

© В.М.Брюханов, Я.Ф.Зверев, В.В.Лампатов, А.Ю.Жариков, О.В.Азарова, Ю.Г.Мотин, 2008
УДК 616.613-003.7:616.61-072.72]-092.4

В.М. Брюханов, Я.Ф. Зверев, В.В. Лампатов, А.Ю. Жариков, О.В. Азарова, Ю.Г. Мотин

ФУНКЦИЯ ПОЧЕК В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

V.M. Bryukhanov, Ya.F. Zverev, V.V. Lampatov, A.Yu. Zharikov, O.V. Azarova, Yu.G. Motin

FUNCTION OF THE KIDNEYS UNDER CONDITIONS OF EXPERIMENTAL OXALATE NEPHROLITHIASIS

Кафедры фармакологии и гистологии Алтайского государственного медицинского университета, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬЮ ИССЛЕДОВАНИЯ явилось изучение функции почек крыс в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Самцы крыс Wistar на протяжении 3 недель получали в виде питья 1%-ный раствор этиленгликоля. В моче, собранной за сутки, определяли концентрацию оксалата, кальция и фосфора, а также активность маркерных ферментов лактатдегидрогензы (ЛДГ), γ -глутамилтрансферазы (ГГТ) и N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы (НАГ). Гистохимически методом Косса на почечных срезах крыс определяли наличие кальций-позитивных отложений. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Ежедневное употребление крысами этиленгликоля сопровождалось развитием гипероксалурии, что обусловлено повышенным образованием в печени ионов оксалата и созданием оксалатного перенасыщения в канальцевой моче. В ходе экспериментов выяснилось, что ферментативная активность мочи на фоне этиленгликоля существенно увеличивалась. Активность НАГ выросла почти в 20 раз, ГГТ – в 3,7 раза. Активность ЛДГ, повышавшаяся к исходу первой недели в 7,5 раза, затем постепенно возвращалась к исходному уровню. Эти изменения свидетельствуют о повреждении мембран клеток канальцев, сопровождающемся цитолизом, а также о выраженном нарушении функции почечных канальцев. Морфологическое исследование срезов почек показало наличие многочисленных кальций-позитивных депозитов, локализованных в основном на поверхности почечного сосочка. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В результате экспериментов с длительным потреблением крысами этиленгликоля получены неопровержимые свидетельства развития кальций-оксалатного нефролитиаза. На это указывают развившиеся гипероксалурия, ферментурия и наличие кальций-позитивных включений на поверхности почечных сосочков. Перечисленные изменения являются признаками экспериментальной мочекаменной болезни у крыс.

Ключевые слова: этиленгликоль, нефролитиаз, функция почек.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study kidney functions in rats under conditions of experimental oxalate nephrolithiasis. **MATERIAL AND METHODS.** Male Wistar rats were given drinking water with 1% solution of ethylene glycol during 3 weeks. The concentration of oxalate, calcium and phosphorus was determined in daily urine. Activity of marker enzymes lactate dehydrogenase (LDG), γ -glutamyl transferase (GGT) and N-acetyl- β -D-glucosaminidase (NAG) was also determined. The presence of calcium-positive deposits on kidney slices was determined by the Koss histological method. **RESULTS.** Daily using ethylene glycol by rats was followed by the development of hyperoxaluria, which was due to increased formation of oxalate ions in the liver and appearance of oxalate supersaturation in tubule urine. In the experiments it was shown that enzymatic activation of urine against the background of ethylene glycol was substantially increased. Activity of NAG became 20 times higher, GGT – 3.7 times higher. LDG activity which had become 7.5 times higher by the end of the first week, then gradually returned to the initial level. These changes are evidence of injuries to the tubule cell membranes, followed by cytolysis and of pronounced impairment of the renal tubule function. Morphological investigation of kidney slices has detected numerous calcium-positive deposits localized mainly on the renal papilla surface. **CONCLUSION.** Experiments with continuous intake by rats of ethylene glycol have given an irrefutable proof of progression of calcium-oxalate nephrolithiasis. It points to the developed hyperoxaluria, fermenturia and the presence of calcium positive inclusions on the renal papilla surface. The above changes are signs of experimental urolithiasis in rats.

Key words: ethylene glycol, urolithiasis, kidney function.

ВВЕДЕНИЕ

Оксалатный нефролитиаз – наиболее часто встречающийся тип мочекаменной болезни (МКБ). В современном мире на его долю приходится более 50% пациентов, страдающих МКБ [1–3]. По-

этому проблема лечения и профилактики оксалатного нефролитиаза остается весьма актуальной, несмотря на появление в последние годы новых достаточно эффективных и радикальных методов разрушения и удаления мочевых конкрементов.

Тем не менее, эти методы не ликвидируют причину заболевания, что обуславливает продолжение поисков лекарственных средств, обеспечивающих возможности патогенетического лечения МКБ. Одной из предпосылок этого является создание адекватных моделей заболевания для изучения новых терапевтических подходов в условиях доклинических испытаний [4–9]. Целью настоящей работы явилось моделирование мочекаменной болезни у крыс с помощью этиленгликоля и исследование функции почек в условиях экспериментального кальций-оксалатного нефролитиаза.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проводились на самцах крыс Wistar, которые находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи в условиях стандартной диеты. В течение трех недель животные получали в виде питья 1%-й раствор этиленгликоля. Через каждые 7 дней производили суточный сбор мочи, в которой определяли показатели суточной экскреции ионов оксалата, фосфата и кальция. Оксалаты в моче определялись методом высокоэффективной жидкостной хроматографии (ВЭЖХ) с использованием в качестве элюентов 80%-го раствора ацетонитрила при градиенте от 0 до 100% и фосфатного буфера (pH=7). Детектирование проводилось при длине волны $\lambda=210$ нм. Для расчетов применялся калибровочный график, который строили, используя стандартный раствор оксалат-иона в концентрации 4 мг/мл. Определение фосфатов осуществляли методом фотоэлектрориметрии (ФЭК) при длине волны $\lambda=590$ нм. Методика основана на реакции образования фосфорно-молибдено-ванадиевого комплекса, который имеет характерную желтую окраску. Ионы кальция в моче определялись методом пламенной фотометрии.

Одновременно в моче производили измерение ферментативной активности. В качестве показателей были выбраны три фермента: лактатдегидрогеназа – ЛДГ (КФ1.1.1.27), γ -глутамилтрансфераза – ГГТ (КФ2.3.2.2), N-ацетил- β -D-глюкозаминидаза – НАГ (КФ3.2.1.52), которые являются типичными маркерами повреждения эпителия почечных канальцев. Активность ЛДГ определялась методом спектрофотометрии при длине волны $\lambda=340$ нм. В основе метода лежит реакция восстановления пирувата до молочной кислоты. Эта реакция катализируется ЛДГ, а ее скорость пропорциональна активности фермента. Каталитическая активность ГГТ, для измерения которой использовался метод ФЭК, рассчитывалась пропорционально количеству p-нитроанилина, образующегося в

результате реакции взаимодействия L- γ -глутамил-3-карбокси-4-нитроанилида и глицилглицина. Детектирование p-нитроанилина осуществляли на фотоэлектрориметре при длине волны $\lambda=400$ нм. Определение НАГ проводилось по модифицированной методике Maruch [10]. Согласно этой методике активность НАГ пропорциональна количеству p-нитрофенола, образующегося в результате реакции гидролиза p-нитро-N-ацетил- β -глюкозамида, которую катализирует указанный фермент. Измерение количества p-нитрофенола производилось спектрофотометрически при длине волны $\lambda=400$ нм. Активность всех определяемых ферментов рассчитывалась относительно концентрации креатинина в моче, выражавшейся в мг/л, и обозначалась в единицах, как У/мг креатинина.

Морфологическое исследование почек крыс производили с использованием светооптической микроскопии. В качестве фиксирующей жидкости применяли 10%-й раствор формалина. Для оценки изменений коркового и мозгового вещества почки срезы ткани толщиной 4–6 мкм окрашивали гематоксилином и эозином. На срезах толщиной 10–15 мкм гистохимическим методом Косса определяли наличие соединений кальция. В результате фиксируются отложения кальция черного цвета, ядра – красные, остальные тканевые структуры – розовые. Увеличение X100, X400.

Полученные результаты обрабатывали статистическим методом вариационных рядов с использованием критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Применение этиленгликоля привело к развитию у всех животных выраженного оксалатного нефролитиаза. Динамика экскреции с мочой исследуемых ионов представлена в табл. 1.

Из таблицы видно, что длительное потребление этиленгликоля приводило к существенному увеличению экскреции с мочой ионов оксалата. Уже к концу первой недели эксперимента выделение солей щавелевой кислоты в 2,3 раза превосходило исходный уровень. К окончанию же периода наблюдения экскреция оксалатов была выше контрольных значений более чем в 3 раза. Экскреция других фиксируемых ионов не изменялась столь существенно, хотя была подвержена довольно значительным колебаниям. По всей вероятности, последнее было обусловлено соответствующими колебаниями скорости клубочковой фильтрации (СКФ), зафиксированными по ходу эксперимента. Так, к концу второй недели наблюдения падение СКФ обусловило снижение экскреции всех определяемых ионов.

Таблица 1

Динамика экскреции ионов кальция, фосфора и оксалата у крыс в условиях приема этиленгликоля ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Исходные данные	Первая неделя	Вторая неделя	Третья неделя
Экскреция креатинина, мкм/сутки	9,8±1,19	7,7±1,85	5,0±0,56*	12,3±2,19
Экскреция кальция, мМ/сутки	2,5±0,43	3,5±0,77	1,4±0,30	1,9±0,23
Экскреция фосфора, мг/сутки	16,7±1,78	28,3±5,49	13,4±2,76	20,1±2,22
Экскреция оксалата, мг/сутки	28,4±3,97	66,0±11,5*	53,8±10,1*	91,8±13,5*

Примечание: здесь и в таблице 2 звездочками обозначены достоверные отличия от исходных данных.

Таблица 2

Динамика ферментурии у крыс в условиях приема этиленгликоля ($\bar{X} \pm m$)

Показатель	Исходные данные	Первая неделя	Вторая неделя	Третья Неделя
Экскреция креатинина, мкм/сутки	9,8±1,19	7,7±1,85	5,0±0,56*	12,3±2,19
Экскреция ЛДГ	0,32±0,02	2,42±0,21*	1,71±0,29*	0,38±0,08
Экскреция ГГТ	0,70±0,14	1,39±0,24*	2,60±0,28*	2,42±0,20*
Экскреция НАГ	0,0077±0,0021	0,13±0,013*	0,16±0,019*	0,13±0,018*

Примечание: количественные показатели экскреции всех ферментов даны в пересчете на экскрецию креатинина и приведены в единицах У/мг креатинина в сутки.

В табл. 2 представлены результаты изменения выделения из организма основных маркерных ферментов, показывающих наличие повреждения почечного эпителия, по ходу употребления крысами этиленгликоля. Из данных, представленных в таблице, следует, что применение этиленгликоля привело к развитию выраженной ферментурии. Уже к исходу первой недели эксперимента экскреция ЛДГ проявила наивысшую чувствительность в сравнении с другими ферментами, достигнув максимума. Затем в процессе адаптации почки к патологическим условиям активность лактатдегидрогеназы в моче постепенно снижалась и к окончанию третьей недели практически возвращалась к исходным значениям. Динамика ГГТ несколько отличалась. Для этого фермента было характерно менее интенсивное нарастание экскреции с мочой, когда через неделю после начала приема этиленгликоля этот показатель «лишь» в 2 раза превос-

ходил исходный уровень. Затем выделение γ -глутамилтрансферазы продолжало возрастать, превосходя исходные значения уже в 3,8 раза, и устанавливалось примерно на этом же уровне вплоть до конца периода наблюдения. Наиболее впечатляющий прирост был характерен для экскреции НАГ. Показатель активности этого фермента в моче, установившись к концу первой недели на уровне в 13–15 раз превышающем контрольный, сохранялся в этих пределах на протяжении всего эксперимента.

Таким образом, в экспериментах с длительным приемом крысами этиленгликоля было зафиксировано резкое увеличение экскреции с мочой таких маркерных ферментов, как лактатдегидрогеназа, γ -глутамилтрансфераза и N-ацетил- β -D-глюкозаминидаза, что свидетельствует о значительных нарушениях функции почек. Косвенно это может указывать и на прогрессирование мочекаменной болезни.

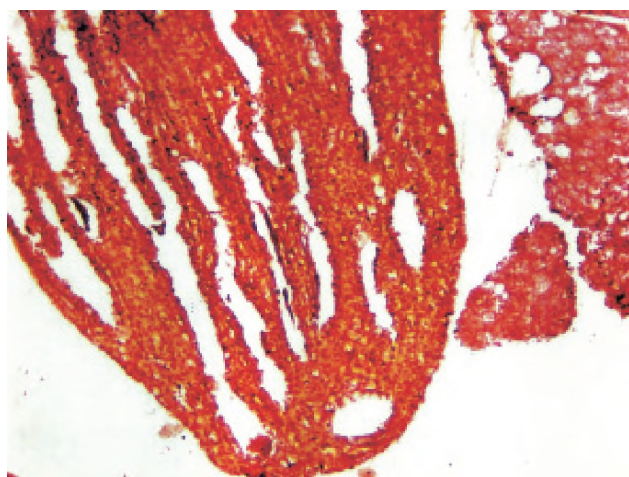


Рис. 1. Вершина почечного сосочка. Негативная реакция на соединения кальция. Окраска по методу Косса. $\times 200$.

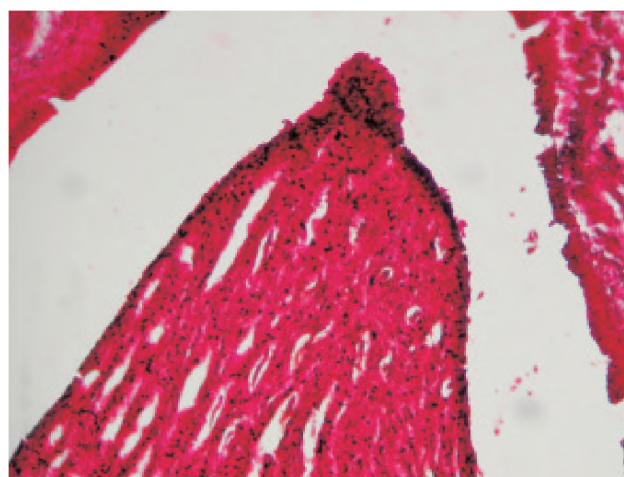


Рис. 2. Скопление кальциевых депозитов на поверхности эпителия и на вершине почечного сосочка. Слущенный эпителий и белковые депозиты в просвете собирательных трубок. Окраска по методу Косса. $\times 200$.

Прямые доказательства развития нефролитиаза в ходе наших экспериментов были получены в результате морфологического исследования. На рис. 1 представлен срез почки интактной крысы, на котором достоверного наличия кальциевых депозитов не выявляется. На рис. 2 представлен типичный срез почки крысы, на протяжении трех недель потреблявшей этиленгликоль. На срезе отмечено наличие «кальций-позитивного материала» (до 100 и более включений в поле зрения) неправильной формы, часто с выпячиваниями в интерстиций коркового и мозгового вещества почки с преимущественной локализацией в интерстиции почечного сосочка, на вершине сосочка по поверхности эпителия. В единичных случаях отмечено наличие «кальций-позитивного материала» в просвете собирательных трубок. Средний размер Са-позитивных включений составил $10,1 \pm 2,79$ мкм.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что одним из основных звеньев патогенеза мочекаменной болезни является образование в почечных каналах нерастворимых соединений, которые при определенных изменениях физико-химических условий окружающей среды, накапливаясь, могут связываться между собой и формировать крупные кристаллы (камни), повреждающие стенки каналов. При этом более 80% всех почечных камней состоят из нерастворимых солей кальция, чаще всего представленных оксалатом. Поэтому при моделировании нефролитиаза создаются такие экспериментальные условия, которые провоцируют усиленное образование в почках соли CaC_2O_4 . Одним из таких условий является вторичная искусственная гипероксалурия. По современным представлениям вторичная гипероксалурия может возникать в результате применения этиленгликоля [11,12]. Этиленгликоль – это низкомолекулярный двухатомный спирт, одним из продуктов метаболизма которого является оксалат-ион. Попадая в организм, этиленгликоль окисляется до глиоксалевой кислоты, из которой затем образуется оксалат-ион. Этот процесс протекает в цитоплазме и пероксисомах гепатоцитов, где катализируется двумя разными ферментами: лактатдегидрогеназой и гликолатоксидазой соответственно [12,13]. Поэтому хроническое применение данного вещества приводит к развитию вторичной гипероксалурии.

Проведенные нами эксперименты показали, что в условиях длительного непрерывного употребления крысами 1%-го раствора этиленгликоля происходит значительное увеличение экскреции оксалатов с мочой. Исходя из полученных результа-

тов, можно с полным основанием полагать, что резкое увеличение выделения оксалатов из организма (гипероксалурия) обусловило создание их высокой концентрации в просвете почечных канальцев вплоть до сверхнасыщения, что, в свою очередь, обеспечило условия для выпадения кристаллов и последующего образования камней.

Как известно, существуют механизмы гормональной регуляции обмена фосфора и кальция. Поэтому мы изначально предполагали, что на фоне употребления крысами этиленгликоля, который не влияет прямо на этот обмен, скорее всего не произойдет существенных изменений динамики кальцийуреза. Это предположение подтвердилось в ходе наших экспериментов – все изменения почечной экскреции фосфора и кальция носили недостоверный характер, хотя выделение этих ионов из организма и подвергалось колебаниям. Тем не менее, проведенные опыты показали, что количество ионов Ca^{2+} , выделяющегося за сутки с мочой в условиях длительного непрерывного употребления крысами этиленгликоля, вполне достаточно, чтобы прореагировать с повышенным количеством оксалата и образовать нерастворимую соль CaC_2O_4 в почечных каналах. Наши расчеты показали, что согласно стехиометрии данной реакции для связывания 90 мг оксалат-иона, т.е. того количества, которое характеризует максимальный уровень гипероксалурии в наших экспериментах, необходимо лишь 1,02 ммоль ионов кальция, а мы зафиксировали значения, колебавшиеся в диапазоне 1,4 – 3,5 ммоль/сутки.

Важно отметить, что изменения экскреторной активности почек крыс на фоне этиленгликоля сопровождалось увеличением ферментативной активности мочи. Одним из ключевых ферментов, позволяющих оценить функциональное состояние нефрона, является N-ацетил-β-D-глюкозаминидаза. Активность этого фермента локализована в лизосомах. При этом НАГ, имея достаточно большую молекулярную массу (130–160 kDa), в норме практически не проникает через базальную мембрану и не обнаруживается в моче [14]. Эти данные нашли подтверждение и в наших экспериментах – в контроле активность НАГ была очень незначительна. Однако уже к исходу первой недели употребления крысами этиленгликоля она возросла многократно и затем на протяжении всего эксперимента оставалась на неизменно высоком уровне. Учитывая, что выделение лизосомальных ферментов в мочу может происходить без нарушения целостности плазматической мембраны клеток канальцев, т.е. путем внутриклеточной секреции и экзоцитоза, активность НАГ в моче может свиде-

тельствовать в первую очередь о функциональном нарушении почек [14–20]. Поэтому мы полагаем, что зафиксированная в ходе наших опытов повышенная активность данного фермента объясняется серьезной дисфункцией почечных канальцев.

В ходе наших экспериментов наблюдалось увеличение активности в моче еще одного фермента – γ -глутамилтрансферазы. Подобная картина наблюдалась и другими авторами [16, 21, 22]. Гамма-глутамилтрансфераза – мембранносвязанный фермент, который встречается во многих паренхиматозных органах. Однако наибольшее его количество обнаруживается в почках. Отметим, что в условиях ежедневного употребления крысами этиленгликоля наблюдался существенный последовательный рост активности ГГТ на протяжении всего опыта, что, по-видимому, обусловлено повреждением мембран клеток почечных канальцев, возникающим в наших экспериментальных условиях.

Картину изменения ферментативной активности мочи крыс на фоне этиленгликоля дополняет динамика активности лактатдегидрогеназы. Оказалось, что первая неделя эксперимента сопровождалась почти пятикратным увеличением таковой, что может свидетельствовать о значительном цитолизе клеток канальцев, поскольку ЛДГ – это цитозольный фермент, и в моче его повышенная активность наблюдается лишь в условиях разрушения клеток. Усиление высвобождения ЛДГ из клеточных культур под влиянием кристаллов оксалата и повышение активности фермента в моче *in vivo* в условиях оксалатного нефролитиаза так же было зафиксировано рядом исследователей [15, 23–26]. Однако, начиная со второй недели употребления крысами этиленгликоля, активность ЛДГ поступательно снижалась, и в результате к концу опытов она уменьшилась до контрольных значений. По всей видимости, это объясняется тем, что процесс цитолиза постепенно ослабевает, вероятно, в результате активизации защитных систем, предотвращающих разрушение клетки.

Таким образом, исходя из анализа полученных результатов, можно предположить, что на фоне ежедневного употребления крысами этиленгликоля возникает вторичная гипероксалурия, что, по-видимому, обусловлено повышенным образованием ионов оксалата в результате метаболизма этиленгликоля в печени, которые в большинстве своем выделяются из организма с мочой. Как следствие этого, в нефроне возникало выраженное повреждение клеточных мембран, сопровождающееся цитолизом на ранних этапах эксперимента. Все это проявлялось существенным нарушением функции

клеток почечных канальцев. Развитие нефролитиаза подтвердилось в ходе гистохимического исследования срезов почек крыс, получавших этиленгликоль. Множественные кальций-позитивные депозиты выявлялись главным образом на поверхности почечного сосочка, что полностью соответствует обычной локализации кристаллов оксалата как у людей, так и у экспериментальных животных [4, 6, 16, 19].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате экспериментов с длительным потреблением крысами этиленгликоля получены неопровержимые свидетельства развития у всех использованных животных кальций-оксалатного нефролитиаза. На это указывают развившиеся гипероксалурия, ферментурия и наличие кальций-позитивных включений на поверхности почечных сосочков. Перечисленные изменения являются признаками экспериментальной мочекаменной болезни у крыс.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Тиктинский ОЛ, Александров ВП. *Мочекаменная болезнь*. Питер, СПб., 2000; 3-12
2. Coe FL, Evan A, Worcester E. Kidney stone disease. *J Clin Invest* 2005; 115 (10): 2598-2608
3. Daudon M. Epidemiology of nephrolithiasis in France. *Ann Urol (Paris)* 2005; 39 (6):209-231
4. Khan SR, Hackett RL. Calcium oxalate urolithiasis in the rat: is it a model for human stone disease? A review of recent literature. *Scan Electron Microsc* 1985; Pt 2: 759-774
5. Kumar S, Sigmon D, Miller T et al. A new model of nephrolithiasis involving tubular dysfunction/injury. *J Urol* 1991; 146 (5): 1384-1389
6. Khan SR. Animal models of kidney stone formation: an analysis. *World J Urol* 1997; 15 (4): 236-243
7. Hennequin C, Tardivel S, Medetognon J et al. A stable animal model of diet-induced calcium oxalate crystalluria. *Urol Res* 1998; 26 (1): 57-63
8. Bushinsky DA, Asplin JR, Grynpas MD et al. Calcium oxalate stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2002; 61: 975-987
9. Khan SR, Glenton PA, Byer KJ. Modeling of hyperoxaluric calcium oxalate nephrolithiasis: experimental induction of hyperoxaluria by hydroxyl-L-proline. *Kidney Int* 2006; 70 (5): 914-923
10. Maruch D. Rapid colorimetric assay of β -galactosidase and N-acetyl- β -glucosaminidase in human urine. *Clin Chim Acta* 1976; 73 : 453-446
11. Thamilselvan S, Hackett RL, Khan SR. Lipid peroxidation in ethylene glycol induced hyperoxaluria and calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 1997; 157 (3): 1059-1063
12. Green ML, Hatch M, Freel RW. Ethylene glycol induces hyperoxaluria without metabolic acidosis in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F536-F543
13. Poore RE, Hurst CH, Assimosis DG, Holmes RP. Pathways of hepatic oxalate synthesis and their regulation. *Am J Physiol* 1997; 1: 289-294
14. Бабаева НИ, Липицкая ИЯ, Творогова МГ, Титов ВИ. Диагностическое значение исследования активности N-ацетил- β -D-глюкозаминидазы в моче (обзор литературы). *Лаб дело* 1991; 1: 9-16
15. Фидиркин АВ, Неймарк АИ, Звягинцев ЕН, Симонова ОГ. Экскреция оксалатов и активность некоторых фер-

ментов мочи у лиц, страдающих мочекаменной болезнью. В: *Перспективные методы функциональной диагностики*. Барнаул, 1994; 132

16. de Water R, Boeve ER, van Miert PP et al. Experimental nephrolithiasis in rats: the effect of ethylene glycol and vitamin D₃ on the induction of renal calcium oxalate crystals. *Scanning Microsc* 1996; 10 (2): 591-601

17. Bazzi C, Petrini C, Rizza V et al. Urinary N-acetyl- β -glucosaminidase excretion is a marker of tubular cell dysfunction and a predictor of outcome in primary glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17 (11): 1890-1896

18. Sikora P, Glatz S, Beck BB et al. Urinary NAG in children with urolithiasis, nephrocalcinosis, or risk of urolithiasis. *Pediatr Nephrol* 2003; 18 (10): 996-999

19. Yamaguchi S, Wiessner JH, Hasegawa AT et al. Study of a rat model for calcium oxalate crystal formation without severe renal damage in selected conditions. *Int J Urol* 2005; 12 (3): 290-298

20. Skalova S, Kutilek S. Renal tubular impairment in children with idiopathic hypercalciuria. *Acta Medica (Hradec Kralove)* 2006; 49 (2): 109-111

21. Muthukumar A, Selvan R. Renal injury mediated calcium

oxalate nephrolithiasis: role of lipid peroxidation. *Ren Fail* 1997; 19 (3): 401-408

22. Veena CK, Josephine A, Preetha SP et al. Renal peroxidative changes mediated by oxalate: the protective role of fucaidan. *Life Sci* 2006; 79 (19): 1789-1795

23. Thamilselvan S, Hackett RL, Khan SR. Cells of proximal and distal tubular origin respond differently to challenges of oxalate and calcium oxalate crystals. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10 [Suppl 14]: S452-S456

24. Thamilselvan S, Khan SR, Menon M. Oxalate and calcium oxalate mediated free radical toxicity in renal epithelial cells: effect of antioxidants. *Urol Res* 2003; 31 (1): 3-9

25. Rashed T, Menon M, Thamilselvan S. Molecular mechanism of oxalate-induced free radical production and glutathione redox imbalance in renal epithelial cells: effect of antioxidants. *Am J Nephrol* 2004; 24 (5): 557-568

26. Green ML, Freel RW, Hatch M. Lipid peroxidation is not the underlying cause of renal injury in hyperoxaluric rats. *Kidney Int* 2005; 68 (6): 2629-2638

Поступила в редакцию 19.12.2007 г.

Принята в печать 19.02.2008 г.