

© А.Ю.Жариков, В.М.Брюханов, Я.Ф.Зверев, В.В.Лампатов, 2008
УДК 616.613-003.7.001.57

А.Ю. Жариков¹, В.М. Брюханов¹, Я.Ф. Зверев¹, В.В. Лампатов¹

СОВРЕМЕННЫЕ МЕТОДЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

A.U. Garicov, V.M. Bruhanov, Ya.F. Zverev, V.V. Lampatov

CURRENT METHODS OF MODELING OF OXALATE NEPHROLYTHIASIS

¹ Кафедра фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г.Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

Настоящий обзор литературы посвящен современным методам моделирования оксалатного нефролитиаза. На сегодняшний день наиболее актуальными являются этиленгликолевая и гидроксипролиновая модели оксалатного нефролитиаза в различных вариациях. Кроме того, существуют методики, в которых в качестве основных реагентов выступают растворы оксалат-иона в сочетании с нефротоксичными веществами. Иногда нефролитиаз моделируют при помощи имплантированных под кожу миниинфузоматов, которые напрямую дозируют в кровотоки экспериментальных животных раствор щавелевой кислоты; а также путем резекции части тонкого кишечника. При моделировании оксалатного нефролитиаза важное внимание уделяется подбору лабораторных животных. Чаще всего используют нормальных крыс различных линий, а также крыс с врожденной гиперкальциурией. При этом предпочтительно использование самцов животных, поскольку у них вероятность развития нефролитиаза выше, чем у самок.

Ключевые слова: моделирование нефролитиаза, этиленгликоль, оксалат ион.

ABSTRACT

This literature review deals with modern methods of oxalate nephrolythiasis modeling. For this day the most actual models of oxalate are ethilenglycolic and hydroxyproline nephrolythiasis in various modifications. Besides that, there are methods in which as a basic agents act the solutions of oxalate-ion in combination with nephrotoxic agents. Sometimes nephrolythiasis is modeled with the use of intercutaneous minipumps, which directly dose into the blood stream of experimental animal models the oxalate sorrel solution; and also by resection of the part of small bowel. In modeling of the oxalate nephrolythiasis great attention is given to the animal models choice. More often the normal rats of various lines are used, and also the rats with congenital hypercalciuria. Also, it is preferable to use the male animals, because of the possibility of nephrolythiasis development is higher than in female animals.

Key words: nephrolythiasis modeling, ethilenglycol, oxalate ion.

В современной нефрологии профилактика и медикаментозная терапия мочекаменной болезни (МКБ) является одной из основных задач. Несмотря на достигнутые в последние годы успехи в этом направлении, поиск эффективных и безопасных лекарственных препаратов продолжается. Одной из главных предпосылок результативного решения этой проблемы являются адекватные экспериментальные модели МКБ, которые позволяют проводить доклинические испытания лекарственных средств в условиях, максимально приближенных к таковым в человеческом организме при нефролитиазе. Поэтому разработке подобных моделей всегда уделялось очень серьезное внимание. Настоящий обзор посвящен анализу литературных данных об используемых моделях МКБ в мировой экспериментальной медицине.

Как известно, важнейшим звеном патогенеза МКБ является появление в моче, протекающей по канальцам нефрона, высоких концентраций нерастворимых химических соединений, которые затем выпадают в осадок, образуют конгломераты, что и провоцирует развитие нефролитиаза. Почечные камни могут различаться по химическому строению, однако большинство из них представляют собой кальциевую соль щавелевой кислоты (CaC_2O_4), поэтому наиболее часто встречающаяся клиническая формой МКБ – это так называемый оксалатный нефролитиаз [1]. На основании этих данных мы решили сфокусировать свое внимание на методиках моделирования оксалатной формы мочекаменной болезни.

Первые попытки смоделировать оксалатный нефролитиаз были предприняты еще в начале 60-х годов [2, 3]. Основная идея, положенная в основу экспериментов, заключалась в создании гиперок-

Зверев Я.Ф. 656038, г.Барнаул, пр.Ленина, 40. Алтайский медицинский университет. тел. (3852) 26-08-35, E-mail: zver@asmu.ru

салурии у лабораторных животных при помощи этиленгликоля. Этиленгликоль (ЭГ) – это низкомолекулярный двухатомный спирт, одним из метаболитов которого в организме является оксалат ион. В целом схему биотрансформации ЭГ в организме можно представить следующим образом. На первом этапе происходит окисление спирта до гликолевого альдегида, который затем в ходе дальнейшего окисления образует глиоксалевую кислоту. С этого момента цепь реакций раздваивается, поскольку в гепатоцитах метаболизм глиоксалевой кислоты проходит в двух разных органеллах – митохондриях и пероксисомах. В митохондриях глиоксидат необходим для синтеза глицина, гликолевой кислоты и пирувата. Однако часть его в неизменном виде попадает в цитоплазму, где под действием фермента лактатдегидрогеназы превращается в оксалат ион. В пероксисомах же глиоксидат напрямую окисляется до щавелевой кислоты. Эта реакция катализируется другим энзимом – гликолатоксидазой [4, 5]. В результате описанных процессов синтезируется довольно большое количество ионов $C_2O_4^{2-}$, которые затем попадают в кровоток и выводятся из организма через почки, создавая в нефроне высокую концентрацию оксалата, вплоть до сверхнасыщения. В этих условиях происходит активное взаимодействие анионов щавелевой кислоты с кальцием, следствием чего становится образование нерастворимых соединений CaC_2O_4 , которые и создают первичные условия для развития нефролитиаза.

Таким образом, этиленгликоль представляет собой весьма удобное средство для моделирования оксалатной формы МКБ. Техника моделирования нефролитиаза в первые годы исследований основывалась на том, что животным (крысы) в качестве питья предоставлялся раствор этиленгликоля. При этом концентрации указанного раствора и время исследований варьировали в зависимости от экспериментальных условий. По разным данным концентрация раствора ЭГ колебалась в диапазоне 0.5-1.5%, а длительность опытов в среднем составляла от двух до шести недель [6]. С одной стороны, это позволяло получить неплохие результаты. Но с другой стороны, сразу же появились первые трудности. Оказалось, что зачастую использование ЭГ в низких концентрациях не приводит к формированию нефролитиаза. Так, например, в 1985 году группа японских исследователей во главе с Y. Okada во время экспериментов на крысах на протяжении 4-х недель использовала в качестве питья 0.5%-ный раствор ЭГ. И несмотря на то, что для усиления эффекта к ЭГ добавлялся 1- α -(ОН)-эргокальциферол, формирование почеч-

ных камней наблюдалось всего у 77.3% животных [7]. Схожие результаты были получены в исследованиях, проведенных учеными университета Роттердама (Нидерланды) в 1996 году. По условиям эксперимента 4 группы крыс в виде питья получали 0.5%, 0.75%, 1% и 1.5%-ные растворы этиленгликоля соответственно. Оказалось, что лишь начиная с 0.75%-ной концентрации ЭГ, наблюдалось достоверное развитие нефролитиаза, а при использовании 0.5%-ного раствора образование камней фиксировалось только у части животных. Таким образом, был сделан вывод, что при моделировании оксалатного нефролитиаза необходимо использовать ЭГ в концентрациях не меньше 0.75% [8]. Относительно длительности эксперимента четких зависимостей выявлено не было. Однако чаще всего величина этого показателя составляла 4-6 недель. В наших экспериментах животные получали в виде питья 1%-ный раствор ЭГ в течение трех недель. В результате у всех крыс наблюдались характерные признаки развития оксалатного нефролитиаза [9-11]. Так что, сегодня этиленгликолевая модель МКБ остается одной из наиболее распространенных [12-14]. Важно отметить, что, по мнению ряда весьма авторитетных исследователей, описываемая модель адекватно воспроизводит нефролитиаз человека, возникающий на фоне первичной гипероксалурии [15, 16]. По-видимому, это обусловлено близостью процессов метаболизма щавелевой кислоты у человека и крысы, что позволяет проследить сходство патогенетических звеньев развития заболевания у обоих видов [17]. И у пациентов, страдающих оксалатным нефролитиазом, и у гипероксалурических крыс образующиеся камни локализованы в области почечного сосочка и состоят из органического матрикса, тесно связанного с кальциевыми солями. При этом состав матрикса идентичен и включает сходный набор макромолекул, регулирующих процесс камнеобразования [18].

Согласно представлениям ряда исследователей, гипероксалурия не является решающим фактором в формировании МКБ. По их мнению, пусковым механизмом данного патологического процесса является повреждение эпителия почечных канальцев, возникающее вследствие различных причин [19-23]. Не вдаваясь в анализ разгоревшейся сегодня в литературе дискуссии по этому поводу, отметим лишь возникшую в этом контексте идею усовершенствовать этиленгликолевую модель нефролитиаза. По замыслу некоторых авторов совместно с ЭГ необходимо использовать вещества, обладающие способностью провоцировать повреждение нефроцитов. В начале 90-х годов было пред-

ложено использовать в качестве такого вспомогательного средства хлорид аммония [24-26]. Идея заключалась в том, что NH_4Cl при попадании в почечные каналы вызывает ацидоз, который вполне может являться одним из факторов, приводящих к дисфункции почечного эпителия. Эта идея была успешно реализована. На сегодняшний день модель нефролитиаза, в которой сочетается ЭГ с хлоридом аммония, является весьма популярной [27, 28]. По последним данным, датированным октябрём 2007 года, эта модель характеризовалась следующими условиями. Крысы, находившиеся в индивидуальных клетках при температуре $22 \pm 2^\circ\text{C}$, имели свободный доступ к стандартной пище и воде. После трех дней, предоставленных на акклиматизацию, на протяжении последующих десяти дней в качестве питья им предоставлялся 0.75%-ный раствор этиленгликоля совместно с 2%-ным раствором NH_4Cl , после чего проводился биохимический анализ крови и морфологическое исследование почечной ткани. В результате у всех экспериментальных животных были обнаружены признаки развития оксалатного нефролитиаза [29]. Сходные данные были получены ранее и другими исследователями [25]. Необходимо отметить, что существуют различные вариации данной методики. Так, например, ряд авторов предлагает ограничить совместное применение ЭГ и хлорида аммония тремя днями, а затем на протяжении трех недель давать крысам только этиленгликоль [30]. Некоторые авторы использовали NH_4Cl меньшей концентрации (1%) [31]. Однако подобные разновидности экспериментальных условий встречаются не столь часто.

Довольно широкое распространение получила модель оксалатного нефролитиаза, в которой этиленгликоль сочетается с витамином D или его синтетическими аналогами [8, 32]. Введение эргокальциферола позволяет создать в просвете почечных канальцев высокую концентрацию ионов кальция, поскольку этот витамин, как известно, усиливая всасывание Ca^{2+} в кишечнике и активируя резорбцию костей, повышает содержание катиона в крови, что неизбежно ведет к усилению его выведения из организма. Кроме того, кальциферол ингибирует обратное всасывание кальция в нефроне. В условиях вызванной ЭГ гиперкальциемии это может способствовать более активному образованию оксалатных камней и развитию нефролитиаза. Тем не менее, данная модель имеет ряд технических сложностей, главная из которых заключается в том, что эргокальциферол нерастворим в воде. Это означает, что его совместное употребление с ЭГ в виде питья весьма проблематично,

поскольку довольно сложно соблюсти точность дозирования витамина. Поэтому чаще прибегают к инъекционному способу введения препарата. В качестве примера практической реализации описываемой модели приведем методику, предложенную Лондонским институтом урологии и нефрологии. Самцы крыс Sprague-Dawley были разбиты на четыре группы: контрольная группа; группа, в которой крысы получали только 0.5%-ный раствор ЭГ; группа, где животным внутривентрально вводился 1,25-дигидроксихолекальциферол в дозе 50 нг/кг веса; и группа, в которой 0.5%-ный раствор ЭГ сочетался с введением аналога витамина D. Длительность эксперимента варьировала от 1 до 3 недель. Результаты эксперимента показали, что на фоне совместного применения ЭГ и 1,25-дигидроксихолекальциферола развитие МКБ идет более активно, чем в иных условиях [33].

Существуют и другие разновидности этиленгликолевой модели нефролитиаза. В 2006 году были опубликованы результаты экспериментов, полученные нефрологами университета Вероны (Италия). В течение трехнедельного употребления крысами в качестве питья 0.5%-ного раствора ЭГ на 7-й и 14-й дни опытов животным внутривентрально вводился гексахлор-1,3-бутадион, который еще известен как «промышленный нефротоксин». В результате было зафиксировано активное формирование почечных камней, в то время как в контрольной группе, где крысам токсин не вводился, признаков нефролитиаза не наблюдалось [34].

Таким образом, этиленгликолевая модель оксалатного нефролитиаза в различных ее вариациях является на сегодняшний день одной из самых распространенных, что можно объяснить простотой методик и надежностью результата. Тем не менее, она не лишена недостатков. В первую очередь, к таковым следует отнести высокую токсичность ЭГ и его метаболитов для организма животных (нефротоксичность, метаболический ацидоз, гепатотоксичность) [35]. Кроме того, ЭГ при попадании в организм образует целый ряд близких по химическому строению метаболитов, что в значительной степени затрудняет дифференцированную детекцию ионов оксалата в моче во время экспериментов и может приводить к искажению результатов. Поэтому в последние годы стали появляться новые методики моделирования МКБ, направленные на оптимизацию экспериментальных условий.

В ряду таких методик одно из главных мест занимает модель, в которой в качестве прекурсора щавелевой кислоты предложено использовать аминокислоту гидрокси-L-пролин. Во-первых, эта аминокислота имеет минимальную токсичность.

Во-вторых, гидрокси-L-пролин является специфическим предшественником оксалата. Попадая в митохондрии гепатоцитов, 4-гидрокси-L-пролин метаболизируется до 4-гидрокси-2-кетоглутарата, который затем под действием фермента 4-гидрокси-2-кетоглутарат алдолаза переходит в глиоксалевую кислоту. Последняя в цитоплазме подвергается энзиматическому окислению до щавелевой кислоты [4]. Поэтому гидрокси-L-пролин вполне может вызвать в условиях эксперимента гипероксалурию. Это предположение подтверждено экспериментальными наблюдениями [36, 37]. В качестве примера данной модели приведем методику ученых медицинского университета г. Ганесвилл (Флорида, США). Самцы крыс Sprague-Dawley были разделены на две экспериментальные группы, в которых животные в виде питья получали 5%-ный раствор гидрокси-L-пролина. По истечении 42 дней в первой группе аминокислота применялась еще на протяжении трех недель, тогда как во второй группе гидрокси-L-пролин из рациона был удален. Ежедневно собиралась моча, которая анализировалась на содержание креатинина, кальция, оксалата, лактатдегидрогеназы, 8-изопростана и пероксида водорода. На 28-й, 42-й и 63-й дни почки части животных использовались для морфологического исследования. Результаты эксперимента показали, что у всех крыс к окончанию 42-дневного периода выявлялись характерные признаки развития нефролитиаза: гипероксалурия, кристаллурия оксалата кальция, существенное повышение почечной экскреции лактатдегидрогеназы, 8-изопростана и H_2O_2 . При этом гистологическое исследование почек выявило наличие множественных кальцийпозитивных депозитов. В дальнейшем на 63-й день в первой группе картина нефролитиаза сохранялась, тогда как в группе сравнения все показатели возвращались к исходному уровню, а отложение кристаллов CaC_2O_4 наблюдалось только у половины животных [38]. Эти данные наглядно демонстрируют эффективность гидрокси-L-пролина в качестве нефролитиазформирующего реагента.

Таким образом, гидроксипролиновая модель оксалатного нефролитиаза имеет ряд несомненных достоинств. К таковым можно отнести специфичность реагента, а также отсутствие системного токсического действия на организм животных. Однако в этой методике имеются и недостатки. В первую очередь – это длительный характер эксперимента: 7-10 недель.

Характеризуя другие модели оксалатного нефролитиаза, отметим, что некоторые исследователи предлагают использовать в качестве основного реагента не прекурсоры щавелевой кислоты,

а непосредственно оксалат ион. Так, в 1991 году американскими учеными из лаборатории S.R.Khan была предложена очередная методика моделирования экспериментальной МКБ. На протяжении 10 дней в стандартный рацион питания крыс добавлялся 3%-ный раствор оксалата аммония. Одновременно в течение 8 дней животным вводили нефротоксичный антибиотик гентамицин в дозе 40 мг/кг с целью вызвать повреждение эпителия почечных канальцев. В результате было зарегистрировано достоверное развитие нефролитиаза, причем авторами отмечается быстрота формирования МКБ – в пределах 14 дней [39]. Данный факт, несомненно, можно отнести к достоинствам методики. Отметим, что описанная модель не теряет своего значения и в современной исследовательской практике, с той лишь разницей, что некоторые авторы вместо оксалата аммония использовали оксалат натрия, а также несколько увеличивали длительность эксперимента – до 4-х недель [40, 41].

Принципиально новая модель нефролитиаза была разработана в США в 2004 году. Согласно этой методике, самцам крыс Harlan-Sprague Dawley подкожно были имплантированы осмотические мининасосы. В экспериментальной группе эти мининасосы на протяжении двух недель непрерывно дозировали в кровоток 1.5 М раствор оксалата калия в дозе 360 мкМ/час. В контроле использовался фосфатный буфер. Сбор суточной мочи осуществлялся перед началом введения, а также на 4-й, 7-й, и 14-й дни опыта, после чего в ней регистрировались биохимические показатели (экскреция креатинина, оксалат иона и кристаллов оксалата кальция), а также проводились морфологические и генетические исследования. Результаты исследований показали, что в экспериментальной группе наблюдалось увеличение диуреза и усиление почечной экскреции $C_2O_4^{2-}$. Кроме того, на четвертый день развивалась кристаллурия, а по истечении двух недель регистрировалось отложение кальцийпозитивных депозитов. При этом обратная транскриптазно-полимеразно цепная реакция и Northern blot анализ выявили усиление экспрессии в тканях почки рецепторов фактора некроза опухоли, остеопонтина и так называемой молекулы почечного повреждения. На основании этих данных авторы позиционируют модель как одну из наиболее надежных [42, 43].

Для полноты картины необходимо упомянуть еще о двух описанных моделях оксалатного нефролитиаза, отмечая при этом, что они носят несколько специфический характер и не получили широкого распространения. Первая была создана для изучения механизмов формирования МКБ у пациентов

с резекцией тонкой кишки. С этой целью у 16 крыс была удалена часть дистального отдела подвздошной кишки длиной 40–45 см, после чего они на протяжении 4–7 месяцев находились в условиях специфической диеты, включавшей 1%-ный раствор натрия оксалата и 0.02%-ный раствор ионов кальция. В результате у животных наблюдались признаки развития нефролитиаза: гипероксалурия и кальциевые отложения на срезах почек [44, 45]. В основу другой модели была положена идея изучить влияние экспериментальной гиперкальциурии на формирование оксалатного нефролитиаза при нормальном физиологическом уровне экскреции $\text{C}_2\text{O}_4^{2-}$. С этой целью 20 самцов крыс Wistar в течение семи подготовительных дней находились в условиях диеты, содержащей 30%-ный раствор сахарозы. Затем животные были разделены на две группы: контрольная, в которой употребление сахарозы сохранялось, и экспериментальная, где рацион питания был заменен на 30%-ный раствор лактозы. Опыт длился 8 недель. Было обнаружено, что употребление лактозы приводит к значительному увеличению экскреции ионов кальция с мочой и развитию кристаллурии, тогда как в контрольной группе таких изменений зафиксировано не было. На основании этих данных авторы предполагают, что длительное употребление 30%-ного раствора лактозы приводит к формированию оксалатного нефролитиаза [46]. Последнее, однако, нам представляется недостаточно убедительным, поскольку в указанной работе не были проведены морфологические исследования тканей почек, а также были изучены не все основные биохимические параметры, что не позволяет объективно судить о развитии МКБ.

Таким образом, резюмируя вышесказанное, отметим, что на сегодняшний день наиболее точными, и поэтому часто применяемыми моделями оксалатного нефролитиаза являются этиленгликолевая модель в различных ее вариациях, и модель, основанная на использовании гидрокси-L-пролина.

При моделировании оксалатного нефролитиаза важную роль играет подбор лабораторных животных. Согласно литературным данным, чаще всего в этом процессе используются нормальные крысы разных линий (Wistar, Sprague Dawley и др.), которые позволяют получить неплохие результаты. Тем не менее, все большее внимание уделяется крысам, которые специально выведены для моделирования нефролитиаза. В первую очередь к таковым относятся крысы с врожденной гиперкальциурией (Genetic hypercalciuric stone-forming rats, GHS). Эти животные характеризуются повышенным выделением ионов кальция из организма,

экскреция которого превышает нормальные значения в 8–10 раз [47]. Селекция крыс GHS осуществляется путем скрещивания нормальных Sprague Dawley крыс с более высоким уровнем экскреции кальция, чем у других, на протяжении 50–60 поколений [48]. Изучение физиологических основ гиперкальциурии у GHS крыс показало, что у них наблюдается системная дисрегуляция кальциевого гомеостаза, характеризующаяся усиленным всасыванием Ca^{2+} в кишечнике, нарушением реабсорбции катиона в почечных канальцах, а также чрезмерной резорбцией костной ткани в ответ на действие витамина D. При этом концентрация ионов кальция в крови не отличается от нормальной, однако наблюдается значительное увеличение плотности рецепторов витамина D (VDR) в тканях-мишенях [49]. Генетический анализ показал наличие прямой связи между гиперкальциурией и регионом D1Rat169 (LOD, 2.91) хромосомы 1. Подобная корреляция была обнаружена также на хромосомах 4, 7, 10 и 14. Точная локализация гена, обуславливающего гиперкальциурию, пока не определена, поскольку на эту роль потенциально подходят более 1000 генов. Однако установлено, что ген, кодирующий экспрессию VDR рецепторов, находится на 7-й хромосоме в районе D7Rat164 [50]. Отметим, что крысы GHS являются достаточно эффективной моделью МКБ, т.к. даже без введения каких-либо веществ, провоцирующих нефролитиаз, примерно к 18-й недели жизни у всех животных наблюдается камнеобразование. Однако, как показали исследования, эти камни в основном представлены апатитом (фосфатом кальция), но не оксалатом кальция [51]. Поэтому для моделирования оксалатного нефролитиаза необходимо создание дополнительных экспериментальных условий. В работах американских ученых D.A. Bushinsky, A.P.Evan и других, которые посвятили немало времени изучению свойств описанных инбредных крыс GHS, было наглядно продемонстрировано, что для моделирования оксалатного нефролитиаза у этих животных, приходится добавлять в рацион питания гидрокси-L-пролин. Более того, изучив влияние на камнеобразование растворов этой аминокислоты различных концентраций, они установили, что при использовании 1%-ного раствора гидрокси-L-пролина почечные конгломераты представлены апатитом, а признаков формирования кристаллов CaC_2O_4 не наблюдается. Введение 3%-го раствора аминокислоты приводит лишь к частичному синтезу оксалатных камней. И только в концентрации 5% гидрокси-L-пролин обеспечивает достоверное развитие оксалатного нефролитиаза [37, 52]. Тем не менее, крысы GHS

при моделировании МКБ используются довольно широко, поскольку врожденная гипероксалурия в этих условиях является несомненным достоинством.

Иногда объектом для создания экспериментального нефролитиаза становятся мыши. Так, например, описана модель МКБ, в которой использовались нокаутные мыши с дефицитом NaP(i) Па (Npt2a) натрий-фосфат котранспортера (Npt2a KO). Эти мыши характеризуются гипероксалурией и повышенным образованием камней фосфата кальция. В ходе эксперимента с целью развития гипероксалурии в виде питья животным предоставлялся раствор глиоксалевой кислоты. В результате наблюдалось формирование камней CaP и CaC₂O₄ [53]. Тем не менее, общепризнанным остается тот факт, что мыши далеко не всегда подходят для моделирования оксалатной формы нефролитиаза, поскольку их чувствительность к реагентам, вызывающим гипероксалурию гораздо ниже, чем у крыс. В подтверждение приведем результаты опытов, проведенных в Японии в 2007 году. В ходе эксперимента на протяжении 2-х месяцев мышам внутривенно инъецировали этиленгликоль, гликолевую кислоту, и глиоксалевую кислоту. Оказалось, что при введении ЭГ и гликолата образования камней не наблюдается даже при использовании этих веществ в летальных дозах. И лишь введение глиоксалевой кислоты в дозе 60 мг/кг веса сопровождалось развитием нефролитиаза к девятому дню опыта. Однако, несмотря на продолжавшееся введение реагента, уже на 12-й день количество оксалатных камней резко уменьшалось, а после 15-го дня они практически не выявлялись [54]. Долгое время механизмы, лежащие в основе резистентности мышей к оксалатному нефролитиазу, оставались не выясненными. И лишь в марте 2008 года были опубликованы результаты исследований, позволяющие хотя бы отчасти устранить этот пробел. С одной стороны, было установлено, что у мышей, как и у человека, присутствует ген slc26a6, кодирующий синтез Cl⁻/C₂O₄²⁻ котранспортера в проксимальных канальцах почек. Но с другой стороны, оказалось, что чувствительность этих транспортеров к субстратам имеет видовые различия. Функционирование переносчиков зависит от внеклеточной концентрации ионов хлора, но пороговая величина указанного показателя различается примерно в 8 раз. При этом обмен Cl⁻/C₂O₄²⁻ у человека является электронейтральным, в то время как у мышей он носит двусторонне направленный электрогенный характер [55]. Вполне возможно, что именно поэтому реабсорбция оксалатов у мышей осуществляется гораздо более активно, что

усложняет провоцирование гипероксалурии при проведении экспериментов.

Хорошие результаты при моделировании оксалатного нефролитиаза могут быть получены в опытах на свиньях. В данном случае, как и во многих других, методика основана на употреблении животными в качестве питья гидрокси-L-пролина в концентрации 10% [56]. Как известно, строение и функции многих органов у свиней максимально близки к человеческим. Такое сходство является главным достоинством модели, и может быть весьма полезным при изучении лечебных свойств различных лекарственных препаратов.

При моделировании оксалатного нефролитиаза необходимо учитывать еще один важный момент. Как показали многочисленные эксперименты, существенное влияние на развитие МКБ оказывают половые гормоны. При этом эстрогены ингибируют камнеобразование, в то время как андрогены, наоборот, его усиливают [57, 58].

В заключение, суммируя вышеизложенное, еще раз отметим наиболее благоприятные условия для моделирования оксалатного нефролитиаза. В качестве основных реагентов используются: этиленгликоль, который может сочетаться с хлоридом аммония либо витамином D, а также гидрокси-L-пролин. Наиболее подходящим биологическим видом для проведения экспериментов являются крысы. При этом предпочтительней использовать самцов, поскольку у них вероятность формирования почечных камней выше, чем у самок.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Вошула ВИ. Мочекаменная болезнь: этиотропное и патогенетическое лечение, профилактика: Монография. Мн.: ВЭВЭР, 2006; 268
2. Debray C, Vaille C, Fiehrer A et al. Experimental disease due to paired stresses. Humoral and visceral disturbances induced by tween 80 in rats with experimental oxalate nephritis caused by ethylene glycol. *J Physiol (Paris)* 1964; 56: 707-726
3. Vaille C, Debray C, Martin E et al. On experimental ethylene glycol renal lithiasis in young rats before weaning. *Ann Pharm Fr* 1963; 21: 201-206
4. Baker PR, Cramer SD, Kennedy M et al. Glycolate and glyoxylate metabolism in HepG2 cells. *Am J Physiol Cell Physiol* 2004; 287 (5): C1359-1365
5. Poore RE, Hurst CH, Assimios DG, Holmes RP. Pathways of hepatic oxalate synthesis and their regulation. *Am J Physiol* 1997; 272 (1): 289-294
6. Thamilselvan S, Hackett RL, Khan SR. Lipid peroxidation in ethylene glycol induced hyperoxaluria and calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 1997; 157 (3): 1059-1063
7. Okada Y, Kawamura J, Nonomura M et al. Experimental and clinical studies on calcium urolithiasis: (I) Animal model for calcium oxalate urolithiasis using ethylene glycol and 1-alpha (OH) D3. *Hinyokika Kyo* 1985; 31 (4): 565-577
8. 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
9. Брюханов ВМ, Зверев ЯФ, Лампатов ВВ и др. Функ-

ция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 1: 69-74

10. Жариков АЮ, Азарова ОВ, Талалаева ОС и др. Развитие мочекаменной болезни у крыс на фоне длительного применения препарата марены сердцелистной. VI Сибирский физиологический съезд. Тезисы докладов 2008; 1: 135.

11. Зверев ЯФ, Брюханов ВМ, Талалаева ОС. О роли процессов свободно-радикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза. *Нефрология* 2008; 1: 58-63

12. Chen DH, Kaung HL, Miller CM et al. Microarray analysis of changes in renal phenotype in the ethylene glycol rat model of urolithiasis: potential and pitfalls. *BJU Int* 2004; 94 (4): 637-650

13. Hadjzadeh MA, Khoei A, Hadjzadeh Z, Parizady M. Ethanol extract of nigella sativa L seeds on ethylene glycol-induced kidney calculi in rats. *Urol J* 2007; 4 (2): 86-90

14. Karadi RV, Gadge NB, Alagawadi KR, Savadi RV. Effect of Moringa oleifera Lam. root-wood on ethylene glycol induced urolithiasis in rats. *J Ethnopharmacol* 2006; 105 (1-2): 306-311

15. Green ML, Hatch M, Freel RW. Ethylene glycol induces hyperoxaluria without metabolic acidosis in rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F536-F543

16. Khan SR. Experimental calcium oxalate nephrolithiasis and the formation of human urinary stones. *Scanning Microsc* 1995; 9 (1): 89-100

17. 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

18. Khan SR. Animal models of kidney stone formation: an analysis. *World J Urol* 1997; 15 (4): 236-243

19. Khan SR. Crystal-induced inflammation of the kidneys: results from human studies, animal models, and tissue-culture studies. *Clin Exp Nephrol* 2004; 8 (2): 75-88

20. Khan SR. Role of renal epithelial cells in the initiation of calcium oxalate stones. *Nephron Exp Nephrol* 2004; 98 (2): e55-e60

21. Khan SR. Renal tubular damage/dysfunction: key to the formation of kidney stones. *Urol Res* 2006; 34 (2): 86-91

22. Muthukumar A, Selvan R. Renal injury mediated calcium oxalate nephrolithiasis: role of lipid peroxidation. *Ren Fail* 1997; 19 (3): 401-408

23. Scheinman SJ. Nephrolithiasis. *Semin Nephrol* 1999; 19 (4): 381-388

24. de Bruijn WC, Boeve ER, van Run PR et al. Etiology of experimental calcium oxalate monohydrate nephrolithiasis in rats. *Scanning Microsc* 1994; 8 (3): 541-549

25. de Bruijn WC, Boevij ER, van Run PR et al. Etiology of calcium oxalate nephrolithiasis in rats. I. Can this be a model for human stone formation? *Scanning Microsc* 1995; 9 (1): 103-114

26. de Bruijn WC, Boeve ER, van Run PR et al. Etiology of calcium oxalate nephrolithiasis in rats. II. The role of the papilla in stone formation. *Scanning Microsc* 1995; 9 (1): 115-124

27. de Water R, Noordermeer C, van der Kwast TH et al. Calcium oxalate nephrolithiasis: effect of renal crystal deposition on the cellular composition of the renal. *Am J Kidney Dis* 1999; 33 (4): 761-771

28. Laroubi A, Touhami M, Farouk L et al. Prophylaxis effect of Trigonella foenum graecum L. seeds on renal stone formation in rats. *Phytother Res* 2007; 21 (10): 921-925

29. Touhami M, Laroubi A, Elhabazi K et al. Lemon juice has protective activity in a rat urolithiasis model. *BMC Urol* 2007; 7:18

30. Atmani F, Slimani Y, Mimouni M et al. Prophylaxis of calcium oxalate stones by Herniaria hirsuta on experimentally induced nephrolithiasis in rats. *BJU Int* 2003; 92 (1): 137-140

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

32. Halabe A, Wong NL, Sutton RA. The effect of verapamil and thiazide in the prevention of renal stone formation. *Urol Res* 1990; 18 (2): 155-158

33. Meimaridou E, Lobos E, Hothersall JS. Renal oxidative vulnerability due to changes in mitochondrial-glutathione and energy homeostasis in a rat model of calcium oxalate urolithiasis. *Am J Physiol Renal Physiol* 2006; 291 (4): F731-740

34. Gambaro G, Valente ML, Zanetti E et al. Mild tubular damage induces calcium oxalate crystalluria in a model of subtle hyperoxaluria: Evidence that a second hit is necessary for renal lithogenesis. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (8): 2213-2219

35. Corley RA, Wilson DM, Hard GC et al. Dosimetry considerations in the enhanced sensitivity of male Wistar rats to chronic ethylene glycol-induced nephrotoxicity. *Toxicol Appl Pharmacol* 2008; 228 (2): 165-178

36. Bushinsky DA, Asplin JR, Grynpas MD et al. Calcium oxalate stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2002; 61 (3): 975-987

37. Khan SR, Glenton PA, Byer KJ. Modeling of hyperoxaluric calcium oxalate nephrolithiasis: experimental induction of hyperoxaluria by hydroxy-L-proline. *Kidney Int* 2006; 70 (5): 914-923

38. Khan SR, Glenton PA, Byer KJ. Dietary oxalate and calcium oxalate nephrolithiasis. *J Urol* 2007; 178 (5): 2191-2196

39. Kumar S, Sigmon D, Miller T et al. A new model of nephrolithiasis involving tubular dysfunction/injury. *J Urol* 1991; 146 (5): 1384-1389

40. Doddola S, Pasupulati H, Koganti B et al. Evaluation of Sesbania grandiflora for antiurolithiatic and antioxidant properties. *Nat Med (Tokyo)* 2008; 62 (3): 300-307

41. Park HK, Jeong BC, Sung MK et al. Reduction of oxidative stress in cultured renal tubular cells and preventive effects on renal stone formation by the bioflavonoid quercetin. *J Urol* 2008; 179 (4): 1620-1626

42. Marengo SR, Chen DH, Evan AP et al. Continuous infusion of oxalate by minipumps induces calcium oxalate nephrocalcinosis. *Urol Res* 2006; 34 (3): 200-210

43. Marengo SR, Chen DH, MacLennan GT et al. Minipump induced hyperoxaluria and crystal deposition in rats: a model for calcium oxalate urolithiasis. *J Urol* 2004; 171 (3): 1304-1308

44. O'Connor RC, Worcester EM, Evan AP et al. Nephrolithiasis and nephrocalcinosis in rats with small bowel resection. *Urol Res* 2005; 33 (2): 105-115

45. Worcester EM, Chuang M, Laven B et al. A new animal model of hyperoxaluria and nephrolithiasis in rats with small bowel resection. *Urol Res* 2005; 33 (5): 380-382

46. 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

47. Bushinsky DA, Frick KK, Nehrke K. Genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15 (4): 403-418

48. Bushinsky DA. Genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 1999; 8 (4): 479-488

49. Hoopes RR Jr, Middleton FA, Sen S et al. Isolation and confirmation of a calcium excretion quantitative trait locus on chromosome 1 in genetic hypercalciuric stone-forming congenic rats. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17 (5): 1292-1304

50. Hoopes RR Jr, Reid R., Sen S et al. Quantitative trait loci for hypercalciuria in a rat model of kidney stone disease. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14 (7): 1844-1850

51. Bushinsky DA, Grynpas MD, Asplin JR. Effect of acidosis on urine supersaturation and stone formation in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2001; 59 (4): 1415-1423

52. Evan AP, Bledsoe SB, Smith SB, Bushinsky DA. Calcium oxalate crystal localization and osteopontin immunostaining in genetic hypercalciuric stone-forming rats. *Kidney Int* 2004; 65 (1): 154-161

53. Khan SR, Glenton PA. Calcium oxalate crystal deposition in kidneys of hypercalciuric mice with disrupted type IIa sodium-phosphate cotransporter. *Am J Physiol Renal Physiol* 2008; 294 (5): F1109-1115

54. Okada A, Nomura S, Higashibata Y et al. Successful formation of calcium oxalate crystal deposition in mouse kidney by intraabdominal glyoxylate injection. *Urol Res* 2007; 35 (2): 89-99

55. Clark JS, Vandorpe DH, Chernova MN et al. Species differences in Cl⁻ affinity and in electrogenicity of SLC26A6-mediated oxalate/Cl⁻ exchange correlate with the distinct human and mouse susceptibilities to nephrolithiasis. *J Physiol* 2008; 586 (5): 1291-1306

56. Mandel NS, Henderson JD, Hung LY et al. A porcine model of calcium oxalate kidney stone disease. *J Urol* 2004; 171 (3): 1301-1303

57. Fan J, Chandhoke PS, Grampsas SA. Role of sex

hormones in experimental calcium oxalate nephrolithiasis. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: S376-380

58. Iguchi M, Takamura C, Umekawa T et al. Inhibitory effects of female sex hormones on urinary stone formation in rats. *Kidney Int* 1999; 56 (2): 479-485

Поступила в редакцию 22.10.2008 г.

Принята в печать 17.06.2008 г.