

# Использование высокочастотной ультразвуковой доплеровской техники для исследования почечного кровотока при ишемии/реперфузии почки

С.С. Янкаускас<sup>1,2</sup>, Д.Д. Мацевский<sup>3</sup>, Е.Ю. Плотников<sup>2,4</sup>, Д.Б. Зоров<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Факультет биоинженерии и биоинформатики МГУ им. М.В. Ломоносова

<sup>2</sup> НИИ митоинженерии МГУ

<sup>3</sup> НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, Москва

<sup>4</sup> НИИ ФХБ имени А.Н. Белозерского МГУ

## High-frequency ultrasound Doppler system for study of renal blood flow during ischemia/reperfusion of kidney

S.S. Jankauskas<sup>1,2</sup>, D.D. Matsievsky<sup>3</sup>, E.Y. Plotnikov<sup>2,4</sup>, D.B. Zorov<sup>2,4</sup>

<sup>1</sup> Faculty of Bioengineering and Bioinformatics, Lomonosov Moscow State University

<sup>2</sup> Research Institute of Mitoengineering, Lomonosov Moscow State University

<sup>3</sup> Institute of General Pathology and Pathophysiology, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow

<sup>4</sup> Belozersky Institute of Physico-Chemical Biology, Lomonosov Moscow State University

**Ключевые слова:** ишемия, почка, гемодинамика, линейная и объемная скорость кровотока, кровеносные сосуды, окислительный стресс.

Ишемическое повреждение почки является ведущей причиной в этиологии острой почечной недостаточности (ОПН). Используя высокочастотную ультразвуковую доплеровскую технику, мы исследовали состояние центральной и почечной гемодинамики после 40-минутной ишемии и реперфузии (И/Р) почки крысы. Через 1 мин после И/Р наблюдалось значительное уменьшение общего почечного кровотока (на 70% по сравнению со значениями до И/Р), уменьшение конечной диастолической скорости кровотока по почечной артерии (на 67% по сравнению со значениями до И/Р), увеличение индекса резистивности почечной артерии (0,76 до И/Р; 0,92 после И/Р). Эти изменения сохранялись в течение, по крайней мере, 30 мин. В то же время изменения параметров кровотока по брюшной аорте после И/Р были незначительными. Ишемическое preconditioning почки (4 цикла по 5 мин ишемии и 5 мин реперфузии) полностью предотвращало изменения почечной гемодинамики, вызванные 40-мин И/Р. Исследование венозного оттока показало высокую чувствительность почечного кровотока к коротким периодам ишемии.

Ischemic injury of the kidney is the leading cause of acute kidney failure (AKF). Using high frequency Doppler technique we explored the central and renal hemodynamics after 40-min ischemia followed by reperfusion (I/R) of the rat kidney. One minute after I/R an essential drop of a total renal blood flow (70% of pre-ischemic values), lowering of the terminal diastolic blood flow rate (67% of pre-ischemic values) and rise of the renal artery resistance index (0,76 before I/R and 0,92 after I/R) were observed. These changes were retained for at least 30 min. At the same time, the changes of the blood flow indexes in abdominal aorta were not significant. Ischemic preconditioning of the kidney (4 cycles of 5-min ischemia followed by 5-min reperfusion each) totally prevented the changes of hemodynamics caused by 40-min I/R. The study of venous output showed very high sensitivity of a renal blood flow to short-term episodes of ischemia.

**Key words:** ischemia, kidney, hemodynamics, linear and volume velocity of blood flow, blood vessels, oxidative stress. линейная и объемная скорость кровотока.

### Принятые сокращения

ОПН – острая почечная недостаточность; АФК – активные формы кислорода, И/Р – ишемия/реперфузия, ЧСС – частота сердечных сокращений.

### Введение

Различные нарушения кровоснабжения почки вносят значительный вклад в структуру почечных заболеваний. В частности, от 55 до 75% случаев острой почечной

Адрес для переписки: 119991, Москва, ГСП-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 73, к. 634. Плотников Е.Ю.

Тел./факс: (495) 939-31-81

E-mail: plotnikov@genebee.msu.ru

недостаточности (ОПН) обусловлены ишемическим повреждением органа [1, 17]. Острый период ишемии, как правило, вызывается шоками различной природы (кардиогенным, гиповолемическим, септическим), реже – вазоконстрикторным действием ряда препаратов (циклоспорин А, радиококонтрастные вещества, ингибиторы ангиотензин-превращающего фермента) [1, 5, 33, 34]. Почечная недостаточность возникает при нарушении перфузии органа из-за падения давления в капиллярах клубочка. Если длительность ишемии существенная, после восстановления кровотока скорость клубочковой фильтрации не нормализуется. Это связано с тем, что ишемия и последующая реперфузия (И/Р) запускают ряд патологических событий, приводящих к дисфункции канальцевого аппарата и эндотелия сосудов почки. Таким образом, острый период тотальной ишемии органа становится причиной нарушений внутриорганной гемодинамики и длительной ишемии или гипоксии отдельных регионов почки, о чем свидетельствует обнаружение при биопсии свежих очагов некроза даже через 4 недели после возникновения первых клинических признаков ОПН [32].

При моделировании ишемической ОПН на животных уменьшение общего почечного кровотока наблюдается уже через 60 минут после начала реперфузии и сохраняется на протяжении нескольких суток [13, 23]. Изучение влияния И/Р на почечную гемодинамику исследуется в основном при помощи лазерной доплерографии. Используя этот метод, ряд авторов зарегистрировали падение скоростных показателей кровотока как в корковом, так и в мозговом слое почки после И/Р [7, 15]. В другом исследовании снижение скоростей отмечено было лишь в мозговом слое [28]. Еще в одном исследовании Olof и соавт. наблюдали различную динамику восстановления кровотока в наружной и внутренней зоне мозгового вещества [24]. Наконец, в исследовании, проведенном в Гетебургском университете, не было обнаружено статистически значимых изменений почечного кровотока после И/Р ни в одном из регионов органа [22].

Причины данных расхождений в какой-то степени могут быть объяснены методическими различиями. К тому же метод лазерной доплерографии имеет ряд недостатков, одним из которых является отсутствие возможности для точных количественных измерений линейной и объемной скорости кровотока. Этими возможностями обладает ультразвуковой метод. К тому же в случае применения ультразвука высокой частоты возможна и регистрация микроциркуляции почки [2–4].

Учитывая это, целью данного исследования было изучить возможность применения ультразвуковой доплеровской техники для изучения системной и почечной гемодинамики при экспериментальной И/Р почки у крыс.

### Методы

В данной работе использовалась высокочастотная ультразвуковая доплеровская техника, работающая на частоте 27 МГц, разработанная в биоинженерной лаборатории НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН. Измерение кровотока выполняли датчиками бандажного типа с внутренним диаметром 1,5–2 мм,

прокалиброванными в единицах объемной скорости кровотока [2–4].

Эксперименты проводили на самцах белых беспородных крыс весом 250–450 г. В качестве наркоза использовали хлоралгидрат (300 мг/кг, в/б). Наркотизированное животное помещали на подогреваемый столик для поддержания нормотермии в течение всего эксперимента. Доступ к брюшной полости осуществляли посредством срединной лапаротомии. Сосудистый пучок левой почки освобождали от прилежащей жировой ткани, затем почечную артерию аккуратно отделяли от почечной вены. На артерию накладывали доплеровский датчик бандажного типа, после чего выделяли участок брюшной аорты, на который проксимальнее места отхождения почечных артерий также накладывали датчик бандажного типа.

После стабилизации скорости кровотока сосудистый пучок левой почки пережимался атравматическими микрозажимами на 40 мин. Микрозажимы накладывались дистальнее местоположения датчика одновременно на почечную артерию и вену. По истечении срока ишемии сосудистый пучок освобождали от микрозажимов, и начинался период реперфузии. Регистрацию гемодинамических параметров осуществляли в течение первых 60 с реперфузии и далее через каждые 5 минут. На 30-й мин эксперимент заканчивали. Животных подвергали гуманной эвтаназии путем передозировки хлоралгидрата.

В течение эксперимента осуществляли регистрацию линейной (V) и объемной (Q) скорости кровотока. Оцифровку данных, поступающих от ультразвукового прибора, проводили при помощи компьютерной программы «Graph2Digit». Анализ состояния кровотока осуществляли на основании следующих параметров:

- пиковая систолическая скорость кровотока ( $V_{max}$ , см/с);
- конечная диастолическая скорость кровотока ( $V_{min}$ , см/с);
- объемная скорость кровотока (Q, мл/мин);
- индекс резистивности (RI):  $RI = (V_{max} - V_{min}) / V_{max}$ ;
- частота сердечных сокращений (ЧСС, уд/мин).

Статистическая обработка результатов проводилась при помощи программы «Excel». Результаты выражали как среднее ± стандартная ошибка измерения. Для оценки статистической значимости различий использовали t-критерий при уровне значимости  $p < 0,05$ .

### Результаты

В нашей предыдущей работе было показано, что 40-минутное пережатие почечной артерии левой почки при одновременной правой нефрэктомии приводило к развитию у животного ярко выраженной почечной недостаточности [26]. При этом креатинин и мочевины крови на вторые сутки после операции увеличивались в 4,3 и 5,6 раза соответственно по сравнению с ложнооперированными животными (с  $60,8 \pm 2,0$  до  $257,2 \pm 19,9$  мкМ для креатинина и с  $9,02 \pm 0,68$  до  $50,74 \pm 6,78$  мМ для мочевины). Гистологическая картина почки, подвергшейся ишемии и реперфузии, включала четкие патологические изменения, характерные для ренальной ОПН: потерю щеточной каемки, гидропическую дистрофию и некроз тубулярного эпителия, расширение канальцев в проксимальных отделах

нефрона и обструкцию их просвета гиалиновыми цилиндрами в дистальных отделах. В течение первых четырех суток после операции наблюдалась умеренная гибель животных [26].

Высокочастотная доплеровская техника, использованная в нашей работе, обладала системой многоканальной регистрации параметров. Это позволило параллельно использовать два датчика и наблюдать изменения гемодинамики одновременно в двух различных сосудах. В данной работе мы фиксировали один датчик на брюшной аорте для наблюдения за состоянием системной гемодинамики, а второй датчик – на левой почечной артерии для исследования динамики почечного кровотока. Пример записи измерений представлен на рис. 1.

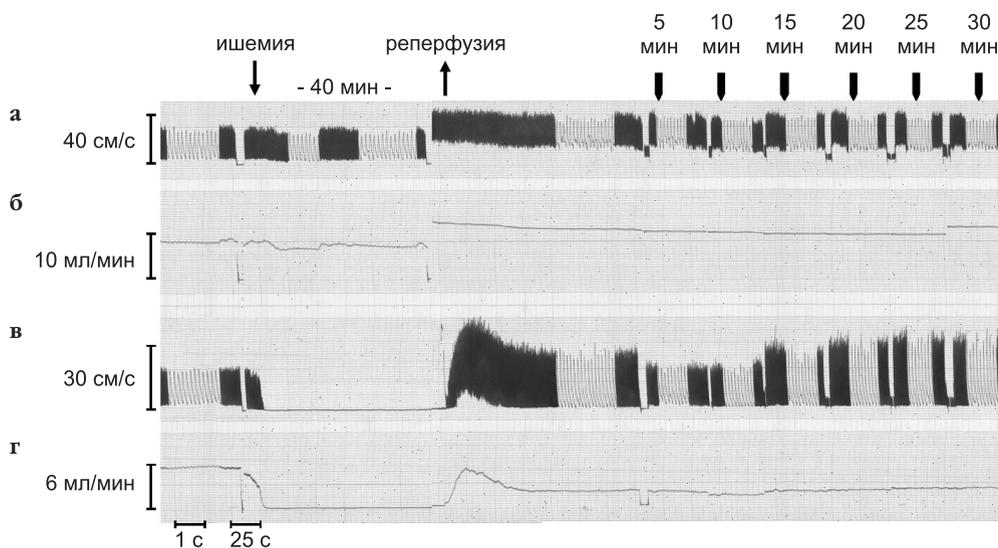
По ходу эксперимента были зафиксированы значительные изменения системной гемодинамики. В начале 40-минутного периода ишемии почки наблюдалось уменьшение объемной скорости кровотока по брюшной аорте на 11%, а в конце периода ишемии увеличение параметра на 19% по сравнению с предъишемическими значениями. В течение первой минуты реперфузии почки продолжался рост объемной скорости кровотока в аорте, который достигал 134% от контрольного значения. В дальнейшем в течение всего наблюдаемого периода реперфузии (30 мин) кровотока в основном сохранялся на этом уровне лишь с незначительными отклонениями. В течение всего эксперимента форма спектра аортального кровотока значимо не менялась. Индекс резистивности брюшной аорты не изменялся на протяжении ишемии (0,83 до ишемии, 0,85 во время ишемии) и снижался во время реперфузии (0,57 на 10-й минуте и 0,63 на 30-й минуте реперфузии). Статистически значимых изменений частоты сердечных сокращений не было отмечено (табл.).

В то же время ишемия почки приводила к значительным изменениям скоростных показателей кровотока по почечной артерии. Во время пережатия почечной артерии движения крови по сосуду не обнаруживалось. Сразу после снятия зажимов у части животных наблю-

далась выраженная реактивная гиперемия, которая, однако, оказывалась кратковременной – не более 20 с. Через 60 с реперфузии у всех животных почечный кровоток был значительно снижен: объемная скорость составляла лишь 30% от предъишемического уровня. Измерение этого параметра на 5, 10, 15 и 20-й минуте реперфузии показало, что кровенаполнение почки остается таким же низким (34, 33, 33 и 37% соответственно). Лишь на 25-й минуте было выявлено некоторое улучшение кровотока (42%), которое сохранялось до конца наблюдаемого периода (30 мин) (табл.).

После 40-минутной ишемии почки резко и разнонаправленно изменились линейные скорости кровотока. Пиковая систолическая скорость кровотока по почечной артерии к 1-й минуте реперфузии практически не менялась (92%), однако затем снизилась на 5-й минуте до 70% от контрольного уровня. После 15 минут реперфузии стала наблюдаться нормализация этого параметра, достигшего к 25-й минуте предъишемических значений (106%). В то же время конечная диастолическая скорость кровотока оказалась резко снижена уже на 1-й минуте реперфузии (33%). Вплоть до 20-й минуты не наблюдалось каких-либо значимых улучшений параметра. На 20-й минуте была отмечена тенденция его увеличения, достигшего максимума на 25-й минуте (58%). В целом в результате ишемии органа спектр кровотока по левой почечной артерии изменился и характеризовался как высокорезистивный. Индекс резистивности увеличился с 0,76 (до ишемии) до 0,92 (на 1-й минуте реперфузии) и оставался на этом уровне на протяжении всего периода реперфузии (табл.).

Ишемическое прекондиционирование почки (4 цикла по 5 мин ишемии и 5 минут реперфузии каждый непосредственно перед 40-минутной ишемией) в значительной мере предотвращало описанные изменения почечной гемодинамики (рис. 2). Уже на 1-й минуте объемная скорость почечного кровотока у крыс с прекондиционированной почкой была выше, чем у животных без прекондиционирования (41 и 30% соответственно). Также в отличие от животных с непрекон-

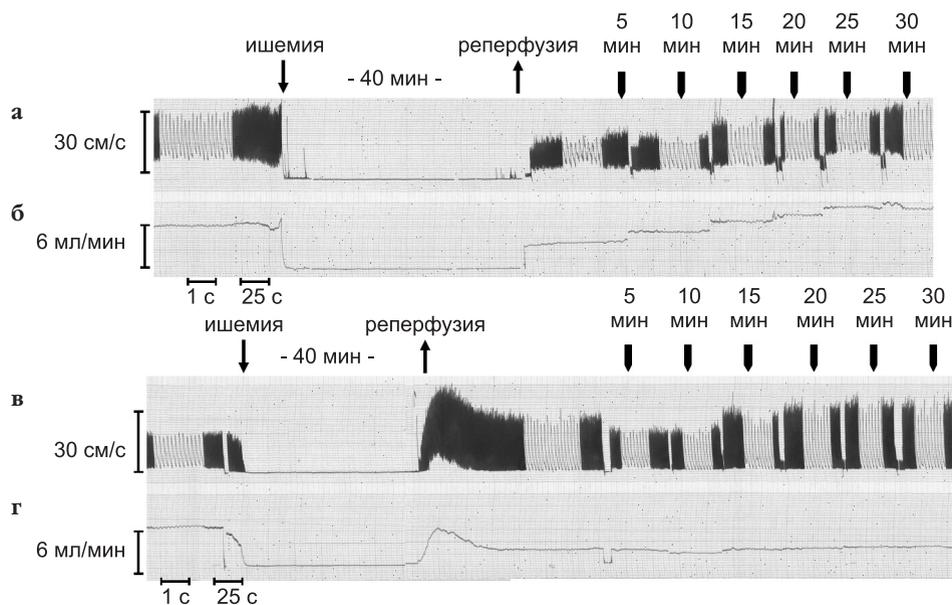


**Рис. 1.** Изменения кровотока, вызванные 40-минутной ишемией почки. Измерение линейной (а, в) и объемной (б, г) скорости кровотока по ао. *abdominalis* (а, б) и а. *renalis* (в, г) при помощи высокочастотной ультразвуковой техники

Таблица

**Изменение параметров системной и почечной гемодинамики в результате 40-минутной ишемии почки. Данные получены при помощи высокочастотной ультразвуковой доплеровской техники. Результаты представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего**

	Контроль	Ишемия		Реперфузия						
		1 мин	40 мин	1 мин	5 мин	10 мин	15 мин	20 мин	25 мин	30 мин
ЧСС, уд/мин	384 $\pm$ 9	400 $\pm$ 7	411 $\pm$ 12	421 $\pm$ 41	438 $\pm$ 44	387 $\pm$ 84	370 $\pm$ 120	387 $\pm$ 89	355 $\pm$ 102	457 $\pm$ 58
Изменение скорости объемного кровотока по <i>ao. abdominalis</i> , %	100	89 $\pm$ 3	119 $\pm$ 5	134 $\pm$ 7	126 $\pm$ 6	123 $\pm$ 9	119 $\pm$ 9	118 $\pm$ 4	117 $\pm$ 6	137 $\pm$ 6
Коэффициент резистивности <i>ao. abdominalis</i>	0,83 $\pm$ 0,04	0,85 $\pm$ 0,03	0,84 $\pm$ 0,03	0,58 $\pm$ 0,05	0,58 $\pm$ 0,02	0,72 $\pm$ 0,4	0,66 $\pm$ 0,03	0,65 $\pm$ 0,03	0,62 $\pm$ 0,03	0,63 $\pm$ 0,02
Изменение скорости объемного кровотока по <i>a. renalis</i> , %	100	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0*	30 $\pm$ 1*	34 $\pm$ 9*	33 $\pm$ 11*	33 $\pm$ 8*	37 $\pm$ 9*	42 $\pm$ 11*	44 $\pm$ 14*
Изменение пиковой систолической скорости кровотока по <i>a. renalis</i> , %	100	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0*	92 $\pm$ 28	69 $\pm$ 18	67 $\pm$ 21	71 $\pm$ 23	92 $\pm$ 34	106 $\pm$ 36	103 $\pm$ 72
Изменение конечной диастолической скорости кровотока по <i>a. renalis</i> , %	100	0 $\pm$ 0*	0 $\pm$ 0*	33 $\pm$ 18*	35 $\pm$ 19*	33 $\pm$ 19*	35 $\pm$ 19*	47 $\pm$ 29	58 $\pm$ 39	20 $\pm$ 19*
Коэффициент резистивности <i>a. renalis</i>	0,76 $\pm$ 0,09	Н/И	Н/И	0,92 $\pm$ 0,04	0,94 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,03	0,94 $\pm$ 0,04	0,93 $\pm$ 0,04	0,98 $\pm$ 0,02

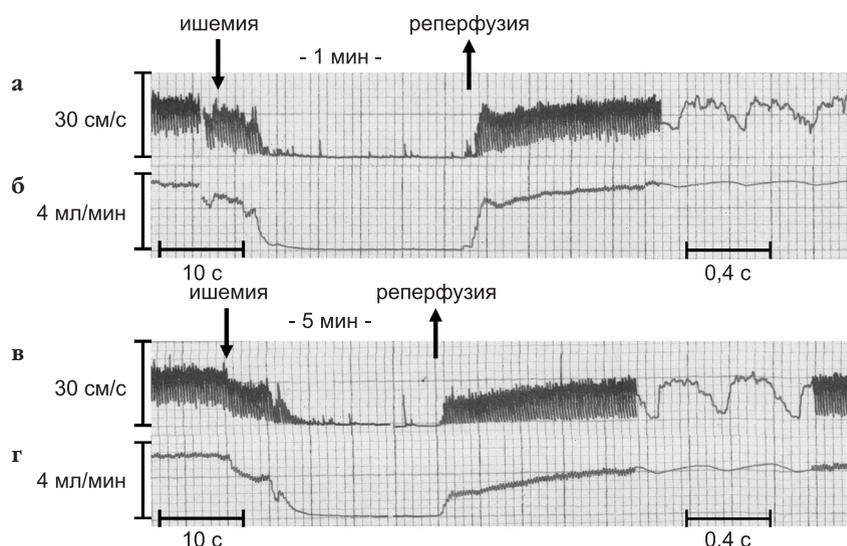
\* –  $p < 0,05$ .

**Рис. 2. Ишемическое прекодиционирование почки (4 цикла по 5 мин ишемии и 5 мин реперфузии перед 40-минутной ишемией) (а, б) предотвращает нарушения почечной гемодинамики, вызванные 40-минутной ишемией (в, г). Измерение линейной (а, в) и объемной (б, г) скорости кровотока по *a. renalis* при помощи высокочастотной ультразвуковой техники**

диционированной почкой, у которых данный параметр оставался стабильным на протяжении всего периода реперфузии, у животных с прекодиционированной почкой наблюдалось увеличение скорости почечного кровотока. На 15-й минуте объемная скорость достигала нормальных значений, а на 25-й минуте наблюдался ее максимум, составляющий 123% от предышемических значений. Аналогично наблюдалась быстрая нормализация индекса резистивности, который сразу после ишемии увеличивался с 0,62 до 0,97 на 1-й минуте репер-

фузии, с дальнейшим возвратом к предышемическим значениям (0,66 к 10-й минуте реперфузии).

В другой серии экспериментов было исследовано влияние коротких периодов ишемии (1 или 5 мин) на скорость восстановления венозного оттока левой почки. Для этой цели доплеровский датчик устанавливали на левой почечной вене. Пример одной записи показан на рис. 3. Через 15–30 с после пережатия почечной артерии скорость кровотока в почечной вене падала до нуля. После возобновления кровотока по почечной артерии



**Рис. 3. Влияние коротких периодов ишемии почки на скорость восстановления венозного оттока. Измерение линейной (а, в) и объемной (б, г) скорости кровотока по *v. renalis* при помощи высокочастотной ультразвуковой техники**

после 1-минутной ишемии наблюдалось увеличение скорости кровотока по почечной вене, которое носило экспоненциальный характер. Через 33 с реперфузии кривая увеличения скорости венозного оттока выходила на плато, при этом скоростные параметры достигали предъишемических значений. После 5-минутной ишемии увеличение скорости венозного кровотока также происходило по экспоненциальной зависимости, однако подъем имел более пологий характер. Плато на кривой наблюдалось лишь через 40 с реперфузии, при этом максимальная объемная скорость кровотока по почечной вене составляла лишь 73% от предъишемических значений.

### Обсуждение

Применяемый в работе ультразвуковой метод основан на доплеровском эффекте с использованием ультразвука высокой частоты, что сделало возможным измерение линейной и объемной скорости кровотока весьма низких значений с возможностью проведения исследований датчиками кровотока компактных конструкций (длинной бандажа 2–2,5 мм при внутреннем диаметре 1–2 мм). Использование высокой частоты ультразвука позволило также проводить изучение почечной микроциркуляции датчиками контактного типа на различных этапах выполняемых исследований [2–4].

В нашей работе были зафиксировано влияние 40-минутной унилатеральной ишемии и реперфузии левой почки, как на центральную, так и на местную гемодинамику. Сразу после ишемии объемная скорость кровотока по брюшной аорте несколько снижалась, однако к концу ишемического периода снова увеличивалась. Восстановление кровоснабжения почки приводило к дополнительному увеличению этого параметра и к снижению индекса резистивности. Это позволяет предполагать, что И/Р почки приводит к активации факторов, влияющих на сердечно-сосудистую систему в целом, таких как, например, ренин-ангиотензин-альдостероновая система. Однако неизменность спектра

доплеровского сигнала аортального кровотока и отсутствие значительных изменений в частоте сердечных сокращений позволяет предполагать, что такое влияние является незначительным. Это предположение находит подтверждение среди литературных данных. Так, в работе S. Knight и E.J. Johns было показано, что изменения артериального давления у крыс, подвергшихся И/Р почки, остаются в границах физиологической нормы [15]. Аналогичные результаты были получены и другими исследователями [23, 28].

Гемодинамические параметры почки, напротив, оказались подвержены значительным изменениям. Интенсивность почечного кровотока после ишемии составляла лишь одну треть от предъишемических значений. К концу наблюдаемого периода реперфузии было зарегистрировано лишь незначительное улучшение данного параметра. При этом значительно возрастал индекс резистивности почечной артерии. Такой характер гемодинамических изменений свидетельствует о резком увеличении сопротивления току крови внутри почки.

Наши данные согласуются с результатами других исследовательских групп, применявших в своих работах лазерную доплерографию. Измерение внутрипочечного кровотока выявило снижение скоростных показателей после 30-минутной ишемии, как в корковом, так и в мозговом слое почки крысы [7, 15]. Аналогичные изменения были описаны и после 60-минутной ишемии почки крысы [24] или кролика [9]. После 20-минутной ишемии почки мыши сначала наблюдалась кратковременная реактивная гиперемия, а затем снижение кровотока ниже предъишемических значений [31]. В то же время после 30-минутной ишемии K.R. Regner и соавт. наблюдали снижение скоростных показателей кровотока только в мозговом слое [28]. Надо отметить, что использование лазерной доплерографии не дает возможности судить о том, какой вклад в уменьшение общего почечного кровотока вносит снижение скоростей циркуляции в том или ином регионе почки.

Определение общего объема почечного кровотока классическими методами физиологии показало его снижение в результате И/Р почки [13, 20]. Сосудистое сопротивление почки увеличивалось после И/Р почки как у крысы, так и у собаки уже через 20 мин реперфузии и сохранялось повышенным в течение нескольких суток [13, 19, 20].

Таким образом, данные, полученные нами при помощи ультразвуковой доплеровской техники, согласуются с теми результатами, которые были получены при применении лазерной доплерографии. В то же время наш метод обладал рядом преимуществ: одновременная регистрация целого ряда параметров (объемная скорость кровотока, линейная скорость кровотока, индекс резистивности, частота сердечных сокращений), одновременное использование двух датчиков (что позволило одновременно регистрировать гемодинамические показатели почечного и системного кровотока), неинвазивность (датчик накладывался на поверхность сосуда, в то время как регистрация кровотока в мозговом веществе почки методом лазерной доплерографии требует введения датчика внутрь паренхимы почки).

Нарушение почечной гемодинамики может быть объяснено развитием окислительного стресса, возникающим вследствие дисфункции митохондрий и гиперпродукции активных форм кислорода (АФК) этими органеллами [25]. Супероксидный радикал, образующийся дыхательной цепью митохондрий в условиях гипоксии и последующей реоксигенации, с высоким сродством взаимодействует с оксидом азота, в результате чего образуется высокотоксичный пероксинитрит [27]. Считается, что такой процесс приводит к резкому снижению биодоступности NO при окислительном стрессе и появлению сильнее окислителя. Есть данные, свидетельствующие о том, что АФК играют важную роль в регуляции почечного кровотока [6], а снижение способности к детоксикации образующегося в митохондриях супероксида становится причиной повышения артериального давления [11].

Другим следствием И/Р почки является нарушение реабсорбирующей функции проксимальных отделов нефрона [7, 13, 23]. Увеличение концентрации ионов натрия в области *macula densa* запускает активацию системы тубулогломерулярной системы обратной связи, приводящей к сужению приносящих артериол. Этот механизм может играть существенную роль в снижении почечного кровотока, учитывая потерю сосудами способности к релаксации и усиление констрикторного ответа [30]. Считается, что такие изменения поведения сосуда связаны с ростом цитоплазматической концентрации кальция [16] и гиперпродукцией АФК, уже обсуждавшейся ранее. Существенный вклад в нарушение почечного кровотока, по всей видимости, вносит активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы [21].

Наконец, существенный вклад в нарушение почечной микроциркуляции могут вносить воспалительные процессы, запускаемые И/Р в органе. К ним относятся увеличение экспрессии цитокинов, молекул адгезии и хемоаттрактантов [8]. Привлекаемые в почку лейкоциты, в свою очередь, вырабатывают вазоконстрикторные вещества и АФК. Наиболее выраженным в результате И/Р оказывается нарушение кровотока в мозговом веществе. Именно в сосудах этой зоны отмечается

увеличение экспрессии белка V $\beta$ -1 (CD80) – партнера адгезивной молекулы Т-лимфоцитов CD28 – и накопление лимфоцитов на ранних сроках реперфузии [10]. Можно предполагать, что адгезия лимфоцитов, обусловленная взаимодействием CD28 с CD80, приводит к резкому замедлению кровотока в капиллярах *vasa recta*, что приводит к значительному снижению почечного кровотока в наружном мозговом слое почки.

Ишемическое прекондиционирование является одним из самых перспективных нефропротекторных подходов, показавшим свою эффективность как на различных экспериментальных моделях ОПН, так и в клинике [12, 14, 18, 35]. Ранее было показано, что ишемическое прекондиционирование нормализует функцию почки, предотвращая повреждение органа и снижая окислительный стресс в почке [14, 18]. В нашем исследовании ишемическое прекондиционирование предотвращало нарушения гемодинамики, вызванные И/Р, что свидетельствует о ключевой роли данных изменений в патофизиологии ОПН.

Измерение скорости венозного оттока показало, что почечный кровоток крайне чувствителен даже к очень коротким периодам ишемии. Так, уже 5-минутная ишемия органа приводит к значимым изменениям венозного оттока. Высокая чувствительность венозного оттока к почечным воздействиям была показана и другими исследователями. Ringaard и соавт., применяя магнитно-резонансную томографию, наблюдали 70% увеличение скорости венозного оттока в результате унилатеральной нефрэктомии [29].

## Выводы

Таким образом, было показано, что высокочастотная ультразвуковая доплеровская техника является эффективным методом изучения почечного кровотока, обладающим такими преимуществами, как высокая точность измерения и неинвазивность. Использование данного метода позволило выявить резкое нарушение почечной гемодинамики, вызванное 40-минутной ишемией почки крысы. Данные изменения регистрировались на самых ранних сроках реперфузии, а их характер позволяет предполагать, что уменьшение почечного кровотока вызвано внутриорганными процессами, запускаемыми в результате ишемии. Высокая чувствительность почечного кровотока к действию ишемии и предотвращение патологических изменений почечной гемодинамики при использовании ишемического прекондиционирования позволяют предполагать, что данные изменения играют значительную роль в патофизиологии ишемической ОПН, а их регистрация и оценка с помощью высокочастотной ультразвуковой доплеровской техники может иметь прогностическое значение в клинике.

**Работа частично поддержана грантами РФФИ 14-04-00300, 14-04-00542 и 14-04-31133.**

## Литература

1. Ермоленко В.М. Острая почечная недостаточность // Нефрология: Руководство для врачей / Под ред. И.Е. Тареевой. М.: Медицина, 2000. С. 580–595.

2. *Мацневский ДД.* Ультразвук в экспериментальных исследованиях макро- и микроциркуляции // Бюлл. эксп. биол. мед. 2003. Т. 7. С. 115–118.
3. *Мацневский ДД.* Измерение кровотока в исследованиях макро- и микроциркуляции // Бюлл. эксп. биол. мед. 2004. Т. 12. С. 612–616.
4. *Мацневский ДД, Тимкина МИ.* Применение высокочастотной ультразвуковой доплеровской системы с миниатюрным датчиком для изучения динамических процессов в терминальном сосудистом русле // Региональное кровообращение и микроциркуляция. 2003. Т. 4. С. 71–79.
5. *Ярмагомедов АА.* Острая почечная недостаточность // Диализный альманах / Ред. Е. Стецюк, С. Лашутин, В. Чупрасов. СПб: Элби-СПб, 2005. С. 107–135.
6. *Abmeda AF, Johns EJ.* The regulation of blood perfusion in the renal cortex and medulla by reactive oxygen species and nitric oxide in the anaesthetised rat // Acta. Physiol. 2012. Vol. 204. P. 443–450.
7. *Ajis A, Bagnall NM, Collis MG, et al.* Effect of endothelin antagonists on the renal haemodynamic and tubular responses to ischemia-reperfusion injury in anaesthetised rats // Exp. Physiol. 2003. Vol. 88 (4). P. 483–490.
8. *Bonventre JV, Zuk A.* Ischemic acute renal failure: an inflammatory disease? // Kidney Int. 2004. Vol. 66. P. 480–485.
9. *Defraigne JO, Pincemail J, Detry O, et al.* Preservation of cortical microcirculation after kidney ischemia-reperfusion: value of an iron chelator // Ann. Vasc. Surg. 1994. Vol. 8 (5) P. 457–467.
10. *De Greef KE, Ysebaert DK, Dauwe S, et al.* Anti-B7-1 blocks mononuclear cell adherence in vasa recta after ischemia // Kidney Int. 2001. Vol. 60 (4). P. 1415–1427.
11. *Dikalova AE, Bikineyeva AT, Budzyn K, et al.* Therapeutic targeting of mitochondrial superoxide in hypertension // Circ. Res. 2010. Vol. 107 (1). P. 106–116.
12. *Er F, Nia AM, Dopp H, et al.* Ischemic preconditioning for prevention of contrast medium-induced nephropathy: randomized pilot RenPro Trial (Renal Protection Trial) // Circulation. 2012. Vol. 126 (3). P. 296–303.
13. *Hussein A-AM, Barakat N, Awadalla A, et al.* Systemic and renal haemodynamic changes in renal ischemia/reperfusion injury: impact of erythropoietin // Can. J. Physiol. Pharmacol. 2012. Vol. 90. P. 1535–1543.
14. *Kim J, Jang HS, and Park KM.* 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. Vol. 298 (1). P. F158–F166.
15. *Knight S, Johns EJ.* Effect of COX inhibitors and NO on renal hemodynamics following ischemia-reperfusion injury in normotensive and hypertensive rats // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2005. Vol. 289. P. F1072–F1077.
16. *Kribben A, Wieder ED, Wetzels JF, et al.* Evidence for role of cytosolic free calcium in hypoxia-induced proximal tubule injury. // J. Clin. Invest., 1994. Vol. 93 (5). P. 1922–1929.
17. *Lameire N.* The Pathophysiology of acute renal failure // Crit. Care Clin. 2005. Vol. 21. P. 197–210.
18. *Lee HT, Emala CW.* Protective effects of renal ischemic preconditioning and adenosine pretreatment: role of A(1) and A(3) receptors // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2000. Vol. 278 (3). P. F380–F387.
19. *Lee J, Kim M, Park C, et al.* Influence of ascorbic acid on BUN, creatinine, resistive index in canine renal ischemia-reperfusion injury // J. Vet. Sci. 2006. Vol. 7 (1). P. 79–81.
20. *Lopau K, Kleinert D, Erler J, et al.* Tacrolimus in acute renal failure: does L-arginine-infusion prevent changes in renal hemodynamics? // Transpl. Int. 2000. Vol. 13 (6). P. 436–442.
21. *Lopau K, Hefner L, Bender G, et al.* Haemodynamic effects of valsartan in acute renal ischaemia/reperfusion injury // Nephrol. Dial. Transplant. 2001. Vol. 16 (8). P. 1592–1597.
22. *Nitescu N, Grimberg E, Ricksten S-E.* Effects of N-acetyl-L-cysteine on renal haemodynamics and function in early ischaemia-reperfusion injury in rats // Clin. Exp. Pharmacol. Physiol. 2006. Vol. 33. P. 53–57.
23. *Ogawa T, Nussler AK, Tuzumer E, et al.* Contribution of nitric oxide to the protective effects of ischemic preconditioning in ischemia-reperfused rat kidneys // J. Lab. Clin. Med. 2001. Vol. 138 (1). P. 50–58.
24. *Olof P, Hellberg A, Köllskog O, et al.* Red cell trapping and post-ischemic renal blood flow. Differences between the cortex, outer and inner medulla // Kidney Int. 1991. Vol. 40 (4). P. 625–631.
25. *Plotnikov EY, Kazachenko AV, Vysokikh MY, et al.* The role of mitochondria in oxidative and nitrosative stress during ischemia/reperfusion in the rat kidney // Kidney Int., 2007. Vol. 72 (12). P. 1493–1502.
26. *Plotnikov EY, Chupyrkina AA, Jankauskas SS, et al.* Mechanisms of nephroprotective effect of mitochondria-targeted antioxidants under rhabdomyolysis and ischemia/reperfusion. // Biochim. Biophys. Acta. 2011. Vol. 1812 (1). P. 77–86.
27. *Pryor WA, Squadrito GL.* The chemistry of peroxynitrite: a product from the reaction of nitric oxide with superoxide // Am. J. Physiol., 1995. Vol. 268. P. L699–722.
28. *Regner KR, Zuk A, Van Why SK, et al.* Protective effect of 20-HETE analogues in experimental renal ischemia reperfusion injury // Kidney Int. 2009. Vol. 75 (5). P. 511–517.
29. *Ringgaard S, Christiansen T, Bak M, et al.* Measurement of renal vein blood flow in rats by high-field magnetic resonance // Kidney Int. 1997. Vol. 52 (5). P. 1359–1363.
30. *Schrier RW, Wang W, Poole B, et al.* Acute renal failure: definitions, diagnosis, pathogenesis, and therapy // J. Clin. Invest. 2004. Vol. 114. P. 5–14.
31. *Sbi H, Patschan D, Epstein T, et al.* Delayed recovery of renal regional blood flow in diabetic mice subjected to acute ischemic kidney injury // Am. J. Physiol. Renal. Physiol. 2007. Vol. 293. P. F1512–F1517.
32. *Solez L, Morel-Maroger L, Sraer J.* The morphology of «acute tubular necrosis» in man: analysis of 57 renal biopsies and comparison with the glycerol model // Medicine (Baltimore). 1979. Vol. 58. P. 362–376.
33. *Tumlin J, Stacul F, Adam A, et al.* Pathophysiology of Contrast-Induced Nephropathy // The Am. J. Cardiol. 2006. Vol. 98. P. 14K–20K.
34. *Zimmerbackl LB, Freitschner M, Steinbausen M.* Cyclosporin Reduces Renal Blood Flow Through Vasoconstriction of Arcuate Arteries in the Hydronephrotic Rat Model // Klin. Wochenschr. 1990. Vol. 68. P. 166–174.
35. *Zimmerman RF, Ezeanuna PU, Kane JC, et al.* Ischemic preconditioning at a remote site prevents acute kidney injury in patients following cardiac surgery // Kidney Int. 2011. Vol. 80 (8). P. 861–867.

Дата получения статьи: 2.04.13  
Дата принятия к печати: 12.07.13