

ОРИГИНАЛЬНЫЕ СТАТЬИ Экспериментальные исследования

ORIGINAL ARTICLES Experimental investigations

© Я.Ф. Зверев, Ю.Г. Мотин, О.Н. Мазко, Н.А. Мозгунова, Н.В. Мотина, 2023
УДК [616.61-02-08.277.3]-092.4

doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-2-102-108

ОСОБЕННОСТИ РАЗВИТИЯ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ НЕФРОПАТИИ У КРЫС ПРИ ПРИМЕНЕНИИ ДОКСОРУБИЦИНА

*Яков Федорович Зверев¹✉, Юрий Григорьевич Мотин², Олеся Николаевна Мазко³,
Наталья Александровна Мозгунова⁴, Наталья Владимировна Мотина⁵*

^{1, 3, 4} Кафедра фармакологии им. проф. В.М.Брюханова Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия;

² кафедра судебной медицины имени профессора В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом дополнительного профессионального образования, Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия;

⁵ кафедра биологии, гистологии, эмбриологии и цитологии, Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

¹ zver@agmu.ru. ORCID: 0000-0002-8101-103X

² y.gmotin@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4282-6401

³ olesia.mazko@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7299-4516

⁴ nataliamn1992@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0472-8747

⁵ motinan@gmail.com. ORCID: 0000-0002-1799-3390

РЕФЕРАТ

ВВЕДЕНИЕ. Одной из наиболее часто воспроизводимых моделей нефротоксического синдрома (НС) является доксорубициновая (адриамициновая) нефропатия у крыс. Однако механизмы ее развития остаются недостаточно исследованными, и не конца понятно, к какой форме НС следует относить индуцируемую доксорубицином нефротоксичность. **ЦЕЛЬ:** воспроизведение доксорубициновой нефропатии у крыс в попытке морфологического идентифицирования возникшей патологии и определения роли процесса свободно-радикального окисления (СРО) в развитии данной модели нефротоксичности. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** Нефропатию воспроизводили однократным внутривенным введением доксорубицина самцам крыс линии Вистар. В моче определяли содержание креатинина, суточную протеинурию, выделение альбумина. Гистологическое исследование почек производили с использованием электронного микроскопа Libra 120 (CarlZeiss, Германия). В крови и почке оценивали общую прооксидантную активность, общую антиоксидантную активность, концентрацию тиобарбитуратреактивных продуктов, активность антиоксидантных ферментов. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** На фоне постепенного снижения скорости клубочковой фильтрации регистрировалось значительное последовательное увеличение экскреции белка, во многом обеспечиваемое ростом экскреции альбумина. Электронно-микроскопическое исследование выявило уменьшение количества малых (ножковых) отростков подоцитов, их слияние, склеротическое поражение элементов капиллярного клубочка, истончение ГБМ, склероз интерстиция. Наблюдалась резкая активация ОПА крови и рост содержания ТБРП. При этом активировались такие быстрореагирующие антиоксидантные ферменты, как КАТ и СОД. Показатель ОАА крови снижался параллельно уменьшению активности ГПО. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Внутривенное введение доксорубицина крысам индуцировало развитие токсического поражения почек с признаками НС. Характерным показателем явилось развитие ПУ на фоне снижения СКФ с 5-го дня и многократно увеличившейся к концу периода наблюдения. Наибольший вклад в развитие ПУ внесло повышение экскреции альбумина. Морфологическое исследование почек с помощью электронной микроскопии позволило с большой долей вероятности сделать вывод о сходстве развившейся патологии и ФСГС. Одновременно была зафиксирована активация СРО, развившаяся в значительном прооксидантном действии и существенном снижении антиоксидантной активности крови. **Ключевые слова:** доксорубициновая нефропатия, протеинурия, свободно-радикальное окисление, фокально-сегментарный гломерулосклероз

Для цитирования: Зверев Я.Ф., Мотин Ю.Г., Мазко О.Н., Мозгунова Н.А., Мотина Н.В. Особенности развития экспериментальной нефропатии у крыс при применении доксорубицина. *Нефрология* 2023;27(2):102-108. doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-2-102-108

FEATURES OF THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL NEPHROPATHY IN RATS DURING THE USE OF DOXORUBICIN

*Yakov F. Zverev¹✉, Yury G. Motin², Olesya N. Mazko³, Natalya A. Mozgunova⁴,
Natalya V. Motina⁵*

^{1, 3, 4} Department of Pharmacology. prof. V.M. Bryukhanov, Altai State Medical University, Barnaul, Russia;

² Department of Forensic Medicine named after Professor V.N. Kryukov and pathological anatomy with a course of additional professional education, Altai State Medical University, Barnaul, Russia;

⁵ Department of Biology, Histology, Embryology and Cytology, Altai State Medical University, Barnaul, Russia

¹zver@agmu.ru. ORCID: 0000-0002-8101-103X

²y.gmotin@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4282-6401

³olesia.mazko@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7299-4516

⁴nataliamn1992@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0472-8747

⁵motinan@gmail.com. ORCID: 0000-0002-1799-3390

ABSTRACT

BACKGROUND. One of the most frequently reproduced models of NS is doxorubicin (adriamycin) nephropathy in rats. However, the mechanisms of its development remain insufficiently studied, and it is not entirely clear to which form of NS the nephrotoxicity induced by doxorubicin should be attributed. **THE AIM.** Reproduction of doxorubicin nephropathy in rats in an attempt to morphologically identify the resulting pathology and determine the role of free radical oxidation (FRO) in the development of this model of nephrotoxicity. **MATERIALS AND METHODS.** Nephropathy was reproduced by a single intravenous administration of doxorubicin to male Wistar rats. In the urine, the content of creatinine, daily proteinuria, and albumin release were determined. Histological examination of the kidneys was performed using a Libra 120 electron microscope (Carl Zeiss, Germany). The total prooxidant activity, total antioxidant activity, the concentration of thiobarbiturate-reactive products, and the activity of antioxidant enzymes were assessed in the blood and kidney. **RESULTS.** Against the background of a gradual decrease in the glomerular filtration rate, a significant consistent increase in protein excretion was recorded, largely due to an increase in albumin excretion. Electron microscopic examination revealed a decrease in the number of small (foot) processes of podocytes, their fusion, sclerotic lesions of the elements of the capillary glomerulus, thinning of the GBM, sclerosis of the interstitium. There was a sharp activation of blood OPA and an increase in the content of TBRP. At the same time, such fast-responding antioxidant enzymes as CAT and SOD were activated. The blood TAA decreased in parallel with the decrease in GPO activity. **CONCLUSION.** Intravenous administration of doxorubicin to rats induced the development of toxic kidney damage with signs of NS. A characteristic indicator was the development of PU against the background of a decrease in GFR from day 5 and increased many times by the end of the observation period. The greatest contribution to the development of PU was made by an increase in albumin excretion. Morphological examination of the kidneys using electron microscopy made it possible to conclude with a high degree of probability that the developed pathology and FSGS are similar. At the same time, FRO activation was recorded, which was expressed in a significant pro-oxidant effect and a significant decrease in the antioxidant activity of the blood.

Keywords: Doxorubicin nephropathy, proteinuria, free radical oxidation, focal segmental glomerulosclerosis

For citation: Zverev Ya.F., Motin Yu.G., Mazko O.N., Mozgunova N.A., Motina N.V. Features of the development of experimental nephropathy in rats during the use of doxorubicin. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2023;27(2):102-108. (In Russ.) doi: 10.36485/1561-6274-2023-27-2-102-108

ВВЕДЕНИЕ

Нефротоксический эффект противоопухолевого доксорубина (адриамицина) позволил использовать его для моделирования нефротического синдрома (НС) у грызунов [1]. С начала применения этого антрациклинового антибиотика для воспроизведения НС у крыс [2, 3] предприняты усилия для выяснения его патогенеза и адекватности заболеваний человека [4–7]. И хотя нефротоксический эффект доксорубина изучен не до конца, для его объяснения выдвинуты ряд гипотез. Возможно, цитотоксичность является следствием ингибирования репликации ДНК, мембранотоксического эффекта, активации апоптоза. Показано, что препарат стимулирует процессы свободно-радикального окисления с последующим повреждением ДНК [8–10]. При этом в почке развивается процесс, по функциональным и морфологическим признакам идентичный картине первичного НС.

НС представляет собой симптомокомплекс, характеризующийся протеинурией (ПУ), гипоальбуминемией, гиперлипидемией и отеками в результате повышения проницаемости клубочкового фильтрационного барьера (КФБ). Гистологический подход относит к формам первичного НС мембранозную нефропатию (МН), болезнь

минимальных изменений (БМИ) и фокально-сегментарный гломерулосклероз (ФСГС).

Целью настоящей работы явилось воспроизведение доксорубициновой нефропатии у крыс в попытке морфологического идентифицирования возникшей патологии и определения роли процесса свободно-радикального окисления (СРО) в развитии данной модели нефротоксичности.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа проведена на 28 крысах-самцах линии Вистар массой около 400 г. Животные находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи, при свободном доступе к воде и пище. Условия содержания соответствовали требованиям Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей (г. Страсбург, 1986)» и Федерального закона РФ «О защите животных от жестокого обращения» от 01.01.1997 г.

В моче животных, собранной за сутки, с помощью биохимического анализатора DIRUI CS-T240 определяли концентрацию белка, креатинина, альбумина, основных электролитов и ферментов. После определения исходных показателей в хвостовую вену 15 крыс вводили доксорубин в

дозе 5 мг/кг (ООО «ЛЭНС-Фарм»), после чего на протяжении 25 дней периодически производили анализ мочи.

На 26-й день эксперимента после декапитации брали одну из почек для гистологического исследования. Отбирали фрагменты коркового вещества почки, содержащие хорошо различимые клубочки, готовили полутонкие срезы толщиной 1 мкм для изучения под световым микроскопом и выбирали участки ткани для исследования в электронном микроскопе. На ультратоме Leica EM UC 7 получали ультратонкие срезы толщиной 55 нм и изучали в электронном микроскопе Libra 120 («CarlZeiss», Германия) при ускоряющем напряжении 120 кВ с последующим фотографированием при увеличении от 1985 до 20 000.

Кроме того, в крови и почке крыс (13 здоровых крыс служили контролем) биохимическими методами оценивали показатели СРО: общую проокислительную активность (ОПА), общую антиокислительную активность (ОАА), концентрацию тиобарбитуратреактивных продуктов (ТБРП), активность антиокислительных ферментов каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО).

Для статистической обработки использовались компьютерные программы Microsoft Office Excel 2003 («Microsoft Corporation», США) и Sigma-Stat 3.5 («Systat Software Inc.», США). Для сравнения данных использовали непараметрический критерий Манна–Уитни, различия считали статистически значимыми при $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ

В таблице 1 представлены изменения состава мочи по ходу развития доксорубициновой нефропатии у крыс. Из таблицы видно, что введение антибиотика сопровождалось кратковременным

падением на 44 % суточного мочеотделения через сутки после инъекции. Этот эффект, по-видимому, был обусловлен уменьшением скорости клубочковой фильтрации (СКФ), которая, судя по экскреции креатинина, снизилась в этот период на 25 %. Параллельно фиксировалось уменьшение экскреции белка на 29 %. Затем СКФ постепенно восстанавливалась, что сопровождалось отчетливым повышением ПУ, начиная с 5–8-го дня после введения доксорубицина, с превышением исходного уровня экскреции белка в 8,5 раза. Нарастая, ПУ достигала максимума и сохранялась на стабильно-высоком уровне до конца периода наблюдения, превосходя его уже в 35 раз. При этом в наибольшей степени происходило увеличение альбумина. Нарастание ПУ регистрировалось на фоне начавшегося с 15-го дня существенного падения СКФ. Особенно ярко это проявилось в динамике рассчитанного нами коэффициента экскреции белка/экскреция креатинина, величина которого последовательно увеличивалась к концу периода наблюдения, превосходя исходный уровень в 38 раз. Начиная с 15-го дня, зафиксирован постепенный рост суточного мочеотделения, который после снижения в первые сутки в результате падения СКФ увеличивался, превосходя к 25-му дню исходный уровень на 60 %. Не исключено, что этот эффект обусловлен вовлечением в патологический процесс к окончанию эксперимента почечных канальцев, что привело на фоне снижения СКФ к некоторому снижению реабсорбции.

Существенных изменений экскреции электролитов и ферментов с мочой на протяжении эксперимента не наблюдалось.

На рисунке 1 показана ультраструктура КФБ здоровой крысы. Из рисунка следует, что структура КФБ не имеет особенностей. Капиллярная петля не склерозирована, размеры фенестр эндотели-

Таблица 1 / Table 1

Экскреторная функция почек у крыс в процессе развития доксорубициновой нефропатии Excretory function of the kidneys in rats during the development of doxorubicin nephropathy

Показатели	Исходные данные	Дни эксперимента					
		1-й	5–8-й	10–12-й	15-й	20-й	25-й
Диурез, мл/сут	4,1 ± 0,45	2,3 ± 0,24*	2,9 ± 0,49	4,0 ± 0,54	5,0 ± 0,41*	6,7 ± 0,77*	6,6 ± 0,85*
Экскреция креатинина, мкм/сут	104 ± 4,1	78 ± 5,9*	85 ± 8,4	97 ± 7,6	99 ± 6,1	82 ± 4,8*	77 ± 4,6*
Экскреция белка, мг/сут	1,4 ± 0,06	1,0 ± 0,08*	12,1 ± 2,87*	29,3 ± 5,60*	50,2 ± 4,88*	50,6 ± 5,43*	47,9 ± 3,80*
Экскреция альбумина, мг/сут	0,3 ± 0,02	0,4 ± 0,04*	8,6 ± 2,01*	23,4 ± 3,88*	37,4 ± 4,72*	38,5 ± 4,76*	37,1 ± 3,76*
Экскреция <u>белка</u>	0,016 ± 0,0009	0,015 ± 0,0015*	0,203 ± 0,0449*	0,351 ± 0,0518*	0,449 ± 0,0435*	0,551 ± 0,0450*	0,607 ± 0,0481*
Экскреция креатинина							

* Достоверные изменения по отношению к исходному уровню ($p < 0,05$).

Note: Asterisks indicate significant changes in relation to the initial level ($p < 0.05$).

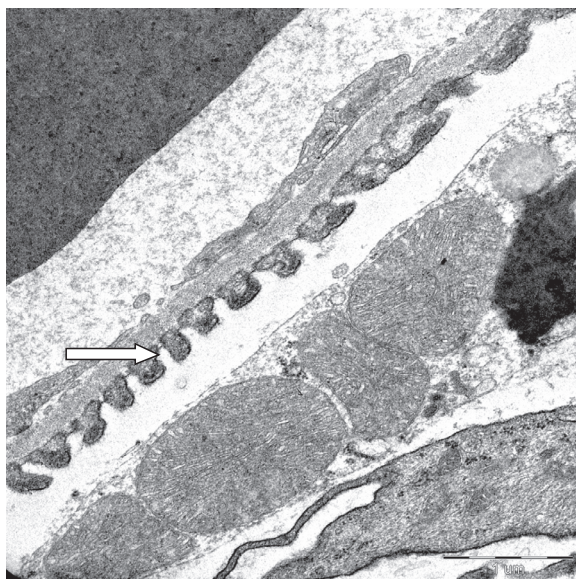


Рисунок 1. Ультраструктура КФБ почки у крысы контрольной группы. Капиллярная петля выстлана фенестрированным эндотелием. Структура ГБМ сохранена. Отростки подоцитов (стрелка) располагаются дискретно под одинаковым углом к продольной оси ГБМ, фильтрационные щели хорошо выражены. Тело подоцита содержит многочисленные органеллы. Электронограмма, контрастирование уранил-ацетатом и свинца цитратом; Zeiss, Libra 120. Ув. 6300 (масштабный отрезок 1 мкм)

Figure 1. Ultrastructure of a rat kidney GFB from the control group. The capillary loop is lined with fenestrated endothelium. The structure of the GBM is preserved. The processes of podocytes are located discretely at the same angle to the longitudinal axis of the GBM, the filtration gaps are well defined. The podocyte body contains numerous organelles. TEM, contrasting with uranyl acetate and lead citrate; Zeiss, Libra 120. x6300 (scale bar 1 μ m).

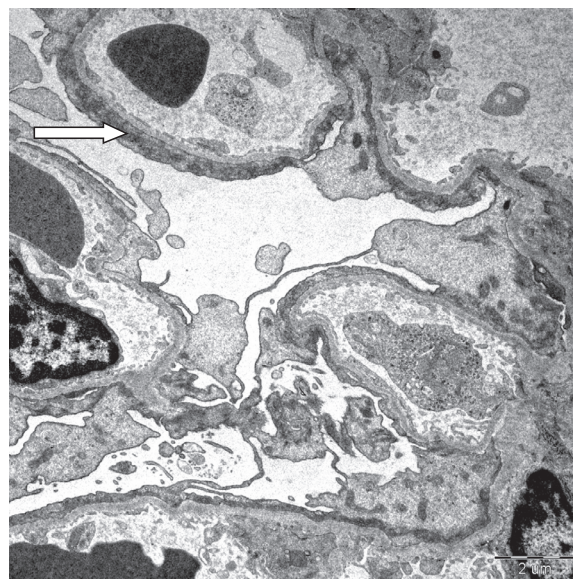


Рисунок 2. Ультраструктура почки у крысы с доксорубициновой нефропатией. Нарушение ультраструктуры КФБ: диффузное распластывание и слияние ножковых отростков подоцитов (стрелка) с агрегацией элементов цитоскелета. Фильтрационные щели отсутствуют. Набухание цитоплазмы подоцитов. В просвете капиллярных петель одиночные форменные элементы. Электронограмма, контрастирование уранил-ацетатом и свинца цитратом; Zeiss, Libra 120. Ув. 1985 (масштабный отрезок 2 мкм).

Figure 2. Ultrastructure of a rat kidney with doxorubicin nephropathy. Violation of the GFB ultrastructure: diffuse spreading and fusion of podocyte foot processes with aggregation of cytoskeletal elements. There are no filtration gaps. Swelling of the podocyte cytoplasm. In the lumen of the capillary loops there are single uniform elements. TEM, contrasting with uranyl acetate and lead citrate; Zeiss, Libra 120. x1985 (scale bar 2 μ m).

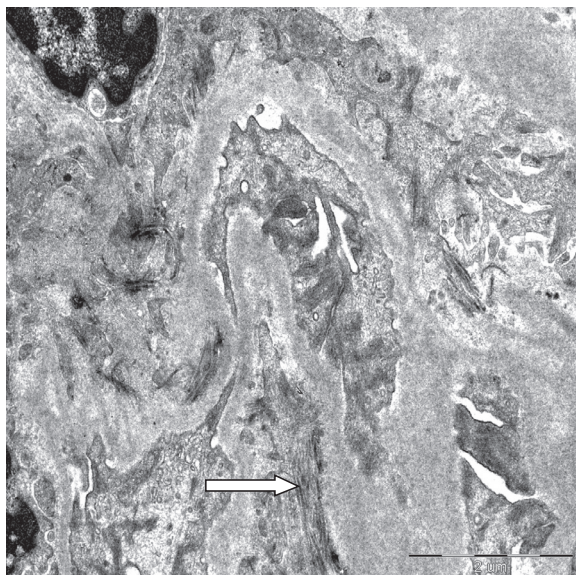


Рисунок 3. Признаки склероза мезангия в почках крыс с доксорубициновой нефропатией. Склерозирование капиллярных петель. Пучки коллагеновых фибрилл (стрелка) в мезангии и по ходу ГБМ. Электронограмма, контрастирование уранил-ацетатом и свинца цитратом; Zeiss, Libra 120. Ув. 4000 (масштабный отрезок 2 мкм).

Figure 3. Signs of mesangial fibrosis in the kidneys of rats treated with doxorubicin nephropathy. Sclerosis of capillary loops. Bundles of collagen fibrils in the mesangium and along the GBM. TEM, contrasting with uranyl acetate and lead citrate; Zeiss, Libra 120. x4000 (scale bar 2 μ m).

альных клеток – в пределах возрастной нормы, ГБМ ровная. Морфометрия позволила рассчитать среднюю толщину ГБМ, которая составила 235 нм (221; 246), морфологическая структура сохранена. Подоциты характеризовались электронно-контрастной цитоплазмой, признаков повреждения клеток не определялось.

На рисунке 2 представлены изменения КФБ на 25-й день после инъекции доксорубина. Морфометрия показала резкое уменьшение количества малых отростков подоцитов: в пересчете на 10 мкм длины ГБМ их число снизилось с 28,2 (21,3; 34,5) до 6,0 (4,1; 8,8). Зафиксировано истончение средней толщины ГБМ на 23,5%, которая составила 179 нм (164; 198). Прослеживаются субтотальные участки распластывания и слияния ножковых отростков. Это обусловило значительное увеличение их ширины с 431 (376; 486) до 1749 нм (1289; 2070). Наблюдались villous transformation podocytes, уменьшение количества органелл в цитоплазме, набухание митохондрий с просветлением матрикса, нарушением ориентации крист.

На рисунке 3 видны признаки сегментарного

Таблица 2 / Table 2

Показатели свободно-радикального окисления в крови и почках в процессе развития доксорубициновой нефропатии
Indicators of free-radical oxidation in the blood and kidneys during the development of doxorubicin nephropathy

Группа	ТБРП, мкм/г	ОПА, %	ОАА, %	КАТ, %	СОД, %	ГПО, %
К Р О В Ь						
Контроль (n=11)	2,6±0,26	51,6±3,69	67,9±0,90	15,6±0,69	24,8±2,53	57,8±2,04
Опыт (n=14)	4,1±0,54*	97,7±0,49*	38,3±6,87*	32,6±1,12*	34,2±3,03*	17,7±1,42*
П О Ч К А						
Контроль (n=10)	7,3±0,40	54,3±2,36	20,9±2,69	13,2±0,66	19,6±2,48	45,2±1,89
Опыт (n=14)	6,4±0,81	55,4±3,51	10,8±3,35*	66,6±3,46*	16,9±2,48	36,8±1,61*

Примечание. ТБРП – тиобарбитуратреактивные продукты; ОПА – общая прооксидантная активность; ОАА – общая антиоксидантная активность; КАТ – каталаза; СОД – супероксиддисмутаза; ГПО – глутатион пероксидаза; n – количество животных. * Достоверные изменения по отношению к контролю (p<0,05).

Note: ТБРП – thiobarbiturate reactive products of fatty acid oxidation; ОПА – total prooxidant activity; ОАА – total antioxidant activity; КАТ – catalase; СОД – superoxide dismutase; ГПО – glutathione peroxidase; n is the number of animals; asterisks indicate significant changes in relation to control (p<0.05).

склеротического поражения капиллярного клубочка, участки плазматического пропитывания мезангия, расширение мезангиального матрикса с пучками коллагеновых фибрилл, явления мезангиальной пролиферации.

В таблице 2 представлены показатели СРО в крови и почках крыс через 25 дней после введения доксорубицина в сравнении с таковыми у здоровых крыс. Из таблицы видно, что инъекция антибиотика привела к резкой активации ОПА крови к концу эксперимента, показатель которой вырос почти вдвое. На это же указывает и рост на 58% содержания ТБРП (p<0,05). Стимуляция прооксидантной активности крови, по-видимому, обусловила активацию ряда быстрореагирующих антиоксидантных ферментов, таких как КАТ и СОД (увеличение в 2,1 раза и на 38% соответственно). Показатель же ОАА в крови снизился в 1,8 раза параллельно с резким снижением содержания ГПО (в 3,3 раза), что, возможно, связано с подавлением активности глутатиона.

Значительно менее выраженные изменения наблюдались в почечном гомогенате. Однонаправленные с кровью изменения были зафиксированы лишь в показателях антиоксидантной активности, выразившиеся в существенном снижении ОАА и ГПО и резком увеличении активности КАТ. Что касается прооксидантной активности, ее значительного изменения в данный период времени зарегистрировано не было.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате инъекции доксорубицина у крыс была воссоздана почечная патология с характеристиками, свойственными НС. Нараставшая ПУ указывает на токсическое воздействие этого антибиотика на проницаемость КФБ. Известно, что не-

фротоксический эффект доксорубицина проявляется, начиная с 5-го дня после его внутривенного введения. Это эффект обусловлен повреждением эндотелия клубочковых капилляров, повышением проницаемости ГБМ, морфологии и функционирования подоцитов.

Развитие ПУ при доксорубициновой нефропатии может быть обусловлено целым рядом причин, обеспечивающих повышение проницаемости КФБ. Среди них изменение заряда протеогликанов, ограничивающих проницаемость эндотелиальных клеток, повреждение отрицательно заряженных цепей гепарансульфата ГБМ, слияние ножковых отростков подоцитов, что приводит к нарушению функции щелевидной диафрагмы [11]. Не исключено, что ранняя экскреция с мочой альбумина, наблюдавшаяся нами, обусловлена существенной потерей сиалопротеинов в первые часы после инъекции доксорубицина [5]. В экспериментах на мышах его введение значительно увеличивало почечный клиренс альбумина в сочетании с уменьшением толщины эндотелиального поверхностного слоя, существенной потерей зарядной и размерной селективности КФБ [12].

Нефротоксическое действие доксорубицина у крыс подтверждает и гистологическое исследование. Показано, что при НС, индуцируемом антибиотиком, развивается почечное повреждение, минимальное к 7-му дню, умеренное – к 14-му дню и тяжелое – к 21-му и 28-му дню [7, 13]. При световой микроскопии выявляются слабо выраженное интерстициальное воспаление, неравномерная вакуолизация эпителия канальцев и интерстициальный фиброз. При электронной микроскопии одним из основных признаков является слияние ножковых отростков подоцитов, уменьшение субподоцитарных пространств и ис-

чезновение фильтрационных щелей. А потеря селективности фильтрационного барьера обуславливает внутриклубочковое накопление макромолекул с последующим увеличением содержания мезангиального матрикса и развитием гломерулосклероза [5].

В нашем исследовании благодаря электронной микроскопии удалось выявить склероз капиллярных петель, пучки коллагеновых фибрилл в мезангии, признаки мезангиальной пролиферации, протяженные участки распластывания и слияния ножковых отростков подоцитов с агрегацией в них элементов цитоскелета. Зафиксированные нами изменения позволяют сделать вывод о морфологической картине, соответствующей ФСГС по типу верхушечного повреждения (tip-lesion) со слабой мезангиальной гиперклеточностью без явлений атрофии канальцев коркового вещества почек. Этот вывод совпадает с мнением ряда исследователей относительно доксорубициновой модели нефропатии [4–6,14].

Как уже отмечалось, нефротоксичность доксорубицина у крыс может быть обусловлена активацией СРО и образованием активных форм кислорода (АФК), хотя некоторые исследователи сомневаются в этом [15]. Показано, что АФК вовлечены в процесс повреждения подоцитов и ПУ, а значительная часть механизмов нефротоксичности тесно связаны с окислительным стрессом (ОС). Существует мнение, что, наряду с воспалением и апоптозом, ОС является базисным механизмом индуцированной доксорубицином нефротоксичности [7, 16]. Во время ОС эндотелиальный гликокаликс является основным местом воздействия циркулирующих АФК. Так что потеря эндотелиального гликокаликса ведет к эндотелиальной дисфункции [17]. Источники АФК весьма разнообразны и могут достигать клубочков как с током крови, так и генерироваться внутриклеточно. Выяснилось, что АФК прямо деполимеризуют гликокаликс, а у крыс с доксорубициновой нефропатией применение скавенджера свободных радикалов на 37% снижало альбуминурию [18].

В нашем исследовании были зафиксированы явные признаки активации СРО при применении доксорубицина. Наблюдалось значительное увеличение прооксидантной активности на фоне существенного снижения ОАА. Увеличение содержания ТБРП свидетельствует о повышении в крови содержания АФК. По-видимому, повышение в крови активности таких антиоксидантных ферментов, как КАТ и СОД, следует рассматривать как ответную реакцию на ОС. Снижение же антиоксидантной активности крови, вероятно,

связано со снижением содержания глутатиона, на что указывает резкое уменьшение активности ГПО. Столь существенных изменений в процессах СРО в почечном гомогенате через 25 дней после инъекции доксорубицина выявить не удалось.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Внутривенное введение доксорубицина в дозе 5 мг/кг самцам крыс индуцировало развитие токсического поражения почек с признаками, свойственными НС. Наиболее характерным показателем явилось развитие на фоне постепенного снижения СКФ ПУ, начавшейся с 5-го дня после инъекции антибиотика и многократно увеличившейся к концу периода наблюдения. При этом наибольший вклад в развитие ПУ внесло повышение экскреции с мочой альбумина. Морфологическое исследование почек с доксорубициновой нефропатией с помощью электронной микроскопии позволило с большой долей вероятности сделать вывод о сходстве развившейся патологии и ФСГС. Одновременно была зафиксирована активация СРО, выразившаяся в значительном прооксидантном действии и существенном снижении антиоксидантной активности крови.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ REFERENCES

1. Саенко ЮВ, Шутов АМ, Мусина РХ. К механизму токсического действия доксорубицина на почки. *Нефрология* 2006;10(4):72–76. doi: 10.24884/1561-6274-2006-10-4-72-76
Saenko YuV, Shutov AM, Musina RKh. On the mechanism of toxic effect of doxorubicin on the kidneys. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2006;10(4):72–76. (In Russ.) doi: 10.24884/1561-6274-2006-10-4-72-76
2. Bucciarelli E, Binazzi R, Santori P, Vaspasiani G. Nephrotic syndrome in rats due to adriamycin chlorhydrate. *Lav Ist Anat Istol Patol Univ Studi Perugia* 1976;36(2):53–69
3. Bertani T, Poggi A, Pozzani R et al. Adriamycin-induced nephrotic syndrome in rats: sequence of pathologic events. *Lab Invest* 1982;46(1):16–23
4. Lee WVS, Harris DCH. Adriamycin nephropathy: A model of focal segmental glomerulosclerosis. *Nephrology* 2011;16:30–38. doi: 10.1111/j.1440-1797.2010.01383.x
5. Pereira WF, Brito-Melo GEA, de Almeida CAS et al. The experimental model of nephrotic syndrome induced by doxorubicin in rodents: an update. *Inflamm Res* 2015;64:287–301. doi: 10.1007/s00011-015-0813-1
6. de Mik SML, Hoogduijn MJ, de Bruin RW, Dor FJMF. Pathophysiology and treatment of focal segmental glomerulosclerosis: the role of animal models. *BMC Nephrology* 2013;14:74. doi: 10.1186/1471-2369-14-74
7. Wang C, Liang J, Yang W et al. Ultra-performance liquid chromatography-Q-exactive orbitrap-mass spectrometry analysis for metabolic communication between heart and kidney in adriamycin-induced nephropathy rats. *Kidney Blood Press Res* 2022;47:31–42. doi: 10.1159/000519015
8. Саенко ЮВ, Напалкова СМ, Шутов АМ, Брынских ГТ. Фармакологическая коррекция оксидативного стресса, индуцированного доксорубицином, в почках крыс. *Нефрология* 2005;9(1):69–74. doi: 10.24884/1561-6274-2005-9-1-69-74
Saenko YuV, Napalkova SM, Shutov AM, Brynskikh GT. Pharmacological correction of doxorubicin-induced oxidative stress in

kidneys of rats. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2005;9(1):69–74. (In Russ.)] doi: 10.24884/1561-6274-2005-9-1-69-74

9. Селиванова ОС, Напалкова СМ. Изменение функциональных показателей и выраженности оксидативного стресса в условиях доxorубинового поражения почек у крыс на фоне применения глицина. *Ульяновский медико-биологический журнал* 2011;3:117–124

Selivanova OS, Napalkova SM. Amelioration of doxorubicin-induced renal functional changes and oxidative stress by glycine in rats. *Ulyanovsk Medical Biological Journal* 2011;3:117–124. (In Russ)]

10. Okasora T, Takikawa T, Utsunomiya Y et al. Suppressive effect of superoxide dismutase on adriamycin nephropathy. *Nephron* 1992;60(2):199–203. doi: 10.1159/000186739

11. Зверев ЯФ, Рыкунова АЯ. Нарушения клубочкового фильтрационного барьера как причина протеинурии при нефротическом синдроме. *Нефрология* 2019;23(4):96–111. doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-4-96-111

Zverev YaF, Rykunova AY. Disorders of glomerular filtration barrier as the cause of proteinuria in the nephrotic syndrome. *Nephrology (Saint-Petersburg)* 2019;23(4):96–111. (In Russ.) doi: 10.24884/1561-6274-2019-23-4-96-111

12. Jeansson B, Björck K, Tenstad O, Haraldsson B. Adriamycin alters glomerular endothelium to induce proteinuria. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:114–122. doi: 10.1681/ASN.2007111205

13. Zoja C, Bautista Garcia P, Rota C et al. Mesenchymal stem cell therapy promotes renal repair by limiting glomerular podocyte and progenitor cell dysfunction in adriamycin-induced nephropathy. *Am J Physiol Renal Physiol* 2012;303(9):F1370–F1381. doi: 10.1152/ajprenal.00057.2012

14. Kriz W. The pathogenesis of 'classic' focal segmental glomerulosclerosis – lessons from rat models. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18(Suppl6):vi39–vi44. doi: 10.1093/ndt/gfg1064

15. Morgan WA, Kaler B, Bach PH. The role of reactive oxygen species in adriamycin and menadione-induced glomerular toxicity. *Toxicol Lett* 1998;94:209–215. doi: 10.1016/s0378-4274(98)00024-1

16. Fukuda F, Kitada M, Horie T, Awazu S. Evaluation of adriamycin-induced lipid peroxidation. *Biochem Pharmacol* 1992;44(4):755–760. doi: 10.1016/0006-2952(92)90413-d

17. Singh A, Ramnath RD, Foster RR et al. Reactive oxygen species modulate the barrier function of the human glomerular endothelial glycocalyx. *PLoS One* 2013;8(2):e55852. doi: 10.1371/journal.pone.0055852

18. Raats CJL, Bakker MAH, van den Born J, Berden JHM. Hydroxyl radicals depolymerize glomerular heparan sulfate in vitro and in experimental nephrotic syndrome. *J Biol Chem* 1997;272(42):26734–26741. doi: 10.1074/jbc.272.42.26734

Сведения об авторах:

Проф. Зверев Яков Федорович, д-р мед. наук
656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Алтайский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии им. проф. В.М. Брюханова. Тел.: (3852)566-891, E-mail: zver@agmu.ru. ORCID: 0000-0002-8101-103X

Проф. Мотин Юрий Григорьевич, д-р мед. наук
656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Алтайский государственный медицинский университет, кафедра судебной медицины им. проф. В.Н. Крюкова и патологической анатомии; врач-патологоанатом Краевой клинической больницы. Тел.: (3852)689-689, E-mail: y.gmotin@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4282-6401

Доц. Мазко Олеся Николаевна, канд. биол. наук
656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Алтайский государственный медицинский университет, кафедра фармако-

логии им. проф. В.М. Брюханова. Тел.: (3852)566-891, E-mail: olesia.mazko@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7299-4516

Мозгунова Наталья Александровна
656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Алтайский государственный медицинский университет, кафедра фармакологии им. проф. В.М. Брюханова, аспирант. Тел.: (3852)566-891, E-mail: nataliamn1992@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0472-8747

Доц. Мотина Наталья Владимировна, канд. мед. наук
656038, Россия, г. Барнаул, пр. Ленина, д. 40. Алтайский государственный медицинский университет, кафедра биологии, гистологии, эмбриологии и цитологии. Тел.: (3852)566-927, E-mail: motinan@gmail.com. ORCID: 0000-0002-1799-3390

About the authors:

Prof. Yakov F. Zverev MD, PhD, DMedSci
Affiliation: 656038, Russia, Barnaul, Lenin avenue, 40. Altai State Medical University, Department of Pharmacology prof. V.M. Bryukhanov. Phone: (3852)566-891, E-mail: zver@agmu.ru. ORCID: 0000-0002-8101-103X

Prof. Yury G. Motin, MD, PhD, DMedSci
Affiliation: 656038, Russia, Barnaul, Lenin avenue, 40. Altai State Medical University, Department of Forensic Medicine prof. V.N. Kryukov and Pathological Anatomy; Altai Regional Clinical Hospital, pathologist. Phone: (3852)689-689, E-mail: y.gmotin@gmail.com. ORCID: 0000-0003-4282-6401

Assoc. prof. Olesya N. Mazko PhD, Cand. Biol. Sci.
Affiliation: 656038, Russia, Barnaul, Lenin avenue, 40. Altai State Medical University, Department of Pharmacology prof. V.M. Bryukhanov. Phone: (3852)566-891, E-mail: olesia.mazko@yandex.ru. ORCID: 0000-0001-7299-4516

Graduate student Natalya A. Mozgunova
Affiliation: 656038, Russia, Barnaul, Lenin avenue, 40. Altai State Medical University, Department of Pharmacology prof. V.M. Bryukhanov. Phone: (3852)566-891, E-mail: nataliamn1992@gmail.com. ORCID: 0000-0003-0472-8747

Assoc. prof. Natalya V. Motina MD, PhD
Affiliation: 656038, Russia, Barnaul, Lenin avenue, 40. Altai State Medical University, Department of Biology, histology, embryology and cytology. Phone: (3852)566-927, E-mail: motinan@gmail.com. ORCID: 0000-0002-1799-3390

Вклад авторов: все авторы сделали одинаковый вклад в подготовку публикации.

Contribution of the authors: the authors contributed equally to this article.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
The authors declare that there is no conflict of interest.

Статья поступила в редакцию 28.04.2022;
одобрена после рецензирования 10.09.2022;
принята к публикации 10.04.2023.
The article was submitted 28.04.2022;
approved after reviewing 10.09.2022;
accepted for publication 10.04.2023.