

УДК 576.311.336:616.613-003.7:57.012.4/.085

МОРФОЛОГИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПОЧЕК КРЫС ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ОКСАЛАТНОМ НЕФРОЛИТИАЗЕ

²Мотин Ю.Г., ¹Лапий Г.А., ²Лепилов А.В., ³Бгатова Н.П., ²Жариков А.Ю.,
²Мотина Н.В., ¹Непомнящих Л.М.

¹ФГБНУ «Институт молекулярной патологии и патоморфологии»,
Новосибирск, e-mail: pathol@inbox.ru;

²ГБОУ ВПО «Алтайский государственный медицинский университет», Барнаул;

³ФГБНУ «Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии», Новосибирск

С целью оценки структурной перестройки тканевых элементов на начальных этапах литогенеза проведено морфологическое и ультраструктурное исследование почек крыс с экспериментальным оксалатным нефролитиазом. Изучались особенности развития стресса эндоплазматического ретикулума при нефролитиазе и на фоне применения альфа-токоферола. Выявлены признаки прогрессирующего развития стресса эндоплазматического ретикулума с активацией проапоптозной ветви и повреждением клеточной выстилки канальцев нефронов и собирательных трубок. Показаны ультраструктурные изменения органелл, ядер и клеточных мембран эпителиоцитов. В зонах интенсивного литогенеза обнаружены признаки проапоптозного изменения клеток. В ходе корректирующего воздействия альфа-токоферола отмечена меньшая степень выраженности патогистологической перестройки почки и ультраструктурных изменений эпителия и замедление процесса литогенеза. Установлена определенная взаимосвязь процессов стресса эндоплазматического ретикулума и оксидативного повреждения, развивающегося на ранних сроках литогенеза.

Ключевые слова: экспериментальный нефролитиаз, стресс эндоплазматического ретикулума, α -токоферол, эпителий почки, ультраструктура

MORPHOLOGICAL STUDY OF RAT KIDNEY DURING EXPERIMENTAL OXALATE NEPHROLITHIASIS

²Motin Y.G., ¹Lapiy G.A., ²Lepilov A.V., ³Bgatova N.P., ²Zharikov A.Y.,
²Motina N.V., ¹Nepomnyashikh L.M.

¹Institute of Molecular Pathology and Pathomorphology, Novosibirsk, e-mail: pathol@inbox.ru;

²Altai State Medical University, Barnaul;

³Research Institute of clinical and experimental lymphology, Novosibirsk

To assess kidneys structural changes in early lithogenesis, were conducted morphological and ultrastructural study kidneys from rats with experimental oxalate nephrolithiasis. Peculiarities of endoplasmic reticulum stress development at nephrolithiasis and during treatment with alpha-tocopherol was studied. The signs of the progressive development of endoplasmic reticulum stress with proapoptotic branch activation and damage the cell lining of the tubules and collecting ducts of nephrons were noted. Changes in the ultrastructure of organelles, nuclei and cell membranes of epithelial cells were found. Signs of proapoptotic cell changes have been revealed in areas of intensive lithogenesis. In the course of correcting exposure α -tocopherol the pathohistological restructuring kidney and ultrastructural changes in the epithelium were less intense, lithogenesis was slowed. A certain relationship between endoplasmic reticulum stress and oxidative damage during early stages of lithogenesis development was detected.

Keywords: experimental oxalate nephrolithiasis, endoplasmic reticulum stress, α -tocopherol, epithelium of the kidney, ultrastructure

Стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресс) представляет собой нарушение нормального фолдинга и накопление в просвете эндоплазматического ретикулума (ЭПР) aberrантных несвернутых или неправильно свернутых протеинов. Нарушение созревания белковых молекул ведет к прекращению нормального функционирования клетки и угрожает ей гибелью. Для нормального созревания белка необходимо определенное соотношение между биосинтетической нагрузкой и функциональной вместимостью ЭПР. Для обеспечения этого

равновесия в клетках выработался сложный комплекс эволюционно сохраненных высокоспецифичных сигнальных путей, получивших наименование UPR (unfolded protein response) [4]. С биохимической точки зрения UPR представляет собой комплекс диверсифицированных, но тесно взаимосвязанных сигнальных ветвей, объединенных общим триггерным механизмом [2]. Этот механизм представлен мембранными белками – киназами PERK и IRE1, а также фактором транскрипции ATF6. Их регуляторные домены погружены в просвет

ЭПР и связаны с шапероном BiP (binding immunoglobulin protein – белок, связывающий иммуноглобулины). Это один из наиболее изученных шаперонов ЭПР, относится к подсемейству белков теплового шока (Hsp70), также обозначается как GRP78 (glucose-regulated protein – белок, регулируемый глюкозой). При возрастании нагрузки на ЭПР содержание свободных шаперонов в его просвете падает и GRP78 отделяется для выполнения своей основной функции – защиты созревания белка. Таким образом, центральная регуляторная роль в запуске адаптивной ветви UPR принадлежит шаперону GRP78 (BiP) [4].

В случае продолжительного или чрезмерного ЭР-стресса клетка следует по пути запрограммированной гибели, подвергаясь апоптозу. Этот процесс индуцируется протеином GADD153 (growth arrest and DNA damage inducible genes – белок, вызывающий прекращение роста и повреждение ДНК), также известном как CHOP (CCAAT/enhancer-binding protein-homologous protein). Активированный CHOP индуцирует ряд генов, кодирующих участвующие в апоптозе протеины, такие как GADD34 и TRB3. Также CHOP подавляет экспрессию антиапоптотического гена *bcl-2* и транскрипцию соответствующего протеина, что ведет к усилению оксидативного стресса и апоптоза [14, 9].

Современные данные позволяют рассматривать дисфункцию ЭПР и развитие ЭР-стресса как общее звено многих заболеваний человека, в том числе патологии почек. Несмотря на значительное количество работ, посвященных изучению ЭР-стресса в почке при ряде заболеваний (врожденные и наследственные заболевания, поликистоз почек, гломерулонефриты, диабетическая нефропатия, повреждение, вызванное ишемией/реперфузией, воздействием ряда лекарственных препаратов, солями тяжелых металлов), в литературе недостаточно освещены вопросы развития ЭР-стресса и его проявления при нефролитиазе.

Ранее нами получены данные, свидетельствующие о развитии оксидативного повреждения на ранних сроках литогенеза [5] и нарушении синтеза в почке белков-модуляторов процессов кристаллизации [3] факторов, доказанно вызывающих ЭР-стресс. Это позволило предположить, что процессы литогенеза могут сопровождаться развитием ЭР-стресса в клеточных элементах почки с нарушением их патофизиологии, микро- и ультраструктурной организации. Для оценки потенциальной роли ЭР-стресса в повреждении клеточных элементов почки на ранних сроках литогенеза мы провели сравнительное исследование биомаркеров

ЭР-стресса (GRP-78 и GADD153) у крыс с экспериментальным нефролитиазом.

Цель данного исследования – оценить ультраструктурные изменения канальцевого и тубулярного эпителия почки и влияние стресса эндоплазматического ретикулума на процессы литогенеза при экспериментальном оксалатном нефролитиазе.

Материалы и методы исследования

Экспериментальная модель оксалатного нефролитиаза была выполнена на 80 сертифицированных самцах крыс линии Wistar массой тела от 180 до 250 г.

Все животные были разделены на четыре группы по 20 крыс в каждой. Крысы первой группы находились на общевиварном рационе, для питья получали водопроводную воду, мочекаменная болезнь у них не инициировалась. Данная группа использовалась в качестве контрольной. Животные второй группы на фоне стандартной диеты в течение 21 дня получали в качестве питья 1% водный раствор этиленгликоля в свободном доступе, что индуцировало развитие оксалатного экспериментального нефролитиаза [11]. Животные третьей группы находились в условиях стандартной диеты в течение 42 дней и получали для питья 1% раствор этиленгликоля. В четвертой группе животных в течение 3 недель моделировали экспериментальный нефролитиаз, в последующие 3 недели на фоне продолжающегося приема этиленгликоля животные получали с пищей α -токоферол в дозе 300 мг/кг.

Для гистологического исследования животных декапитировали путем дислокации шейного позвонка под эфирным наркозом с соблюдением требований Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или других научных целей» (Страсбург, 1986 г.), и Федерального закона Российской Федерации «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997. Материалом исследования служила почка крысы. Орган фиксировали в 10% растворе формалина, обрабатывали по стандартной методике, заливали в парафин. Поперечные срезы через почечный сосочек толщиной 6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином.

Для выявления отложений соединений кальция использовали импрегнацию серебром по методу Косса. Оценивали характер отложения и распределения кальциевых депозитов, их средние размеры, особенности локализации в тканях почки.

Для определения экспрессии маркеров адаптивной (белок GRP78) и дизадаптивной (GADD153) ветвей ЭР-стресса применяли непрямой двухшаговый стрептавидин-биотинный метод с контролем специфичности реакции. После стандартной процедуры депарафинизации и регидратации выполняли блокирование эндогенной пероксидазы согласно рекомендациям производителя антител (Santa Cruz, USA). Восстановление антигенной специфичности производилось с помощью предварительной обработки срезов, погруженных в цитратный буфер (pH 6,0) в микроволновой печи при мощности 600 Вт 3 раза по 7 минут [1]. В качестве первичных антител использовали антитела к GRP78 (N-20: sc-1050), 1:50 и антитела к GADD153 (F-168: sc-575), 1:100 фирмы Santa Cruz (USA). Продукты реакции визуализировали с помощью системы Goat ABC Staining system: sc-2023 (Santa Cruz), Rabbit ABC Staining system: sc-2018 (Santa Cruz) и диаминобензидина (ДАБ).

Для электронно-микроскопического исследования образцы почки фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, затем в 1% растворе OsO₄ на фосфатном буфере (рН = 7,4), дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм окрашивали толуидиновым синим, изучали под световым микроскопом. Ультратонкие срезы толщиной 35–45 нм изготавливали на ультратоме Leica EM UC7, контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца и изучали в электронном микроскопе JEM 1400 («Jeol») при ускоряющем напряжении 80 кВ.

Морфометрические исследования проводили с использованием программных пакетов ImageJ 1.43 и AxioVision 3.4LE. Степень экспрессии (в баллах – 1+, 2+, 3+) оценивали по интенсивности окрашивания диаминобензидина (ДАБ). Для удобства интерпретации результатов рассчитывали интенсивность экспрессии по формуле

$$E\% = 100 - \frac{100 \cdot D_x}{256},$$

где E% – интенсивность экспрессии; 256 – максимум интенсивности окраски; D_x – интенсивность окрашивания ДАБ. Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием пакета R версии 2.12 (лицензия GNU General Public License) для Microsoft Windows®. Межгрупповые различия оценивали по критерию Дана. Результаты работы представлены в виде значений \bar{X} (средняя арифметическая) ± SD (стандартное отклонение).

Результаты исследования и их обсуждение

У животных контрольной группы наблюдали нормальную гистологическую картину строения коркового и мозгового вещества почки. Размер просвета собирательных трубок составил в среднем $15,5 \pm 0,53$ мкм. Кальциевые депозиты у крыс интактной группы гистохимически не были верифицированы. Ультраструктурные изменения в эпителиоцитах канальцев и собирательных трубок не выявлялись. Ядра клеток имели округлую форму с оформленным гетерохроматином. Расширений элементов и нарушений структуры гранулярной эндоплазматической сети (грЭПС) не отмечали. Визуализировались овальные митохондрии с правильно расположенными, четкими кристами, базальная мембрана незначительной толщины.

Иммуногистохимическое исследование показало умеренно выраженную (2+) экспрессию GRP78 в цитоплазме эпителиальных клеток канальцев нефрона и эпителиоцитах собирательных трубок. Экспрессия GADD153 была слабо выраженной (1+).

После 3 недель моделирования оксидативного нефролитиаза в почках крыс наблюдались дистрофические изменения эпителиа канальцев и собирательных трубок в виде гидропической дистрофии, расширение просвета собирательных трубок

($19,3 \pm 0,41$ мкм). В просвете собирательных трубок выявлялся слущенный эпителий и белковые депозиты.

В эпителии канальцев и собирательных трубок, в интерстиции мозгового вещества, в просветах собирательных трубок в составе белковых цилиндров обнаруживались умеренные отложения соединений кальция (в среднем $17,1 \pm 2,00$ в поле зрения). Характерной являлась локализация соединений кальция – преимущественно в области основания и средней трети почечного сосочка. Средний размер депозитов составил $9,2 \pm 0,43$ мкм. В 10% наблюдений обнаруживались довольно крупные микролиты (размером до 38,5 мкм) с obturацией просвета собирательных трубок и инкрустацией их эпителиа соединениями кальция.

Электронно-микроскопическое исследование выявило ультраструктурные изменения эпителиоцитов канальцевой системы почки и собирательных трубок, затрагивающие клеточные органеллы, ядра и клеточные мембраны. Светооптические изменения эпителиоцитов по типу гидропической дистрофии электронно-микроскопически проявлялись расширением цистерн грЭПС и формированием различного размера вакуолей. Содержимое большинства из них было электронно-светлым, на поверхности мембран определялись одиночные, неравномерно расположенные рибосомы. Отмечались умеренные изменения митохондрий в виде набухания, нарушения целостности внутренней мембраны, нарушения правильного расположения крист. Ультраструктурные изменения в большей степени затрагивали апикальные части клеток; базальные полюса эпителиоцитов страдали в меньшей степени. Микроворсинки апикальной части клеток несколько сглаживались, но обычно сохранялись. Цитоплазма и отдельные увеличенные митохондрии содержали мелкие электронно-плотные депозиты кальция. Эндоплазматическая сеть таких клетках была значительно расширена. Ядра отдельных клеток выглядели сморщенными, с признаками кариорексиса и кариолизиса; в цитоплазме визуализировались лизосомы с ламеллярным содержимым, иногда аутофагосомы. Наблюдалось разрыхление базальной мембраны.

Иммуногистохимическое исследование показало умеренно выраженную (2+) экспрессию GRP78 эпителием почечных канальцев, статистически значимо не отличавшуюся от показателей интактных животных. Однако в участках интенсивного литогенеза экспрессия шаперона GRP78 была выраженной (3+), что на 34,8% превышало показатели здоровых животных.

Отмечена активация проапоптозной ветви ЭР-стресса: выраженная (3+) экспрессия GADD153 (на 32,4% превышающая показатели контрольной группы, $p < 0,05$). В местах интенсивного литогенеза, в областях отложения крупных кальциевых депозитов, выраженность экспрессии GADD153 была максимальной, на 58,3% превышая соответствующие показатели интактной группы.

После 6 недель моделирования оксалатного нефролитиаза наблюдалась выраженная патогистологическая перестройка почки с дистрофическими и некробиотическими изменениями клеток и тканевых структур. Средний размер просвета собирательных трубок значительно увеличивался и составлял $24,9 \pm 0,62$ мкм. Отложения кальция располагались по всей площади почечного сосочка, включая верхушку и, реже, в канальцах коркового вещества, выявляясь в больших количествах, в среднем $27,4 \pm 3,22$ (с максимальными значениями 57) в поле зрения. Характерным являлось наличие отложений соединений кальция в просвете элементов петли (тонком и в восходящем толстом – прямом дистальном канальце) и в собирательных трубках, часто с выраженной инкрустацией их эпителия. Обнаруживаемые кальциевые депозиты были сравнительно крупными, в среднем составляя $11,8 \pm 0,62$ мкм. В 40% наблюдались крупные депозиты кальция (размером до 57,4 мкм), обтурирующие канальцы петли нефрона или собирательные трубки. В зонах отложения кальция выявлялись разрастания соединительной ткани с формированием перитубулярного и периваскулярного фиброза.

Электронно-микроскопически отмечались выраженные ультраструктурные изменения эпителиоцитов канальцев и собирательных трубок. Обращало на себя внимание расширение цистерн грЭПС с формированием светлых вакуолей. На поверхности мембран определялись одиночные, неравномерно расположенные рибосомы. В цитоплазме визуализировались гигантские митохондрии, с набуханием и просветлением матрикса, выраженными деструктивными изменениями крист и мембран. Определялись мелкие электронно-плотные депозиты кальция, фиксированные в структурах цитоплазмы и на поврежденных кристах внутри митохондрий. Часто в митохондриях формировались ампулярные расширения крист, где также фиксировались соли кальция. Ядра эпителиоцитов подвергались кариорексису и кариолизису; в цитоплазме выявлялись лизосомы с ламеллярным содержимым, аутофагосомы, часто включающие остатки митохондрий. Отмечалось разрыхление базальной мем-

браны, увеличение содержания коллагеновых волокон в интерстиции.

Иммуногистохимическое исследование показало уменьшение экспрессии (1+) GRP78 эпителиоцитами канальцев нефронов и собирательных трубок. В области средней трети и вершины почечного сосочка этот показатель оказался существенно сниженным, на 8,3% уступая значениям животных контрольной группы. В эпителиоцитах собирательных трубок, обтурированных мочевым камнем, снижение экспрессии шаперона достигало максимума и было на 21,7% ниже контрольных показателей. При этом отмечалась продолжающаяся активация проапоптозной ветви ЭР-стресса: выраженная (3+) экспрессия GADD153, с превышением средних показателей контрольной группы на 24,6% ($p < 0,05$). В области отложения соединений кальция отмечалось выраженное увеличение экспрессии GADD153 (3+) в цитоплазме клеток (на 49,8% превышая показатели здоровых животных).

В условиях применения в эксперименте α -токоферола определялась значительно меньшая степень выраженности патогистологических изменений структур почки. В эпителиоцитах собирательных трубок коркового и мозгового вещества отмечались признаки гиалиново-капельной дистрофии. Просвет собирательных трубок характеризовался относительной равномерностью в различных полях зрения, составляя в среднем $16,40 \pm 1,56$ мкм. Просветы некоторых собирательных трубок содержали одиночные слущенные эпителиоциты, белковые цилиндры.

В мозговом веществе почки определялось умеренное количество (до $17,6 \pm 2,39$ в поле зрения) отложений кальция, располагавшихся относительно равномерно по всей площади почечного сосочка, преимущественно в составе эпителия собирательных трубок и в их просвете среди слущенных эпителиоцитов. Кальциевые депозиты были мелкими, их средний размер составил $5,40 \pm 0,28$ мкм. Крупных соединений кальция, обтурировавших просвет канальцев и собирательных трубок, или инкрустации их эпителия не обнаруживалось.

Электронно-микроскопическое исследование показало умеренную выраженность ультраструктурных изменений эпителиоцитов канальцевой системы почки. Отмечалось умеренное расширение гранулярной эндоплазматической сети, набухание митохондрий с увеличением их размеров, просветлением матрикса и сглаженностью крист, выявлялись немногочисленные лизосомы с ламеллярным содержи-

мым. Ядра отдельных эпителиоцитов были пикнотичными, признаков кариорексиса не наблюдалось.

Иммуногистохимическое исследование почек крыс после применения α -токоферола показало выраженную (3+) экспрессию GRP78 эпителиоцитами собирательных трубок, статистически значимо (на 7,7%) превышавшую показатели контрольных животных. Интенсивность экспрессии GADD153 была сопоставима с таковой в интактной группе и существенно ниже (1+), чем у животных с экспериментальным оксалатным нефролитиазом.

Необходимо отметить, что одним из конечных продуктов метаболизма, входящим в состав большинства почечных камней, является оксалат. В ряде работ было показано токсическое влияние оксалата на тубулярный и канальцевый эпителий, что выражалось повреждением клеточных мембран, нарушением деятельности митохондрий, снижением клеточной активности. Помимо этого, в результате действия оксалата на клетки образуется большое количество реактивных форм кислорода и снижается общая жизнеспособность клеток [13].

Прогрессирующая структурная перестройка тканей почки происходит в результате оксидативного повреждения, стимулятором которого могут быть и кальциевые депозиты. В этих условиях активируется клеточная реакция, апоптоз и некробиотические процессы в почечном интерстиции и в эпителии почечных канальцев [7, 8].

Продукция активных форм кислорода обуславливает изменение клеточных редокс-зависимых реакций, обеспечивает взаимодействие активных форм кислорода с дисульфидными связями протеинов, что приводит к нарушению нормального фолдинга белков в грЭПС. Накопление таких неправильно свернутых протеинов в элементах грЭПС получило название стресс эндоплазматического ретикулума (ЭР-стресс) [4]. В современной литературе четко прослеживается взаимосвязь между оксидативным повреждением и ЭР-стрессом. При этом часть авторов иницирующим фактором считают оксидативный стресс [15], другие – ЭР-стресс [10].

Проведенное нами исследование показало развитие ЭР-стресса при экспериментальном оксалатном нефролитиазе и его связь с развитием оксидативного повреждения тканевых структур почек. Выявлены гистопографические особенности развития оксалатного нефролитиаза с формированием местных условий для течения процессов литогенеза [6]. При этом наблюдались ультраструктурные изменения эпителиоцитов канальцевой системы почки и собирательных трубок, затрагивающие цитоплазматические органеллы, ядра и клеточные мембраны. Отмечались умеренные изменения

митохондрий в виде набухания, нарушения целостности внутренней мембраны и нарушения правильного расположения крист. В зонах интенсивного литогенеза в эпителии регистрировались признаки проапоптозного изменения клеток: кариопикноз и кариорексис, формирование аутолизосом. В цитоплазме обнаруживались крупные вакуоли с немногочисленными, неравномерно расположенными на поверхности мембран рибосомами, что позволило идентифицировать эти элементы как расширенные цистерны гранулярной эндоплазматической сети.

Выявленные ультраструктурные изменения свидетельствуют о структурно-функциональной перестройке ЭПС, формировании UPR со срывом адаптации и развитием ЭР-стресса. Более выраженные изменения отмечались в апикальных полюсах эпителиоцитов, что, вероятно, объясняется процессом миграции нерастворимых соединений кальция из просвета почечных канальцев в цитоплазму клеток и далее в интерстиций [12]. При этом иммуногистохимическое исследование показало умеренно выраженную (2+) экспрессию шаперона GRP78 клеточной выстилкой почечных канальцев, статистически значимо не отличавшуюся от показателей интактных животных. Выраженную экспрессию этого маркера в местах интенсивного литогенеза, вероятно, следует рассматривать как компенсаторную реакцию, направленную на сдерживание процессов развития ЭР-стресса. Повышенная экспрессия GADD153 (примерно в 2 раза больше показателей здоровых животных) в эпителиоцитах канальцев нефронов и собирательных трубок свидетельствует об активации проапоптозной ветви ЭР-стресса уже на 3 неделе развития нефролитиаза.

При продолжающемся воздействии этиленгликоля до 6 недель ультраструктурные изменения клеток были выражены в значительно большей степени. На фоне продолжавшейся перестройки элементов эндоплазматической сети, проапоптозных изменений клеток отмечалось формирование гигантских митохондрий с характерными ампулярно расширенными кристами, на которых часто фиксировались соединения кальция. По всей видимости, такая структурная перестройка обусловлена продолжающимся воздействием повреждающих агентов, усилением процессов литогенеза и дальнейшим развитием проапоптозной ветви ЭР-стресса. Это подтверждается уменьшением экспрессии (1+) маркера компенсаторной ветви развития ЭР-стресса – шаперона GRP78 эпителиоцитами канальцев нефронов и собирательных трубок (в среднем на 8,3% ниже показателей контрольной группы) и значительным (на 21,7%) снижением экспрессии шаперона в зонах интенсивного

литогенеза. При этом экспрессия GADD153 сохранялась на высоком уровне.

В условиях коррекции процессов перекисного окисления липидов применением α -токоферола отмечалось выраженное усиление экспрессии шаперона GRP78, что указывает на определенную взаимосвязь процессов ЭР-стресса и оксидативного повреждения при экспериментальном оксалатном нефролитиазе. Уровень экспрессии GADD153 в целом соответствовал показателям интактной группы. При этом отмечена меньшая степень выраженности структурной перестройки почек, изменения ультраструктуры эпителия по сравнению с группой животных с нефролитиазом и замедление процесса литогенеза, что, вероятно, обусловлено активацией компенсаторной реакции клеток в ходе коррегирующего воздействия.

Таким образом, при экспериментальном оксалатном нефролитиазе обнаружены признаки развития стресса эндоплазматического ретикулума с ранней (уже на 3 неделе) активацией проапоптозной ветви и повреждением клеточной выстилки канальцев нефронов и собирательных трубок. Выявлены ультраструктурные изменения эпителиоцитов, затрагивающие клеточные органеллы, ядра и клеточные мембраны. Показана определенная взаимосвязь процессов стресса эндоплазматического ретикулума и оксидативного повреждения, развивающегося на ранних сроках литогенеза.

Список литературы

1. Гуревич Л.Е., Исаков В.А. Использование в иммуногистохимических исследованиях метода восстановления антигенности специфичности воздействием микроволн на ткани, фиксированные формалином и заключенные в парафин // Архив патологии. – 1999. – № 2. – С. 48–50.
2. Дедов И.И., Смирнова О.М., Горельшев А.С. Стресс эндоплазматического ретикулума: цитологический сценарий патогенеза заболеваний человека // Проблемы эндокринологии. – 2012. – № 5. – С. 57–66.
3. Жариков А.Ю., Мотин Ю.Г., Зверев Я.Ф. и др. Влияние α -токоферола ацетата на экспрессию внутрипочечных ингибиторов кристаллизации при экспериментальном оксалатном нефролитиазе // Медицина в Кузбассе. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 27–31.
4. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М. Стресс эндоплазматического ретикулума глазами нефролога // Нефрология. – 2012. – Т. 16, № 3. – С. 54–72.
5. Мотин Ю.Г., Жариков А.Ю., Брюханов В.М. и др. Оксидативный стресс как один из факторов повреждения на ранних сроках экспериментального нефролитиаза // Морфология. – 2011. – Т. 5, № 1. – С. 33–38.
6. Мотина Н.В., Брюханов В.М., Азарова О.В. и др. Морфологические изменения в почках крыс при экспериментальном нефролитиазе на фоне длительного применения клеточной культуры Маакии амурской // Нефрология. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 75–79.
7. Мотина Н.В., Зверев Я.Ф., Лепилов А.В. и др. Оксидативное повреждение почек при экспериментальном оксалатном нефролитиазе // Нефрология. – 2010. – Т. 14, № 1. – С. 68–73.
8. Aihara K., Byer K.J., Khan S.R. Calcium phosphate induced renal epithelial injury and stone formation: involvement of reactive oxygen species // *Kidney International*. – 2003. – Vol. 64, № 4. – P. 1283–1291.
9. Anding A.L., Chapman J.S., Barnett D.W. The unhydrolyzable fenretinide analogue 4-hydroxybenzylretinone induces the proapoptotic genes GADD 153 (CHOP) and Bcl-2-binding component 3 (PUMA) and apoptosis that is caspase-dependent and independent of the retinoic acid receptor // *Cancer Res.* – 2007. – Vol. 67. – P. 6270–6277.
10. Cullinan S.B., Diehl J.A. Coordination of ER and oxidative stress signaling: the PERK/Nrf2 signaling pathway // *Int. J. Biochem. Cell Biol.* – 2006. – Vol. 38, № 3. – P. 317–332.
11. Green M.L., Hatch M., Freel R.W. Ethylene glycol induces hyperoxaluria without metabolic acidosis in rats // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* – 2005. – Vol. 289. – P. 536–543.
12. Khan S.R. Experimental calcium oxalate nephrolithiasis and the formation of human urinary stones // *Scanning Microsc.* – 1995. – Vol. 9, № 1. – P. 89–100.
13. Khan S.R. Crystal-induced inflammation of the kidneys: results from human studies, animal models, and tissue-culture studies // *Clin. Exp. Nephrol.* – 2004. – Vol. 8, № 2. – P. 75–88.
14. McCullough K.D., Martindale J.L., Klotz L.O. et al. Gadd 153 sensitizes cells by downregulating Bcl2 and perturbing the cellular redox state // *Mol. Cell Biol.* – 2001. – Vol. 21. – P. 1249–1259.
15. Yokouchi M., Hiramatsu N., Hayakawa K. et al. Involvement of selective reactive oxygen species upstream of proapoptotic branches of unfolded protein response // *J. Biol. Chem.* – 2008. – Vol. 283, № 7. – P. 4252–4260.

References

1. Gurevich L.E., Isakov V.A. *Arkhiv patologii – Archives of Pathology*, 1999, no. 2, pp. 48–50.
2. Dedov I.I., Smirnova O.M., Gorelyshev A.S. *Problemy endokrinologii – Endocrinology problems*, 2012, no.5, pp. 57–66.
3. Zharikov A.Yu., Motin Yu.G., Zverev Ya.F. et al. *Meditsina v Kuzbasse – Medicine in Kuzbass*, 2011, vol. 10, no. 3, pp. 27–31.
4. Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M. *Nefrologiya – Nephrology*, 2012, vol. 16, no. 3, pp. 54–72.
5. Motin Yu.G., Zharikov A.Yu., Bryukhanov V.M. et al. *Morfologiya – Morphology*, 2011, vol. 5, no. 1, pp. 33–38.
6. Motina N.V., Bryukhanov V.M., Azarova O.V. et al. *Nefrologiya – Nephrology*, 2009, vol. 13, no. 4, pp. 75–79.
7. Motina N.V., Zverev Ya.F., Lepilov A.V. et al. *Nefrologiya – Nephrology*, 2010, vol. 14, no. 1, pp. 68–73.
8. Aihara K., Byer K.J., Khan S.R. *Kidney International*, 2003, vol. 64, no. 4, pp. 1283–1291.
9. Anding A.L., Chapman J.S., Barnett D.W. *Cancer Res.*, 2007, vol. 67, pp. 6270–6277.
10. Cullinan S.B., Diehl J.A. *Int. J. Biochem. Cell Biol.*, 2006, vol. 38, no. 3, pp. 317–332.
11. Green M.L., Hatch M., Freel R.W. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.*, 2005, vol. 289, pp. 536–543.
12. Khan S.R. *Scanning Microsc.*, 1995, vol. 9, no. 1, pp. 89–100.
13. Khan S.R. *Clin. Exp. Nephrol.*, 2004, vol. 8, no. 2, pp. 75–88.
14. McCullough K.D., Martindale J.L., Klotz L.O. et al. *Mol. Cell Biol.*, 2001, vol. 21, pp. 1249–1259.
15. Yokouchi M., Hiramatsu N., Hayakawa K. et al. *J. Biol. Chem.*, 2008, vol. 283, no. 7, pp. 4252–4260.

Рецензенты:

Горчаков В.Н., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией функциональной морфологии лимфатической системы, ФГБНУ «НИИ клинической и экспериментальной лимфологии», г. Новосибирск;

Поляков Л.М., д.м.н., профессор, заведующий лабораторией медицинской биотехнологии, ФГБНУ «НИИ биохимии», г. Новосибирск.