного стресса играют митохондрии. Так, продукция АФК в митохондриях, выделенных из почек крыс, получавших гентамицин, была выше, чем в митохондриях контрольных животных [81]. Если интактные митохондрии, выделенные из здорового животного, инкубировать с гентамицином, то будет наблю-

даться увеличение продукции перекиси водорода органеллами [133]. Одновременное окрашивание срезов почки, перенесшей 40-минутную ишемию, двумя флуоресцентными зондами, один из которых детектировал АФК, а другой специфично накапливался в митохондриях, выявило, что источник АФК на ранних сроках реперфузии находится в митохондриях [95]. При помощи другого флуоресцентного красителя, чувствительного к концентрации супероксиданиона в митохондриях, удалось показать развитие митохондриального окислительного стресса в почках через 36 часов после индукции сепсиса [90].

Способность образовывать АФК показана для целого ряда ферментов, локализующихся в митохондриях. Это матриксные дегидрогеназы, моноаминооксидаза, NADPH-оксидаза, аконитаза и ферменты дыхательной цепи [150]. Экспериментальные данные указывают на то, что при ишемии/реперфузии решающий вклад в продукцию АФК вносит дыхательная цепь. В физиологических условиях в дыхательной цепи митохондрий АФК образуются постоянно, но в небольших количествах, в результате одно-электронного восстановления кислорода до супероксиданиона O_2^-, вместо четырёх-электронного восстановления до воды [83]. Во время аноксии или глубокой гипоксии, что сопровождается восстановлением компонентов дыхательной цепи митохондрий, такое одноэлектронное восстановление кислорода, приводящее к образованию супероксида, является предпочтительным. Реоксигенация после ишемии по непонятным причинам усугубляет развитие окислительного стресса [68]. Интенсификации этого процесса способствуют вызванные ишемией структурные изменения I и III комплексов [104] и истощение антиоксидантных систем органеллы [17, 48, 113]. Нарушение работы дыхательной цепи происходит также под действием пероксинитрита $ONOO^-$, образующегося при взаимодействии супероксиданиона с оксидом азота [24; 111].

В ряде случаев, дыхательная цепь митохондрии не является первичным источником АФК. Однако, возникновение АФК в других клеточных компартментах, способно увеличивать продукцию АФК в митохондриях [30, 150].

Патологические последствия окислительного стресса

Лавинообразное образование АФК в митохондриальном ретикулуме или в непосредственной близости от него несёт в себе большую опасность, чем окислительный стресс другой клеточной локализации. Это связано с тем, что АФК являются триггером возникновения неспецифической проницаемости митохондрии. Этот феномен связан с открытием особого порового комплекса во внутренней мембране органеллы, получившего название MPTP – mitochondrial permeability transition pore (пора неспецифической проницаемости митохондрии) [19]. Открытие поры делает внутреннюю мембрану митохондрии проницаемой для молекул размером более 1,5 кДа, что приводит к выравниванию концентраций электролитов между матриксом органеллы и межмембранным пространством. Как следствие, происходит осмотическое набухание органеллы (характерное ультраструктурное изменение клеток нефрона, сопровождающее ишемическую ОПП) и рассеивание трансмембранного потенциала. Наличие мембранного потенциала является жизненно необходимым для работы митохондрии. Поэтому ради его сохранения происходит обращение работы АТФ-синтаз: фермент начинает транспортировать протоны в обратном направлении (из матрикса в межмембранное пространство), используя для этого энергию гидролиза АТФ [121]. Это позволяет поддержать трансмембранный градиент, но ведёт к быстрому истощению пула макроэргических соединений.

В опытах на изолированных кардиомиоцитах было обнаружено, что открытие поры стимулирует митохондрию производить ещё большее количество АФК [149]. Усиление окислительного стресса свою очередь будет провоцировать открытие поры в соседних митохондриях, всё больше увеличивая количество АФК и уменьшая число производящих энергию митохондрий [150].

Помимо отрицательного влияния на биоэнергетику, открытие поры неспецифической проницаемости ведёт к гибели клетки. Так, показано, что при её открытии в цитозоль из митохондрии транслоцируются различные белки, инициирующие апоптоз: цитохром С, Apaf-1, апоптоз-индуцирующий фактор (AIF), эндопептидаза G и прочие [4, 42, 52, 102]. Если вызванная патологическим воздействием митохондриальная неспецифическая проницаемость затронула большинство митохондрий, то это будет сопровождаться резким уменьшение уровня АТФ в клетке, причём истощение пула АТФ может быть настолько глубоким, что клетки будут погибать от некроза. Данные, полученные на трансгенных животных, позволяют предполагать, что пора неспецифической проницаемости может являться той самой структурой, которая отвечает за реализацию некротической гибели в условиях окислительного стресса [85].

Нокаут гена циклофилина D – одного из важнейших компонентов митохондриальной поры – в модельных системах *in vitro* предотвращал дисфункцию митохондрий и развитие энергетического дефицита при окислительном стрессе [29]. В экспериментах *in vivo* мыши, дефицитные по тому же гену, были защищены от последствий ишемии/реперфузии [29]. Фармакологическое ингибирование порового комплекса при помощи циклоспорина А,

имеющего в качестве мишени циклофилин D, предотвращало падение трансмембранного потенциала во время реперфузии [95] и развитие почечной недостаточности [67, 99, 115].

Помимо индукции неспецифической проницаемости митохондрии, АФК способны воздействовать на внутриклеточные сигнальные пути через окислительную модификацию белков по остаткам цистеина, серина и тирозина [28] или, изменяя редокс-статус клетки в направлении окисления ее компонентов [47]. Редокс-статус клетки в норме характеризуется высоким соотношением восстановленных форм глутатиона и тиоредоксина к их окисленным формам и необходим для работы ряда транскрипционных факторов. В условиях окислительного стресса происходит снижение количества восстановленного глутатиона, напрямую участвующего в нейтрализации перекиси водорода, и снижение активности глутатион-редуктазы [107]. Среди сигнальных каскадов, запускаемых АФК, наибольшее значение для патофизиологии ОПН имеет JNKs/SAPKs-сигнальный путь и активация транскрипционного фактора NF-κB. В первом случае наблюдается запуск апоптотической программы [39, 64], во втором – экспрессия провоспалительных молекул, молекул адгезии, хемоаттрактантов, интерлейкинов [23, 47, 62]. Воспалительные изменения, в частности, инфильтрация ткани почки нейтрофилами и моноцитами/макрофагами наблюдается уже в первые часы после ишемии/реперфузии [76, 145]. Эти клетки генерируют АФК, что усугубляет окислительный стресс в органе, а также они секретируют ферменты и биологически активные вещества (протеазы, эластазу, миелопероксидазу, лейкотриены), разрушающие межклеточный матрикс и вызывающие вазоконстрикцию [12]. После ишемии/реперфузии *in vivo* также происходит увеличение экспрессии молекул адгезии и костимуляции лейкоцитов (ICAM, B7-1) на эндотелии vasa recta [44]. Наблюдается и накопление самих лейкоцитов в этих участках кровеносного русла почки. Можно предполагать, что адгезия лимфоцитов, обусловленная CD28 – B7-1 взаимодействием, приводит к стазу крови в капиллярах почки, что и становится причиной драматического уменьшения почечного кровотока в наружном мозговом слое почке после ишемии/реперфузии [88].

Нарушение почечной гемодинамики может быть объяснено и прямым действием АФК на почечные сосуды. Так, супероксиданион реагирует с оксидом азота с образованием пероксинитрита ONOO-, и скорость этой реакции в три раза выше, чем с супероксид дисмутазой, нейтрализующей супероксиданион [98]. Таким образом, АФК, могут снижать концентрацию оксида азота в эндотелии сосудов и ингибировать NO-зависимую вазорелаксацию [26, 33].

Митохондрия как мишень для нефропротекции

Митохондриально-направленные антиоксиданты

Как было показано выше, окислительный стресс способен повреждать различные клеточные структуры, однако наибольшую опасность несут радикалы, образуемые в митохондрии или действующие на митохондрию. Возможно, именно недостаточно высокой концентрацией антиоксидантов в митохондриях, объясняется отсутствие заметного терапевтического эффекта от использования классических антиоксидантов в клинике [61]. Это стало причиной разработки митохондриально-направленных антиоксидантов. В основе этих работ лежит представление о том, что антиоксидант должен быть не просто оперативно доставлен в подверженный окислительному стрессу орган, а доставлен в нужное место клетки, то есть важной является также внутриклеточная локализация антиоксиданта, что достигается за счет способности митохондриально-направленных антиоксидантов быстро и избирательно накапливаться в митохондриях. К настоящему моменту разработано целое семейство таких соединений.

Первая группа таких веществ представляет собой липофильные катионы с делокализованным зарядом, соединённые с антиоксидантной молекулой. Так как за счёт трансмембранного потенциала снаружи митохондрия заряжена положительно, а внутри – отрицательно, то, распределяясь в клетке по электрохимическому градиенту, эти положительно заряженные молекулы будут накапливаться в митохондриях. Липофильность соединений облегчает этот процесс, позволяя свободно диффундировать через мембрану, не прибегая к помощи белковых переносчиков. В итоге на одну молекулу такого антиоксиданта в межклеточном пространстве будет приходиться 10 000 молекул в матриксе и внутренней мембране митохондрии. Это позволяет достигнуть высокой концентрации антиоксиданта в данном клеточном компартменте при малой дозе введения препарата.

Соединения такого типа были разработаны группой британского исследователя M.P. Murphy в Кэмбридже (MitoQ) и под руководством академика В.П.Скулачёва в МГУ имени М.В.Ломоносова (SkQ1, SkQR1). В качестве «локомотива» SkQ1 и MitoQ используют трифенилфосфоний, а в качестве антиоксиданта – пластохинон и убихинон, соответственно. Важно отметить, что любая антиоксидантная молекула при достижении больших концентраций начинает действовать как прооксидант. К сожалению, у MitoQ окно концентраций между антиоксидантным и прооксидантным действием оказалось слишком узким [9]. Однако, несмотря на это, в опытах на животных было показано, что добавление этого

вещества к консервирующему раствору при трансплантации почки ингибирует биохимические процессы, ответственные за повреждение трансплантата при длительной холодовой ишемии [74]. В другой работе MitoQ смягчал нефротоксическое действие цисплатина, вводимого мышам [82]. Введение препарата при эндотоксемическом шоке предотвращало гибель животных и уменьшало тяжесть почечной недостаточности [71, 101].

Более перспективными для клинического применения выглядят SkQ1 и SkQR1, лишённые недостатка MitoQ – узкого терапевтического окна [1]. При введении за сутки до ишемии/реперфузии SkQ1 предотвращал гибель животных [2], а при введении за 3 часа до операции, через час после и в течение ещё двух суток через каждые 12 часов улучшал функцию почки [7]. Ещё более выраженным нефропротекторным потенциалом обладает SkQR1. Данный препарат защищал почку от повреждения при экспериментальном рабдомиолизе, ишемии/реперфузии, гентамициновой токсичности [6, 11, 92]. Исследователи наблюдали предотвращение гибели животных, улучшение гистологической картины органа, падение концентрации креатинина и мочевины и сохранение нормальной продукции эритропоэтина, нарушенной в результате ОПП. При этом, благодаря адресной доставке вещества в митохондрии, защитное действие препарата наблюдалось при дозах 20-100 нмоль/кг внутрибрюшинного введения. Интересно отметить, что SkQR1 предотвращал воспалительные изменения, наблюдаемые в почке при моделировании острого пиелонефрита [96]. Эти данные говорят о важной роли митохондриальных АФК в регуляции сигнальных путей воспаления и о возможном использовании митохондриальных антиоксидантов для лечения гораздо более широкого спектра почечных патологий.

Другой способ направленной доставки реализуется для mitoTEMPO. Данное соединение представляет собой нитроксид, ковалентно соединённый с небольшим фрагментом грамицидина S. Нитроксид образует стабильные радикалы при взаимодействии с супероксиданионом, тем самым действуя как антиоксидант, а пять аминокислотных остатков грамицидина отвечают за накопление mitoTEMPO в митохондриях. В опытах *in vitro* было показано, что молекула действительно накапливается в органелле и предотвращает генерацию АФК, вызванную ингибиторами дыхательной цепи [50, 140]. Исследования на животных выявили нефропротекторный потенциал препарата при моделировании сепсиса. Лигирование слепой кишки и перфорирование её стенки проксимальнее точки лигирования приводило к развитию бактериемии и к ОПП. Митохондриальный антиоксидант нормализовывал скорость клубочковой фильтрации и улучшал органную микроциркуляцию, нарушенную в результате сепсиса [90].

Ещё один класс митохондриально-направленных антиоксидантов – пептиды Жето-Шиллера (SS-пептиды) изначально разрабатывались как опиоидные анальгетики центрального действия, однако в дальнейшем оказалось, что их строение позволяет им накапливаться в митохондриях и оказывать прямое антиоксидантное действие. Антиоксидантные свойства эти молекулы приобретают благодаря наличию остатка 2',6'-диметилтирозина. В экспериментах *in vitro* SS-пептиды предотвращали развитие окислительного стресса, набухание митохондрий и выход цитохрома С в цитоплазму при инкубации клеток с тетра-бутилгидропероксидом [123]. Среди соединений этого класса наибольшую эффективность в опытах на животных показал SS-31, получивший название Бендавия. Введение этого препарата при ишемическом инсульте почки ускоряло восстановление уровня АТФ, уменьшало выраженность патоморфологических изменений, улучшало состояние сосудистого русла почки [21, 69, 124]. В другой работе было показано уменьшение патологических последствий обструкции мочеточника (окислительный стресс, индукция апоптоза, инфильтрация макрофагов) на фоне приёма животными SS-31 [77].

Умеренное разобщение окислительного фосфорилирования

Другим нефропротекторным подходом, призванным защитить митохондрии почки от чрезмерной продукции АФК является мягкое разобщение дыхания и окислительного фосфорилирования. В данном случае стратегия защиты заключается не в нейтрализации уже образовавшихся АФК, а в изменении работы митохондрии таким образом, чтобы сделать продукцию АФК менее вероятной. Этот подход базируется на открытии феномена, показывающего, что количество производимых митохондрией АФК зависит от величины трансмембранного потенциала [60]. Чем выше потенциал, тем больше перекиси водорода образуют митохондрии, и чем он ниже, тем меньше её генерация. Разобщение представляет собой обратный транспорт протонов через внутреннюю мембрану митохондрии в обход АТФ-синтазы, так что возвращение протонов в матрикс оказывается не сопряжённым с синтезом АТФ [10]. В результате этого процесса трансмембранный потенциал уменьшается, но уменьшается и образование АФК. Заметим, что при сильном разобщении, потенциал может упасть до значений, при которых станет невозможным синтез АТФ. В этом заключается главная опасность в применении соединений с разобщающим действием: если используется активный разобщитель, то очень трудно подобрать такую дозу, чтобы сохранить некоторый синтез АТФ, но при этом уменьшить генерацию АФК. Заметно легче сделать это, если использовать не очень активный препарат. Наиболее мягким по действию

среди классических разобщителей является 2,4-динитрофенол. Его применение разрешено у людей, хотя риск смертельного исхода при передозировке довольно высок. Несмотря на это, было показано, что 2,4-динитрофенол защищает почку крысы от ишемического повреждения [7]. Терапевтического эффекта удалось достичь при дозах, исключающих негативное влияние препарата на биоэнергетику сердца.

С целью увеличения безопасности данного класса веществ в настоящее время идут разработки митохондриально-направленных разобщителей, чья концентрация в митохондриях зависела бы от величины трансмембранного потенциала. Это привело бы тому, что при сильном падении потенциала разобщение останавливалось бы, не приводя к биоэнергетическому коллапсу митохондрии. Для некоторых из таких разобщителей, например для додецилродамина (C12R1), уже продемонстрирована способность уменьшать выраженность почечной недостаточности при рабдомиолизе и ишемии/реперфузии [7].

Ишемическое прекондиционирование

Третьей митохондриально-ориентированной стратегией нефропротекции является увеличение толерантности митохондрии и клетки в целом к окислительному стрессу. АФК могут не только повреждать ткань, но и, напротив, защищать её от повреждения. Это действие свободных радикалов было обнаружено в 1986 году, когда Murry и соавт. наблюдали уменьшение зоны инфаркта миокарда после коротких периодов ишемии перед длительным ишемическим инсультом [84]. Феномен получил название ишемического прекондиционирования (ИПК). Позже феномен ИПК был описан и для почки: четыре цикла ишемии по 8 мин, разделенных 5 мин реперфузии, обеспечивали защиту против 45-минутной ишемии, сделанной непосредственно после этих четырех циклов [66]. В другой работе мыши, перенесшие 30-минутную ишемию почки, были невосприимчивы к 30-минутной ишемии через 8 дней после первого инсульта [89]. То, что в реализации защитного действия ИПК ключевую роль играют АФК, образующиеся при первичной ишемии, было показано в работе, где применение антиоксидантов устраняло защитный эффект прекондиционирования [57].

Огромное значение для клиники имело открытие феномена удалённого прекондиционирования, когда ишемическая «тренировка» одного органа увеличивала резистентность другого органа к длительному ишемическому инсульту. Так, было показано, что 4-х кратное повторение цикла, состоящего из 5 мин ишемии и 5 мин реперфузии почки крысы защищало животное от экспериментального инфаркта миокарда [31] и ишемического инсульта головного мозга [114]. Дальнейшие исследования показали, что кратковременная ишемизация конечностей не менее эффективна, чем ИПК внутренних органов [109]. Также позже было обнаружено, что защитный эффект наблюдается не только при ишемической «тренировке» перед длительной ишемией, но и при проведении «тренировки» сразу после ишемического инсульта почки [135, 138].

Это открыло широкие перспективы для использования удалённого ИПК в клинической практике, так как для его проведения можно использовать исключительно простые и безопасные протоколы. Ишемическую «тренировку» проводят при помощи манжеты тонометра, пережимая плечо или бедро пациента на 5 мин с последующей 5 мин реперфузией. Такой цикл повторяют несколько раз, обычно чередуя правую и левую конечности. На данный момент уже опубликованы результаты клинических испытаний, исследующих влияние удалённого ИПК на риск развития ОПП. Многообещающие результаты получены в работах по профилактике рентгеноконтрастной нефропатии [36, 46, 119]. Есть работа, демонстрирующая более быстрое восстановление функции почечного трансплантата под влиянием удалённого ИПК [141]. Однако в то же время нет консенсуса относительно эффективности этого подхода к предотвращению ОПП после операций на сердце [22, 25, 91, 130, 144, 148].

Фармакологическое прекондиционирование

Фармакологическое воздействие на сигнальные пути ИПК с целью защиты органа от ОПП получило название фармакологического прекондиционирования. Исследования ИПК показали, что клеточные защитные сигнальные пути, начинаясь от разных элементов, сходятся на 3β изоформе киназы гликогенсинтазы (GSK-3β) [53, 54]. Ингибирование этого фермента происходит при фосфорилировании, которое осуществляется протеинкиназой C, протеинкиназой B/Akt, протеинкиназой A и некоторыми другими киназами. Неактивное состояние GSK-3β препятствует открытию поры неспецифической проницаемости митохондрии, тем самым предотвращая дисфункцию митохондрий при окислительном стрессе [54]. На данный момент обнаружен ряд препаратов, способных активировать сигнальные пути ИПК и защищать почку, схемы действия которых укладываются в принципы, изложенные выше. Более того, многие из них уже успешно применяются в клинической практике по другим показаниям.

Одним из таких препаратов являются соли лития, уже более полувека используемые в психиатрической практике. Введение хлорида лития перед ишемией почки предотвращало дисфункцию митохондриального аппарата и уменьшало продукцию АФК [95]. В двух других работах, где оценивали изменение

физиологических параметров, было показано уменьшение тяжести почечной недостаточности после ишемии/реперфузии вследствие введения соли лития животным [18, 125]. Соли лития также предотвращали повреждение почки, уменьшали продукцию провоспалительных цитокинов и увеличивали выживание животных при экспериментальном сепсисе у мышей, вызванном внутрибрюшинным введением эндотоксина [136]. Защитный эффект лития был также продемонстрирован и при нефротоксической форме ОПП – литий смягчал токсическое действие цисплатина [18] и гентамицина [94]. Отмечается, что применение солей лития может быть ограничено их нефротоксичностью [5, 128]. Однако развитие этого побочного эффекта, как правило, требует хронического использования препарата. Применение лития для лечения острых состояний и строгий контроль концентрации лития в плазме, скорее всего, позволят избежать нежелательных эффектов.

Нефропротекторное действие было обнаружено у отечественного препарата даларгина, являющегося агонистом периферических δ-опиоидных рецепторов и внедрённого в клиническую практику во второй половине 1980-х годов для лечения язвенной болезни. Недавно было показано, что его введение за 3 часа до инъекции гентамицина уменьшало продукцию АФК, вызываемую антибиотиком, улучшало функцию почки и гистологическую картину ткани органа [94].

Способность ингибировать митохондриальную неспецифическую пору была показана и для антидиабетического лекарства метформина. Его совместное применение с гентамицином нивелировало негативное влияние антибиотика на биоэнергетическое состояние митохондрии, а на физиологическом уровне проявлялось в виде улучшения скорости клубочковой фильтрации и уменьшения повреждения ткани [81]. Другой исследовательской группой было показано, что введение метформина животным при ишемии/реперфузии почки снижало концентрацию нейтрофильного желатиназо-ассоциированного липокалина (NGAL), являющегося маркёром острого повреждения почки, и нормализовало архитектуру ткани [110]. Небольшого нефропротекторного эффекта удалось достичь и на модели цисплатиновой нефротоксичности [105]. Однако в литературе описываются случаи лактатного ацидоза, вызванного метформином на фоне ОПП, по всей видимости, связанного с недостаточным выведением препарата [127, 129]. Это требует дозирования метформина в строгой зависимости от скорости клубочковой фильтрации.

Ещё одним прекондиционирующим агентом является ингаляционный анестетик изофлуран. Плазменная концентрация креатинина и мочевины после индукции рабдомиолиза у животных, наркотизированных изофлураном, была в несколько раз ниже, чем у животных, получавших с той же целью фенобарбитал или десфлуран [70]. Использование изофлурана предотвращало развитие ОПП при ишемии/реперфузии почки [45, 58] и моделировании трансплантации [122]. При этом защитный эффект был связан с уменьшением воспалительных процессов. Способность ингибировать GSK-3β была показана для другого ингаляционного анестетика – ксенона [72]. В экспериментах на животных он предотвращал снижение почечной функции после трансплантации органа [147], смягчал нефротоксичность гентамицина [49], минимизировал патологические последствия ишемии/реперфузии [72]. Нефропротекторное действие обнаруживают и для других анестетиков [56].

Другим примером нефропротекторных препаратов является никорандил. Этот препарат изначально разрабатывался для воздействия на сигнальные пути ИПК и лечения ишемических патологий. При введении его крысам за два часа до ишемии исследователи отмечали улучшение функции почки, уменьшение гистологических признаков повреждения, предотвращение апоптоза и лейкоцитарной инфильтрации [146].

Эндогенным медиатором сигнальных путей ИПК является эритропоэтин. Его образование почкой является необходимым условием для реализации защитного эффекта удалённого прекондиционирования [31, 114]. На данный момент накоплен солидный объём работ, показывающих нефропротекторное действие человеческого рекомбинантного эритропоэтина в различных моделях ОПП, включая нефротоксическое действие циклоспорина [73], цисплатина [38, 59, 103, 106], ишемию/реперфузию [86, 112, 131, 142], рабдомиолиз [143] и экспериментальный сепсис [16, 37, 75, 118, 120]. Интересно отметить, что эритропоэтин способен усиливать нефропротекторное действие мезенхимальных стволовых клеток [15, 20, 34]. На данный момент опубликованы данные трёх клинических испытаний, в которых эритропоэтин использовался для профилактики ОПП при операциях на сердце. Два из них дали положительные результаты [87, 117], в то время как в третьем не удалось обнаружить достоверного эффекта [35].

Заключение

Неизбежным следствием разнообразия этиологии ренальной формы ОПН становятся значительные различия в патогенезе заболевания. Однако окислительный стресс, возникающий на различных этапах каскада патологических событий, в конечном итоге оказывается связующим звеном между различными деструктивными процессами, протекающими в почке при ОПП. С одной стороны, большинство из них могут быть запущены в результате чрезмерного образования АФК, а с другой стороны, они

сами способствуют изменению метаболизма АФК. Таким образом, уменьшение окислительного стресса может прервать цепочку патологических событий.

Ключевую роль в регуляции метаболизма АФК и в определении судьбы клетки играет митохондрия, поэтому антиоксидантные стратегии защиты почки от ОПП должны быть направлены, прежде всего, на неё. В настоящее время уже разработан целый класс митохондриально-направленных соединений, одни из которых нейтрализуют образующиеся в митохондриях АФК, другие через мягкое разобщение дыхания и синтеза АТФ уменьшают вероятность образования оксидантов этими органеллами. Наиболее подробно влияние таких соединений на почечную патологию изучено для митохондриально-направленных соединений семейства SkQ.

Другим многообещающим фармакологическим подходом является ингибирование поры неспецифической проницаемости митохондрии. Открытие такого действия у целого ряда препаратов, уже многие годы использующихся в клинике (соли лития, даларгин, метформин, рекомбинантный эритропоэтин, изофлюран), значительно облегчает внедрение этого подхода в нефрологическую практику.

Наконец, индукция внутренних защитных механизмов при помощи ишемического прекондиционирования конечностей представляет собой очень простой и, по всей видимости, эффективный способ увеличить резистентность митохондрий других органов, включая почку, к окислительному стрессу и предотвратить повреждение этих органов.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского Научного Фонда (грант 14-15-00147)

Литература

1. *Антоненко Ю.Н., Аветисян А.В., Бакеева Л.Е., и др.* Производное пластохинона, адресованное в митохондрии, как средство, прерывающее программу старения. Катионные производные пластохинона: синтез и исследование in vitro. Биохимия. 2008. 73(12):1589-1606.

2. *Зоров Д.Б., Плотников Е.Ю., Янкаускас С.С., и др.* Феноптозная проблема: отчего гибнет орагнизм? Уроки по почечной недостаточности. Биохимия. 2012. 77(7):893-906.

3. *Мухин Н.А.* Нефрология. Национальное руководство. Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2009. 720 с.

4. *Мушкамбаров Н.Н., Кузнецов С.Л.* Молекулярная биология: учебное пособие для студентов медицинских вузов. Москва: ООО «Медицинское информационное агентство», 2007. 536 с.

5. *Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Зорова Л.Д., и др.* Соли лития – простые, но магические Биохимия. 2014. 79(8):932-943.

6. *Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Чупыркина А.А., и др.* Новое поколение Скулачев-ионов, обладающих выраженным нефро- и нейропротекторным действием Биохимия. 2010. 75(2):177-184.

7. *Плотников Е.Ю., Силачев Д.Н., Янкаускас С.С., и др.* Частичное разобщение дыхания и фосфорилирования как один из путей реализации нефро- и нейропротекторного действия проникающих катионов семейства SkQ Биохимия. 2012. 77(9):1240-1250.

8. *Повалий Т.М.* Ультраструктурные изменения в нефроне во время ишемии и «выживание» органа. Бюлл. Эксп. Биол. Мед. 1975. 79(3):118-121.

9. *Скулачев В.П.* Попытка биохимиков атаковать проблему старения: «мегапроект» по проникающим катионам. Первые итоги и перспективы. Биохимия. 2007. 72(12):1572-1586.

10. *Скулачев В.П., Богачев А.В., Каспаринский Ф.О.* Мембранная биоэнергетика. Москва: Издательство Московского Университета, 2010. 367 с.

11. *Янкаускас С.С., Плотников Е.Ю., Моросанова М.А., и др.* Митохондриально-адресованный антиоксидант SkQR1 предотвращает вызванную гентамицином почечную недостаточность и потерю слуха Биохимия. 2012. 77(6):818-823.

12. *Ярилин А.А.* Основы иммунологии. Москва: Медицина, 1999. 608 с.

13. *Ярмагомедов А.А.* Острая почечная недостаточность // Диализный альмонах. Санкт-Петербург: Элби-СПб, 2005. с. 107-135.

14. *Alejandro V.S., Nelson W.J., Huie P., et al.* Postischemic injury, delayed function and Na+/K(+)-ATPase distribution in the transplanted kidney. Kidney Int. 1995. 48(4):1308-1315.

15. *Altun B., Yilmaz R., Aki T., et al.* Use of mesenchymal stem cells and darbepoetin improve ischemia-induced acute kidney injury outcomes. Am. J. Nephrol. 2012. 35(6):531-539.

16. *Aoshiba K., Onizawa S., Tsuji T., et al.* Therapeutic effects of erythropoietin in murine models of endotoxin shock. Crit. Care Med. 2009. 37(3):889-898.

17. *Arduini A., Mezzetti A., Porreca E., et al.* Effect of ischemia and reperfusion on antioxidant enzymes and mitochondrial inner membrane proteins in perfused rat heart. Biochim. Biophys. Acta. 1988. 970(2):113-121.

18. Bao H., Ge Y., Wang Z., et al. Delayed Administration of a Single Dose of Lithium Promotes Recovery from AKI. J. Am. Soc. Nephrol. 2014. 25(3):488-500.

19. *Bernardi P., Krauskopf A., Basso E., et al.* The mitochondrial permeability transition from in vitro artifact to disease target FEBS J. 2006. 273(10):2077-2099.

20. *Bi B., Guo J., Marlier A., et al.* Erythropoietin expands a stromal cell population that can mediate renoprotection. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2008. 295(4):F1017-22.

21. *Birk a. V., Liu S., Soong Y., et al.* The Mitochondrial-Targeted Compound SS-31 Re-Energizes Ischemic Mitochondria by Interacting with Cardiolipin J. Am. Soc. Nephrol. 2013. 24(8):1250-1261.

22. *Candilio L., Malik A., Ariti C., et al.* Effect of remote ischaemic preconditioning on clinical outcomes in patients undergoing cardiac bypass surgery: a randomised controlled clinical trial. Heart. 2015. 101(3):185-192.

23. *Cao C.C., Ding X.Q., Ou Z. Lou, et al.* In vivo transfection of NF-kappaB decoy oligodeoxynucleotides attenuate renal ischemia/reperfusion injury in rats. Kidney Int. 2004. 65(3):834-

845.

24. *Cassina A.M., Hodara R., Souza J.M., et al.* Cytochrome c nitration by peroxynitrite. J. Biol. Chem. 2000. 275(28):21409-21415.

25. *Choi Y.S., Shim J.K., Kim J.C., et al.* Effect of remote ischemic preconditioning on renal dysfunction after complex valvular heart surgery: a randomized controlled trial. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2011. 142(1):148-154.

26. *Coronel I., Arellano-Mendoza M.G., Valle-Mondragon L. del, et al.* L-arginine and antioxidant diet supplementation partially restores nitric oxide-dependent regulation of phenylephrine renal vasoconstriction in diabetics rats. J. Ren. Nutr. 2010. 20(3):158-168.

27. *Cuzzocrea S., Mazzon E., Dugo L., et al.* A role for superoxide in gentamicin-mediated nephropathy in rats Eur. J. Pharmacol. 2002. 450(1):67-76.

28. *Davies K.J., Delsignore M.E.* Protein damage and degradation by oxygen radicals. III. Modification of secondary and tertiary structure. J. Biol. Chem. 1987. 262(20):9908-9913.

29. *Devalaraja-Narashimha K., Diener A.M., Padanilam B.J.* Cyclophilin D gene ablation protects mice from ischemic renal injury. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2009. 297(3):F749-F759.

30. *Dikalov S.* Cross talk between mitochondria and NADPH oxidases Free Radic. Biol. Med. 2011. 51(7):1289-1301.

31. *Diwan V., Jaggi A.S., Singh M., et al.* Possible involvement of erythropoietin in remote renal preconditioning-induced cardioprotection in rats. J. Cardiovasc. Pharmacol. 2008. 51(2):126-130.

32. *Duan S.-B., Yang S.-K., Zhou Q.-Y., et al.* Mitochondria-targeted peptides prevent on contrast-induced acute kidney injury in the rats with hypercholesterolemia. Ren. Fail. 2013. 35(8):1124-1129.

33. *Efrati S., Berman S., Ilgiyeav I., et al.* Differential effects of N-acetylcysteine, theophylline or bicarbonate on contrast-induced rat renal vasoconstriction. Am. J. Nephrol. 2009. 29(3):181-191.

34. *Eliopoulos N., Zhao J., Forner K., et al.* Erythropoietin Gene-enhanced Marrow Mesenchymal Stromal Cells Decrease Cisplatin-induced Kidney Injury and Improve Survival of Allogeneic Mice Mol. Ther. 2011. 19(11):2072-2083.

35. *Endre Z.H., Walker R.J., Pickering J.W., et al.* Early intervention with erythropoietin does not affect the outcome of acute kidney injury (the EARLYARF trial). Kidney Int. 2010. 77(11):1020-1030.

36. *Er F., Nia A.M., Dopp H., et al.* Ischemic preconditioning for prevention of contrast medium-induced nephropathy: randomized pilot RenPro Trial (Renal Protection Trial). Circulation. 2012. 126(3):296-303.

37. *Eren Z., Coban J., Ekinci I.D., et al.* Evaluation of the effects of a high dose of erythropoietin-beta on early endotoxemia using a rat model. Adv. Clin. Exp. Med. 2012. 21(3):321-329.

38. *Eshraghi-Jazi F., Nematbakhsh M., Pezeshki Z., et al.* Sex differences in protective effect of recombinant human erythropoietin against cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. Iran. J. Kidney Dis. 2013. 7(5):383-389.

39. *Garay M., Gaarde W., Monia B.P., et al.* Inhibition of hypoxia/reoxygenation-induced apoptosis by an antisense oligonucleotide targeted to JNK1 in human kidney cells. Biochem. Pharmacol. 2000. 59(9):1033-1043.

40. *Glaumann B., Glaumann H., Berezesky I.K., et al.* Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. II. Morphological changes of the pars convoluta (P1 and P2) of the proximal tubule of the rat kidney made ischemic in vivo. Virchows Arch. B. Cell Pathol. 1975. 19(4):281-302.

41. *Glaumann B., Trump B.F.* Studies on the pathogenesis of ischemic cell injury. III. Morphological changes of the proximal pars recta tubules (P3) of the rat kidney made ischemic in vivo. Virchows Arch. B. Cell Pathol. 1975. 19(4):303-323.

42. *Gogvadze V., Orrenius S., Zhivotovsky B.* Multiple pathways of cytochrome c release from mitochondria in apoptosis Biochim. Biophys. Acta – Bioenerg. 2006. 1757(5-6):639-647.

43. *Golenhofen N., Doctor R.B., Bacallao R., et al.* Actin and villin compartmentation during ATP depletion and recovery in renal cultured cells. Kidney Int. 1995. 48(6):1837-1845.

44. *Greef K.E. De, Ysebaert D.K., Dauwe S., et al.* Anti-B7-1 blocks mononuclear cell adherence in vasa recta after ischemia Kidney Int. 2001. 60(4):1415-1427.

45. *Ham A., Kim M., Kim J.Y., et al.* Critical role of interleukin-11 in isoflurane-mediated protection against ischemic acute kidney injury in mice. Anesthesiology. 2013. 119(6):1389-1401.

46. *Igarashi G., Iino K., Watanabe H., et al.* Remote ischemic pre-conditioning alleviates contrast-induced acute kidney injury in patients with moderate chronic kidney disease. Circ. J. 2013. 77(12):3037-3044.

47. *Ishibashi N., Weisbrot-Lefkowitz M., Reuhl K., et al.* Modulation of chemokine expression during ischemia/reperfusion in transgenic mice overproducing human glutathione peroxidases. J. Immunol. 1999. 163(10):5666-5677.

48. *Jassem W., Ciarimboli C., Cerioni P.N., et al.* Glyoxalase II and glutathione levels in rat liver mitochondria during cold storage in Euro-Collins and University of Wisconsin solutions. Transplantation. 1996. 61(9):1416-1420.

49. *Jia P., Teng J., Zou J., et al.* Intermittent exposure to xenon protects against gentamicin-induced nephrotoxicity. PLoS One. 2013. 8(5):e64329.

50. *Jiang J., Kurnikov I., Belikova N. A, et al.* Structural requirements for optimized delivery, inhibition of oxidative stress, and antiapoptotic activity of targeted nitroxides. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2007. 320(3):1050-1060.

51. *Jones D.B.* Ultrastructure of human acute renal failure. Lab. Invest. 1982. 46(3):254-264.

52. *Joza N., Pospisilik J.A., Hangen E., et al.* AIF: Not just an apoptosis-inducing factor Ann. N. Y. Acad. Sci. 2009. 11712-11.

53. *Juhaszova M., Zorov D.B., Kim S.-H., et al.* Glycogen synthase kinase-3beta mediates convergence of protection signaling to inhibit the mitochondrial permeability transition pore. J. Clin. Invest. 2004. 113(11):1535-1549.

54. *Juhaszova M., Zorov D.B., Yaniv Y., et al.* Role of glycogen synthase kinase-3β in cardioprotection Circ. Res. 2009. 104(11):1240-1252.

55. *Kellerman P.S., Clark R. A, Hoilien C. A, et al.* Role of microfilaments in maintenance of proximal tubule structural and functional integrity. Am. J. Physiol. 1990. 259(2 Pt 2):F279-F285.

56. *Khajuria A., Tay C., Shi J., et al.* Anesthetics attenuate ischemia-reperfusion induced renal injury: Effects and mechanisms Acta Anaesthesiol. Taiwanica. 2014. 52(4):176-184.

57. *Kim J., Jang H.-S., Park K.M.* Reactive oxygen species generated by renal ischemia and reperfusion trigger protection against subsequent renal ischemia and reperfusion injury in mice. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2010. 298(1):F158-F166.

58. *Kim M., Ham A., Kim J.Y., et al.* The volatile anesthetic isoflurane induces ecto-5'-nucleotidase (CD73) to protect against renal ischemia and reperfusion injury. Kidney Int. 2013. 84(1):90-103.

59. *Kong D., Zhuo L., Gao C., et al.* Erythropoietin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity by attenuating endoplasmic reticulum stress-induced apoptosis. J. Nephrol. 2013. 26(1):219-227.

60. *Korshunov S.S., Skulachev V.P., Starkov A.A.* High protonic potential actuates a mechanism of production of reactive oxygen species in mitochondria FEBS Lett. 1997. 416(1):15-18.

61. *Koyner J.L., Sher Ali R., Murray P.T.* Antioxidants: Do they have a place in the prevention or therapy of acute kidney injury? Nephron - Exp. Nephrol. 2008. 109(4):109-118.

62. *Kupatt C., Weber C., Wolf D.A., et al.* Nitric oxide attenuates reoxygenation-induced ICAM-1 expression in coronary microvascular endothelium: role of NFkappaB. J. Mol. Cell. Cardiol. 1997. 29(10):2599-2609.

63. *Kwon O., Corrigan G., Myers B.D., et al.* Sodium reabsorption and distribution of Na+/K+-ATPase during postischemic injury to the renal allograft Kidney Int. 1999. 55(3):963-975.

64. *Laderoute K.R., Webster K.* Hypoxia/reoxygenation stimulates Jun kinase activity through redox signaling in cardiac myocytes. Circ. Res. 1997. 80(3):336–344.

65. *Lameire N.* The pathophysiology of acute renal failure Crit. Care Clin. 2005. 21(2):197-210.

66. *Lee H.T., Emala C.W.* Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment : role of A 1 and A 3 receptors Am. J. Physiol. Ren. Physiol. 2000. 278(3):F380-F387.

67. *Lemoine S., Pillot B., Rognant N., et al.* Postconditioning With Cyclosporine A Reduces Early Renal Dysfunction by Inhibiting Mitochondrial Permeability Transition. Transplantation. 2015. 99(4):717-723.

68. *Li C., Jackson R.M.* Reactive species mechanisms of cellular hypoxia-reoxygenation injury. Am. J. Physiol. Cell Physiol. 2002. 282(2):C227-C241.

69. *Liu S., Soong Y., Seshan S. V, et al.* Novel cardiolipin therapeutic protects endothelial mitochondria during renal ischemia and mitigates microvascular rarefaction, inflammation, and fibrosis. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2014. 306(9):F970-F980.

70. *Lochhead K.M., Kharasch E.D., Zager R.A.* Anesthetic effects on the glycerol model of rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. J. Am. Soc. Nephrol. 1998. 9(2):305-309.

71. *Lowes D. A., Webster N.R., Murphy M.P., et al.* Antioxidants that protect mitochondria reduce interleukin-6 and oxidative stress, improve mitochondrial function, and reduce biochemical markers of organ dysfunction in a rat model of acute sepsis Br. J. Anaesth. 2013. 110(3):472-480.

72. *Ma D., Lim T., Xu J., et al.* Xenon preconditioning protects against renal ischemic-reperfusion injury via HIF-1alpha activation. J. Am. Soc. Nephrol. 2009. 20(4):713-720.

73. *Meerwein C., Korom S., Arni S., et al.* The effect of low-dose Continuous Erythropoietin receptor activator in an experimental model of acute Cyclosporine A induced renal injury. Eur. J. Pharmacol. 2011. 671(1-3):113-119.

74. *Mitchell T., Rotaru D., Saba H., et al.* The mitochondria-targeted antioxidant mitoquinone protects against cold storage injury of renal tubular cells and rat kidneys. J. Pharmacol. Exp. Ther. 2011. 336(3):682-692.

75. *Mitra A., Bansal S., Wang W., et al.* Erythropoietin ameliorates renal dysfunction during endotoxaemia. Nephrol. Dial. Transplant. 2007. 22(8):2349-2353.

76. *Miyazawa S., Watanabe H., Miyaji C., et al.* Leukocyte accumulation and changes in extra-renal organs during renal ischemia reperfusion in mice. J. Lab. Clin. Med. 2002. 139(5):269-278.

77. *Mizuguchi Y., Chen J., Seshan S. V, et al.* A novel cell-permeable antioxidant peptide decreases renal tubular apoptosis and damage in unilateral ureteral obstruction. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2008. 295(5):F1545-53.

78. *Molitoris B.A., Chan L.K., Shapiro J.I., et al.* Loss of epithelial polarity: a novel hypothesis for reduced proximal tubule Na+ transport following ischemic injury. J. Membr. Biol. 1989. 107(2):119-127.

79. *Molitoris B.A., Falk S.A., Dahl R.H.* Ischemia-induced loss of epithelial polarity. Role of the tight junction. J. Clin. Invest. 1989. 84(4):1334-1339.

80. *Molitoris B.A., Hoilien C.A., Dahl R., et al.* Characterization of ischemia-induced loss of epithelial polarity. J. Membr. Biol. 1988. 106(3):233-242.

81. *Morales A.I., Detaille D., Prieto M., et al.* Metformin prevents experimental gentamicin-induced nephropathy by a mitochondria-dependent pathway. Kidney Int. 2010. 77(10):861-869.

82. *Mukhopadhyay P., Horváth B., Zsengellér Z., et al.* Mitochondrial-targeted antioxidants represent a promising approach for prevention of cisplatin-induced nephropathy Free Radic. Biol. Med. 2012. 52(2):497-506.

83. *Murphy M.P.* How mitochondria produce reactive oxygen species. Biochem. J. 2009. 417(1):1-13.

84. *Murry C.E., Jennings R.B., Reimer K.A.* Preconditioning with ischemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium. Circulation. 1986. 74(5):1124-1136.

85. *Nakagawa T., Shimizu S., Watanabe T., et al.* Cyclophilin D-dependent mitochondrial permeability transition regulates some necrotic but not apoptotic cell death. Nature. 2005. 434(7033):652-658.

86. *Nemoto T., Yokota N., Keane W.F., et al.* Recombinant erythropoietin rapidly treats anemia in ischemic acute renal failure Kidney Int. 2001. 59(1):246-251.

87. *Oh S.W., Chin H.J., Chae D.W., et al.* Erythropoietin improves long-term outcomes in patients with acute kidney injury after coronary artery bypass grafting. J. Korean Med. Sci. 2012. 27(5):506-511.

88. *Olof P., Hellberg A., Kallskog O., et al.* Red cell trapping and postischemic renal blood flow. Differences between the cortex, outer and inner medulla. Kidney Int. 1991. 40(4):625-631.

89. *Park K.M., Chen A., Bonventre J. V.* Prevention of Kidney Ischemia/Reperfusion-induced Functional Injury and JNK, p38, and MAPK Kinase Activation by Remote Ischemic Pretreatment J. Biol. Chem. 2001. 276(15):11870-11876.

90. *Patil N.K., Parajuli N., MacMillan-Crow L.A., et al.* Inactivation of renal mitochondrial respiratory complexes and

manganese superoxide dismutase during sepsis: mitochondria-targeted antioxidant mitigates injury. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2014. 306(7):F734-743.

91. *Pedersen K.R., Ravn H.B., Povlsen J.V., et al.* Failure of remote ischemic preconditioning to reduce the risk of postoperative acute kidney injury in children undergoing operation for complex congenital heart disease: a randomized single-center study. J. Thorac. Cardiovasc. Surg. 2012. 143(3):576-583.

92. *Plotnikov E.Y., Chupyrkina A. A., Jankauskas S.S., et al.* Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis. 2011. 1812(1):77-86.

93. *Plotnikov E.Y., Chupyrkina A. A., Pevzner I.B., et al.* Myoglobin causes oxidative stress, increase of NO production and dysfunction of kidney's mitochondria Biochim. Biophys. Acta - Mol. Basis Dis. 2009. 1792(8):796-803.

94. *Plotnikov E.Y., Grebenchikov O. A., Babenko V. A., et al.* Nephroprotective effect of GSK-3β inhibition by lithium ions and δ-opioid receptor agonist dalargin on gentamicin-induced nephrotoxicity Toxicol. Lett. 2013. 220(3):303-308.

95. *Plotnikov E.Y., Kazachenko a V, Vyssokikh M.Y., et al.* The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reperfusion in the rat kidney. Kidney Int. 2007. 72(12):1493-1502.

96. *Plotnikov E.Y., Morosanova M. A, Pevzner I.B., et al.* Protective effect of mitochondria-targeted antioxidants in an acute bacterial infection. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2013. 110(33):E3100-8.

97. *Price V.R.* ATP Depletion Of Tubular Cells Causes Dissociation of the Zonula Adherens and Nuclear Translocation of beta-Catenin and LEF-1 J. Am. Soc. Nephrol. 2002. 13(5):1152–1161.

98. *Pryor W.A., Squadrito G.L.* The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide. Am. J. Physiol. 1995. 268(5 Pt 1):L699-722.

99. *Qiao X., Chen X., Wu D., et al.* Mitochondrial pathway is responsible for aging-related increase of tubular cell apoptosis in renal ischemia/reperfusion injury. J. Gerontol. A. Biol. Sci. Med. Sci. 2005. 60(7):830-839.

100. *Raman N., Atkinson S.J.* Rho controls actin cytoskeletal assembly in renal epithelial cells during ATP depletion and recovery. Am. J. Physiol. 1999. 276(6 Pt 1):C1312-C1324.

101. *Ramsey H., Wu M.X.* Mitochondrial anti-oxidant protects IEX-1 deficient mice from organ damage during endotoxemia Int. Immunopharmacol. 2014. 23(2):658-663.

102. *Ravagnan L., Roumier T., Kroemer G.* Mitochondria, the killer organelles and their weapons J. Cell. Physiol. 2002. 192(2):131-137.

103. *Rjiba-Touati K., Boussema I.A., Belarbia A., et al.* Protective effect of recombinant human erythropoietin against cisplatin-induced oxidative stress and nephrotoxicity in rat kidney. Int. J. Toxicol. 2011. 30(5):510-517.

104. *Rouslin W.* Mitochondrial complexes I, II, III, IV, and V in myocardial ischemia and autolysis. Am. J. Physiol. 1983. 244(6):H743-H748.

105. *Sahu B.D., Kuncha M., Putcha U.K., et al.* Effect of metformin against cisplatin induced acute renal injury in rats: A biochemical and histoarchitectural evaluation Exp. Toxicol. Pathol. 2013. 65(6):933-940.

106. *Salahudeen A.K., Haider N., Jenkins J., et al.* Antiapoptotic properties of erythropoiesis-stimulating proteins in models of cisplatin-induced acute kidney injury. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2008. 294(6):F1354-F1365.

107. *Scaduto R.C.J., Gattone V.H. 2nd, Grotyohann L.W., et al.* Effect of an altered glutathione content on renal ischemic injury. Am. J. Physiol. 1988. 255(5 Pt 2):F911-F921.

108. Schrier R., Wang W. Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy J. Clin. Invest. 2004. 114(1):5-14.

109. *Sedaghat Z., Kadkhodaee M., Seifi B., et al.* Remote preconditioning reduces oxidative stress, downregulates cyclooxygenase-2 expression and attenuates ischaemia-reperfusion-induced acute kidney injury. Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2013. 40(2):97-103.

110. *Seo-Mayer P.W., Thulin G., Zhang L., et al.* Preactivation of AMPK by metformin may ameliorate the epithelial cell damage caused by renal ischemia AJP Ren. Physiol. 2011. 301(6):F1346-F1357.

111. *Sharpe M.A., Cooper C.E.* Interaction of peroxynitrite with mitochondrial cytochrome oxidase. Catalytic production of nitric oxide and irreversible inhibition of enzyme activity. J. Biol. Chem. 1998. 273(47):30961-30972.

112. *Sharples E.J., Patel N., Brown P., et al.* Erythropoietin protects the kidney against the injury and dysfunction caused by ischemia-reperfusion. J. Am. Soc. Nephrol. 2004. 15(8):2115-2124.

113. *Shlafer M., Myers C.L., Adkins S.* Mitochondrial hydrogen peroxide generation and activities of glutathione peroxidase and superoxide dismutase following global ischemia. J. Mol. Cell. Cardiol. 1987. 19(12):1195-1206.

114. *Silachev D.N., Isaev N.K., Pevzner I.B., et al.* The mitochondria-targeted antioxidants and remote kidney preconditioning ameliorate brain damage through kidney-to-brain cross-talk. PLoS One. 2012. 7(12):e51553.

115. *Singh D., Chander V., Chopra K.* Cyclosporine protects against ischemia/reperfusion injury in rat kidneys Toxicology. 2005. 207(3):339-347.

116. *Singh P., Okusa M.D.* The role of tubuloglomerular feedback in the pathogenesis of acute kidney injury. Contrib. Nephrol. 2011. 174(1):12-21.

117. *Song Y.R., Lee T., You S.J., et al.* Prevention of acute kidney injury by erythropoietin in patients undergoing coronary artery bypass grafting: a pilot study. Am. J. Nephrol. 2009. 30(3):253-260.

118. *Souza A.C.C.P. de, Volpini R.A., Shimizu M.H., et al.* Erythropoietin prevents sepsis-related acute kidney injury in rats by inhibiting NF-kappaB and upregulating endothelial nitric oxide synthase. Am. J. Physiol. Renal Physiol. 2012. 302(8):F1045-54.

119. *Sterenborg T.B., Menting T.P., Waal Y. de, et al.* Remote ischemic preconditioning to reduce contrast-induced nephropathy: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2014. 15(1):119.

120. *Stoyanoff T.R., Todaro J.S., Aguirre M. V, et al.* Amelioration of lipopolysaccharide-induced acute kidney injury by erythropoietin: involvement of mitochondria-regulated apoptosis. Toxicology. 2014. 318(1):13-21.

121. *St-Pierre J., Brand M.D., Boutilier R.G.* Mitochondria as ATP consumers: cellular treason in anoxia. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 2000. 97(15):8670-8674.

122. *Su M.W., Chang S.S., Chen C.H., et al.* Preconditioning renoprotective effect of isoflurane in a rat model of virtual renal transplant J. Surg. Res. 2014. 189(1):135-142.

123. *Szeto H.H.* Mitochondria-targeted peptide antioxidants: novel neuroprotective agents. AAPS J. 2006. 8(3):E521-E531.

124. *Szeto H.H., Liu S., Soong Y., et al.* Mitochondria-targeted peptide accelerates ATP recovery and reduces ischemic kidney injury. J. Am. Soc. Nephrol. 2011. 22(6):1041-1052.

125. *Talab S.S., Elmi A., Emami H., et al.* Protective effects of acute lithium preconditioning against renal ischemia/reperfusion injury in rat: Role of nitric oxide and cyclooxygenase systems Eur. J. Pharmacol. 2012. 681(1-3):94-99.

126. *Thadhani R., Pascual M., Bonventre J. V.* Acute renal failure. N. Engl. J. Med. 1996. 334(22):1448-1460.

127. *Thomas C.C., Bakris G.* Metformin nephrotoxicity insights: Will they change clinical management? J. Diabetes. 2014. 6(2):111-112.

128. *Thomsen K., Olesen O. V.* Lithium-induced acute renal failure in the rat. Toxicol. Appl. Pharmacol. 1978. 45(1):155-161.

129. *Vecchio S., Giampreti A., Petrolini V.M., et al.* Metformin accumulation: lactic acidosis and high plasmatic metformin levels in a retrospective case series of 66 patients on chronic therapy. Clin. Toxicol. (Phila). 2014. 52(2):129-135.

130. *Venugopal V., Laing C.M., Ludman A., et al.* Effect of remote ischemic preconditioning on acute kidney injury in nondiabetic patients undergoing coronary artery bypass graft surgery: a secondary analysis of 2 small randomized trials. Am. J. Kidney Dis. 2010. 56(6):1043-1049.

131. *Vesey D. A., Cheung C., Pat B., et al.* Erythropoietin protects against ischaemic acute renal injury Nephrol. Dial. Transplant. 2004. 19(2):348-355.

132. *Vogt M.T., Farber E.* On the molecular pathology of ischemic renal cell death. Reversible and irreversible cellular and mitochondrial metabolic alterations. Am. J. Pathol. 1968. 53(1):1-26.

133. *Walker P.D., Shah S. V.* Gentamicin enhanced production of hydrogen peroxide by renal cortical mitochondria. Am. J. Physiol. 1987. 253(4 Pt 1):C495-C499.

134. *Walker P.D., Shah S. V.* Evidence suggesting a role for hydroxyl radical in gentamicin-induced acute renal failure in rats. J. Clin. Invest. 1988. 81(2):334-341.

135. *Wang W., Tang T., Zhang P., et al.* Postconditioning Attenuates Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Preventing DAF Down-Regulation J. Urol. 2010. 183(6):2424-2431.

136. *Wang Y., Huang W.C., Wang C.Y., et al.* Inhibiting glycogen synthase kinase-3 reduces endotoxaemic acute renal failure by down-regulating inflammation and renal cell apoptosis Br. J. Pharmacol. 2009. 157(6):1004-1013.

137. *Wangsiripaisan A., Gengaro P.E., Edelstein C.L., et al.* Role of polymeric Tamm-Horsfall protein in cast formation: Oligosaccharide and tubular fluid ions Kidney Int. 2001. 59(3):932-940.

138. *Weng X., Shen H., Kuang Y., et al.* Ischemic postconditioning inhibits the renal fibrosis induced by ischemia-reperfusion injury in rats. Urology. 2012. 80(2):484.e1-7.

139. *Wilson D.R., Arnold P.E., Burke T.J., et al.* Mitochondrial calcium accumulation and respiration in ischemic acute renal failure in the rat. Kidney Int. 1984. 25(3):519-526.

140. *Wipf P., Xiao J., Jiang J., et al.* Mitochondrial targeting of selective electron scavengers: synthesis and biological analysis of hemigramicidin-TEMPO conjugates. J. Am. Chem. Soc. 2005. 127(36):12460-12461.

141. *Wu J., Feng X., Huang H., et al.* Remote ischemic conditioning enhanced the early recovery of renal function in recipients after kidney transplantation: a randomized controlled trial. J. Surg. Res. 2014. 188(1):303-308.

142. *Yang C.W., Li C., Jung J.Y., et al.* Preconditioning with erythropoietin protects against subsequent ischemia-reperfusion injury in rat kidney. FASEB J. 2003. 17(12):1754-1755.

143. *Yang F.-L., Subeq Y.-M., Chiu Y.-H., et al.* Recombinant human erythropoietin reduces rhabdomyolysis-induced acute renal failure in rats. Injury. 2012. 43(3):367-373.

144. *Young P.J., Dalley P., Garden A., et al.* A pilot study investigating the effects of remote ischemic preconditioning in high-risk cardiac surgery using a randomised controlled double-blind protocol. Basic Res. Cardiol. 2012. 107(3):256.

145. *Ysebaert D.K., Greef K.E. De, Vercauteren S.R., et al.* Identification and kinetics of leukocytes after severe ischaemia/reperfusion renal injury. Nephrol. Dial. Transplant. 2000. 15(10):1562-1574.

146. *Zhang Y.-J., Zhang A.-Q., Zhao X.-X., et al.* Nicorandil protects against ischaemia-reperfusion injury in newborn rat kidney. Pharmacology. 2013. 92(5-6):245-256.

147. *Zhao H., Yoshida A., Xiao W., et al.* Xenon treatment attenuates early renal allograft injury associated with prolonged hypothermic storage in rats. FASEB J. Off. Publ. Fed. Am. Soc. Exp. Biol. 2013. 27(10):4076-4088.

148. *Zimmerman R.F., Ezeanuna P.U., Kane J.C., et al.* Ischemic preconditioning at a remote site prevents acute kidney injury in patients following cardiac surgery. Kidney Int. 2011. 80(8):861-867.

149. *Zorov D.B., Filburn C.R., Klotz L.O., et al.* Reactive oxygen species (ROS)-induced ROS release: a new phenomenon accompanying induction of the mitochondrial permeability transition in cardiac myocytes. J. Exp. Med. 2000. 192(7):1001-1014.

150. *Zorov D.B., Juhaszova M., Sollott S.J.* Mitochondrial Reactive Oxygen Species (ROS) and ROS-Induced ROS Release. Physiol. Rev. 2014. 94(3):909-950.

Дата получения статьи: 17.04.2015

Дата принятия к печати: 27.05.2015