

## Методика

© Коллектив авторов, 2021

УДК 616.613-003.7-092.4

Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Жарикова Г.В.

# Экспериментальная модель острого уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar

ФГБОУ ВО «Алтайский государственный медицинский университет» Минздрава России, 656038, Барнаул, Россия, пр. Ленина, д. 40

**Введение.** В последнее время возросла частота регистрации случаев уратно-оксалатного нефролитиаза. Для разработки новых методов фармакологической коррекции и оценки эффективности фармакотерапии необходимо создание адекватной модели заболевания.

**Цель исследования** – моделирование смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar и изучение биохимической и гистологической картины патологии.

**Методика.** Эксперимент выполнен на 30 самцах крыс Wistar, разделенных на группу сравнения ( $n=10$ ) и экспериментальную группу ( $n=20$ ). Животным экспериментальной группы ежедневно на протяжении 7 сут внутрижелудочно через зонд вводили смесь оксониевой и мочево́й кислот в дозах 500 и 1000 мг/кг соответственно и предоставляли в качестве питья 1% раствор этиленгликоля. В моче крыс обеих групп измеряли активность лактатдегидрогеназы и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы, в гомогенате почек – концентрацию тиобарбитуратреактивных продуктов, общую прооксидантную и антиоксидантную активность, активность глутатионпероксидазы, каталазы, супероксиддисмутазы. Наличие конкрементов в почках и наличие воспалительной реакции оценивали по результатам морфологического исследования.

**Результаты.** В моче крыс экспериментальной группы к 7-м сут эксперимента активность лактатдегидрогеназы возросла более чем в 20 раз относительно исходного уровня, в группе сравнения не происходило статистически значимых изменений активности лактатдегидрогеназы по сравнению с исходным уровнем. Концентрация тиобарбитуратреактивных продуктов и активность каталазы в гомогенате почек крыс экспериментальной группы на 7-е сут исследования были в 1,3 и 1,6 раза соответственно выше аналогичных показателей группы сравнения, а общая прооксидантная и общая антиоксидантная активность, а также активность супероксиддисмутазы в гомогенате почек крыс подопытной группы статистически значимо снизились в 3,1, 1,8 и 3,2 раза соответственно относительно уровня группы сравнения. В группе сравнения почечные конкременты отсутствовали, а в экспериментальной были выявлены в 100% случаев в количестве  $20,2 \pm 2,35$  со средней площадью  $540,55 \pm 47,7$  мкм<sup>2</sup> с признаками сопутствующих воспалительных и дистрофических процессов.

**Заключение.** При недельном применении 1% раствора этиленгликоля и смеси оксониевой и мочево́й кислот в дозах 500 и 1000 мг/кг соответственно формируется уратно-оксалатный нефролитиаз, характеризующийся повышением активности лактатдегидрогеназы в моче, активацией окислительных процессов и образованием смешанных депозитов с наличием выраженной воспалительной инфильтрации, кистозного расширения почечных канальцев, а также дистрофических изменений канальцевого эпителия.

**Ключевые слова:** уратно-оксалатный нефролитиаз; моделирование

**Для цитирования:** Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П., Жарикова Г.В. Экспериментальная модель острого уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar. *Патологическая физиология и экспериментальная терапия.* 2021; 65(3): 98-106.

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.98-106

**Участие авторов:** концепция и дизайн исследования – Жариков А.Ю.; сбор материала – Кальницкий А.С., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Жарикова Г.В.; анализ и интерпретация данных – все соавторы, статистическая обработка данных – Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Бобров И.П.; подготовка иллюстративного материала – Бобров И.П.; написание текста – Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Бобров И.П., редактирование текста – Жариков А.Ю. Обсуждение окончательной версии статьи – все соавторы.

**Для корреспонденции:** Кальницкий Артем Сергеевич, e-mail: artem\_kalnitsky@mail.ru

**Финансирование.** Исследование не имело спонсорской поддержки.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Поступила 30.04.2021

Принята к печати 30.06.2021

Опубликована 30.09.2021

Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Zharikova G.V.

## Experimental model of acute urate oxalate nephrolithiasis in Wistar rats

Altai State Medical University,  
Lenina Prospekt 40, Barnaul 656038, Russian Federation

**Introduction.** At present, the incidence of urate-oxalate nephrolithiasis has increased. For the development of new methods of pharmacological treatment of this disease, it is necessary to create an adequate model that makes it possible to assess the effectiveness of pharmacotherapy.

**The aim** – create a model of mixed urate-oxalate nephrolithiasis in Wistar rats and to study the biochemical and histological picture of the pathology.

**Methods.** Experiments were carried out on 30 male Wistar rats, divided into a comparison group ( $n = 10$ ) and an experimental group ( $n = 20$ ). For formation of urate-oxalate nephrolithiasis, the experimental group was injected daily for 7 days intragastrically a mixture of oxonic and uric acids at doses of 500 and 1000 mg/kg, respectively, and these rats were also provided a drinking 1% solution of ethylene glycol. The activities of lactate dehydrogenase and  $\gamma$ -glutamyl transferase were measured in the urine of both groups. In the kidney homogenate, the concentration of thiobarbiturate-reactive products, total pro-oxidant and antioxidant activity, and activities of glutathione peroxidase, catalase, and superoxide dismutase were measured. Severity of lithogenesis, and inflammation was assessed based on the results of morphological studies.

**Results.** In the urine of rats of the experimental group, the activity of lactate dehydrogenase increased more than 20 times relative to the initial level. In the comparison group, there were no significant biochemical changes. The concentration of thiobarbiturate-reactive substances and the activity of catalase in the kidney homogenate experimental group on the 7<sup>th</sup> day the were 1.3 and 1.6 times higher, respectively, than those of the comparison group. The total pro-oxidant and total antioxidant activity, as well as the activity of superoxide dismutase, decreased significantly by 3.1, 1.8 and 3.2 times, respectively. In the comparison group, renal calculi were absent, but in the experimental group, they were found in 100% of cases in the number of  $20.2 \pm 2.4$  with an average area of  $140.55 \pm 47.7 \mu\text{m}^2$ , accompanied by inflammatory and degenerative processes.

**Conclusion.** With a weekly application of a 1% solution of ethylene glycol and a mixture of oxonic and uric acids at doses of 500 and 1000 mg/kg, respectively, a pronounced urate-oxalate nephrolithiasis is formed. This was characterized by an increase in the activity of lactate dehydrogenase in the urine, activation of oxidative processes, and the formation of mixed deposits associated with pronounced inflammatory infiltration, cystic dilatation of the renal tubules, as well as dystrophic changes in the tubular epithelium.

**Keywords:** urate-oxalate nephrolithiasis; modeling

**For citation:** Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Bobrov I.P., Zharikova G.V. Experimental model of acute urate oxalate nephrolithiasis in Wistar rats. *Patologicheskaya Fiziologiya i Eksperimental'naya terapiya. (Pathological Physiology and Experimental Therapy, Russian Journal)*. 2021; 65(3): 98-106. (in Russian).

DOI: 10.25557/0031-2991.2021.03.98-106

**Contribution:** research concept and design – Zharikov A.Yu.; material collecting – Kalnitsky A.S., Mazko O.N., Makarova O.G., Zharikova G.V.; data analysis and interpretation – all co-authors; statistical data processing – Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Bobrov I.P.; illustrative material – Bobrov I.P.; writing text – Zharikov A.Yu., Kalnitsky A.S., Bobrov I.P.; text editing – Zharikov A.Yu. Approval of the final version of the article – all co-authors.

**For correspondence:** *Kalnitsky Artem Sergeevich*, postgraduate student of the Department of Pharmacology, e-mail: artem\_kalnitsky@mail.ru

**Acknowledgment.** The study had no sponsorship.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

### Information about the authors:

Zharikov A.Yu., <https://orcid.org/0000-0003-4884-220X>

Kalnitsky A.S., <https://orcid.org/0000-0003-3500-3052>

Mazko O.N., <https://orcid.org/0000-0001-7299-4516>

Makarova O.G., <https://orcid.org/0000-0001-7771-9468>

Bobrov I.P., <https://orcid.org/0000-0001-9097-6733>

Zharikova G.V., <https://orcid.org/0000-0002-3227-2348>

Received: 30.04.2021

Accepted: 30.06.2021

Published: 30.09.2021

## Введение

По современным данным, частота заболеваемости различными формами мочекаменной болезни (МКБ) составляет до 1/20 от общей заболеваемости внутренними болезнями человека [1]. Как известно, основными нозологическими формами МКБ являются оксалатный и уратный нефролитиаз [2]. При этом все чаще выявляется смешанный характер течения МКБ по типу уратно-оксалатного нефролитиаза (УОН), что признается специалистами одной из серьезных проблем современной урологии [3]. По данным современных исследований, существует ряд патофизиологических особенностей, способствующих формированию УОН, таких как пересыщение мочи оксалатом кальция и мочевой кислотой при погрешностях в питании [4], а также наличие сопутствующих метаболических заболеваний [5].

Смешанный УОН крайне трудно поддается медикаментозной терапии. На данный момент для фармакологической коррекции УОН может применяться так называемая «цитратная терапия», которая имеет ряд существенных недостатков [6-8]. В этой связи сохраняется высокая актуальность поиска новых фармакологических подходов к коррекции УОН.

Разработка и доклинические испытания новых методов фармакологической коррекции УОН предполагают наличие адекватной экспериментальной модели заболевания, на создание которой направлено настоящее исследование. В основу гипотезы исследования положена применимость разрабатываемой модели УОН для последующего изучения новых фармакологических подходов к лечению данного заболевания у человека. Ранее нами был проведен критический анализ литературных данных о существующих экспериментальных моделях оксалатного и уратного нефролитиаза с целью выбора модели, которая воспроизводит картину нефролитиаза наиболее адекватно течению заболевания у человека [9, 10]. По нашему мнению, такими моделями являются: для оксалатного нефролитиаза – этиленгликолевая модель, для уратного нефролитиаза – модель ингибирования уриказы у крыс путем совместного длительного введения мочевой и оксониевой кислот. Данные модели нами были воспроизведены в эксперименте, в котором было по биохимическим и гистологическим признакам подтверждено, что оксалатный и уратный нефролитиаз, развивающийся в имевших место условиях эксперимента, адекватно отражают картину течения заболевания у человека [11, 12]. Мы решили проверить возможность моде-

лирования смешанного УОН путем совместного использования этиленгликолевой модели оксалатного нефролитиаза и модели ингибирования уриказы уратного нефролитиаза.

**Цель исследования** – моделирование смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза на крысах Wistar и изучение биохимической и гистологической картины патологии.

## Методика

Экспериментальное исследование проведено на 30 самцах крыс Wistar массой 250–330 г, содержащихся в индивидуальных метаболических клетках, приспособленных для сбора мочи. Питание животных осуществлялось в соответствии со стандартным лабораторным рационом. Работа с животными осуществлялась в соответствии с Правилами надлежащей лабораторной практики (GLP) (Приказ Министерства здравоохранения РФ от 01.04.2016г. №-199н), а также с требованиями Директивы 2010/63/EU по охране животных, используемых в научных целях, от 22.09.2010 г. Работа одобрена локальным этическим комитетом ФГБОУ ВО «Алтайский государственный университет».

Животные были рандомизированы на 2 группы: экспериментальная (подопытные животные) группа – моделирование УОН (20 особей), и группа сравнения – 10 интактных крыс. Для моделирования в экспериментальной группе УОН была предложена комбинированная методика, основанная на совместном применении веществ, используемых в разработанных ранее способах моделирования уратного и оксалатного нефролитиаза, и включающая в себя предоставление крысам в качестве питья 1% раствора этиленгликоля [9], а также ежедневное внутрижелудочное (через зонд) введение смеси оксониевой кислоты (500 мг/кг) и мочевой кислоты (1000 мг/кг) [10]. Количество потребляемого крысами этиленгликоля было свободным, т.к. в проведенных ранее исследованиях мы, во-первых, установили, что в таких условиях доза этиленгликоля, попавшего в организм, достаточна, чтобы вызвать гипероксалурию и последующее за этим формирование кальций-оксалатных конкрементов, а, во-вторых, искусственное регулирование объема потребляемого раствора этиленгликоля может существенно изменять характер развития нефролитиаза [11, 13]. Длительность моделирования оксалатного и уратного нефролитиаза в наших предыдущих экспериментах составляла 3 нед. В то же время, было показано, что нефролитиаз начинает развиваться уже после 1-й нед эксперимента [11, 12]. Учитывая это, а также предполагая, что совместное

применение этиленгликоля и оксониевой кислоты и мочевиной кислоты усилит токсическое действие на почки и организм крыс в целом, в настоящем исследовании была выбрана продолжительность эксперимента – 7 сут.

За сутки до начала моделирования УОН, а затем на 5-е и 7-е сут исследования производился сбор суточной мочи крыс в обеих группах. В моче определяли активность маркерных ферментов, указывающих на степень нарушения функции почек: активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и  $\gamma$ -глутамилтрансферазы (ГГТ). Для исключения загрязнения мочи лабораторных животных твердыми отходами, крыс помещали в двухсекционные клетки, снабженные решетчатым дном, а также отделителем. Измерение показателей осуществлялось при помощи лабораторного биохимического анализатора CS-T240 (Dirui Industrial Co., Ltd., Китай) с использованием наборов реагентов фирмы АО «Диакон-ДС», Россия. Методика определения активности ЛДГ с использованием данных реактивов подразумевает определение всех изоформ ЛДГ, включая изоформы 1 и 2, являющиеся маркерами повреждения почек.

По завершении исследования крысы были подвергнуты эвтаназии с использованием диэтилового эфира в качестве наркозного средства, после чего проводилось изъятие обеих почек, одна из которых использовалась для оценки уровня активности процессов свободнорадикального окисления (СРО), другая – для морфологического исследования патогистологических признаков развития нефролитиаза.

Определение уровня активности процессов СРО проводилось согласно общепринятым методикам [14]. В качестве показателей прооксидантного статуса почечной ткани были выбраны общая прооксидантная активность (ОПА) и концентрация тиобарбитуратреактивных продуктов (ТБРП,  $\mu\text{моль/мг}$ ). Для оценки выраженности антиоксидантной защиты определяли активность (в %) таких ферментов, как каталаза (КАТ), супероксиддисмутаза (СОД) и глутатионпероксидаза (ГПО), а также уровень общей антиоксидантной активности (ОАА). Концентрация ТБРП определялась методом фотоэлектроколориметрии по интенсивности окраски раствора после протекания химической реакции ТБРП с 2-тио-4,6-пиримидиндионом. Общую прооксидантную активность оценивали в соответствии с зафиксированным уровнем окраски флуоресцентного комплекса, полученного путем взаимодействия тиобарбитуровой кислоты с продуктами реакции твина-80 с пероксидными радикалами. Общую антиоксидантную активность измеряли с помощью фикса-

ции уровня ингибирования  $\text{Fe}^{2+}$ /аскорбат-зависимого окисления твина-80 исследуемым субстратом. Активность КАТ определялась по степени подавления окисления пероксидом водорода натриевой соли молибденовой кислоты. Активность СОД оценивалась путем определения концентрации нитроформазана, который является продуктом взаимодействия супероксидных радикалов с нитротетразолием синим. Активность ГПО измерялась с помощью реакции взаимодействия восстановленного глутатиона с дитионитробензойной кислотой.

Для осуществления морфологических исследований выполнялась проводка исследуемых образцов почечной ткани с использованием аппарата TISSUE-TEK VIPTM6 (Sakura, Япония), с дальнейшим изготовлением срезов толщиной 5  $\mu\text{м}$  на микротоме Accu-Cut SRM (Sakura, Япония). Готовые срезы окрашивались с использованием нитрата серебра по Косса и микроскопировались под увеличением  $\times 400$  (микроскоп Nikon Eclipse E200, Китай). Определяли площадь конкрементов в почечной ткани и их количество, оценивали патогистологические признаки повреждения почек, характерные для мест формирования конкрементов при уратном и/или оксалатном нефролитиазе в почках, состояние эпителия почечных канальцев, наличие признаков воспаления, степень полнокровия сосудов.

Статистическая обработка экспериментальных данных производилась с использованием пакета программ Statistica 12.0 для Windows. Проводилась проверка распределения экспериментальных данных на нормальность при помощи критерия Шапиро–Уилка. Ввиду того, что экспериментальные данные, полученные в ходе биохимических исследований, имели распределение, отличное от нормального, различия между исходными показателями и полученными в процессе проведения эксперимента оценивались при помощи критерия Вилкоксона, а межгрупповые различия – с использованием критерия Манна–Уитни. Результаты исследований представлены медианой, 25 и 75 перцентилями (Me (Q25%; Q75%)). Распределение данных морфометрических исследований представлены в виде среднего и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Различия признавались статистически значимыми при значении  $p < 0,05$  [15].

### Результаты

Проведенные эксперименты показали, что активность ЛДГ в моче подопытных крыс на 5-е и 7-е сут эксперимента статистически значимо превышала исходный уровень в 29 и 21 раз соответственно. Активность ГГТ статистически значимо не изменялась

(табл. 1). Активность ЛДГ и ГГТ у интактных крыс на протяжении всего эксперимента была стабильной и не отличалась от исходного уровня (в таблице не представлено).

Изучение активности процессов СРО в гомогенате почек показало, что концентрация ТБРП у животных экспериментальной группы была статистически значимо выше аналогичного показателя группы сравнения в 1,3 раза, в то время как ОПА и ОАА в почках подопытных животных были статистически значимо ниже в 3,1 и 1,8 раза соответственно. При этом активность КАТ в экспериментальной группе была в 1,6 раза выше, чем у интактных животных, а СОД – ниже в 3,2 раза. Активность ГПО не имела статистически значимых межгрупповых различий (табл. 2).

Морфологические исследования показали, что в почках подопытных крыс наблюдались ярко выраженные признаки развития нефролитиаза и формирования уратно-оксалатных конкрементов, которые были выявлены в 100% случаев. Микролиты различных размеров и формы, преимущественно светло-фиоле-

тового или светло-желтого цвета отмечались в корковом, мозговом слоях и сосочке почки. При гистохимической окраске по Коссу депозиты камней окрашивались в черный цвет (рисунок). Они обнаруживались в большом числе кистозно расширенных канальцев. Эпителий таких канальцев находился в состоянии белковой дистрофии, выглядел уплощенным, ядра клеток были уменьшены в размере или имели признаки пикноза. В строме и просвете канальцев отмечались признаки воспаления, воспалительный инфильтрат состоял из лимфоцитов, плазматических клеток, макрофагов и нейтрофилов. Сосуды были полнокровны. Среднее количество депозитов, пределы колебаний их числа, средняя площадь депозитов и пределы колебаний площади депозитов представлены в таблице 3.

**Обсуждение**

Как известно, процесс образования почечных камней начинается с формирования первичного очага литогенеза – участка эпителия почечных канальцев, где

Таблица 1/Table 1

**Показатели активности ЛДГ и ГГТ в моче крыс экспериментальной группы**

**Activities of urinary LDH and GGT in the experimental group**

Этапы эксперимента	ЛДГ (U / мг креатинина в сутки)	ГГТ (U / мг креатинина в сутки)
Исходный уровень	0,01 (0,004;0,03)	0,18 (0,13;0,24)
5-е сут	0,29 (0,14;0,54) <i>p</i> <0,001	0,20 (0,13;0,28)
7-е сут	0,21 (0,16; 0,34) <i>p</i> =0,003	0,10 (0,06;0,12)

**Примечание.** *p* – уровень статистической значимости изменения показателя относительно исходного уровня.

**Note.** *p* is the level of statistical significance of the change in the indicator relative to the initial level.

Таблица 2/Table 2

**Показатели свободнорадикального окисления в гомогенате почек крыс группы сравнения и экспериментальной группы**

**Activities of free-radical processes in kidney homogenates of experimental rats**

Группы животных	ТБРП, (мкмоль/мг)	ОПА, %	ОАА, %	ГПО, %	КАТ, %	СОД, %
Группа сравнения (Интактные крысы)	6,1 (5,4;6,9)	65,1 (63,4;68,0)	41,7 (40,2;43,3)	38,5 (25,2;41,6)	14,4 (10,2;15,6)	18,2 (13,0;18,5)
Экспериментальная группа (подопытные крысы)	7,9 (7,7;8,1) <i>p</i> <0,001	21,1 (13,3;28,3) <i>p</i> <0,001	22,8 (19,8;27,5) <i>p</i> <0,001	34,5 (32,5;37,5)	22,5 (19,2;34,1) <i>p</i> <0,001	5,8 (3,1;6,8) <i>p</i> <0,001

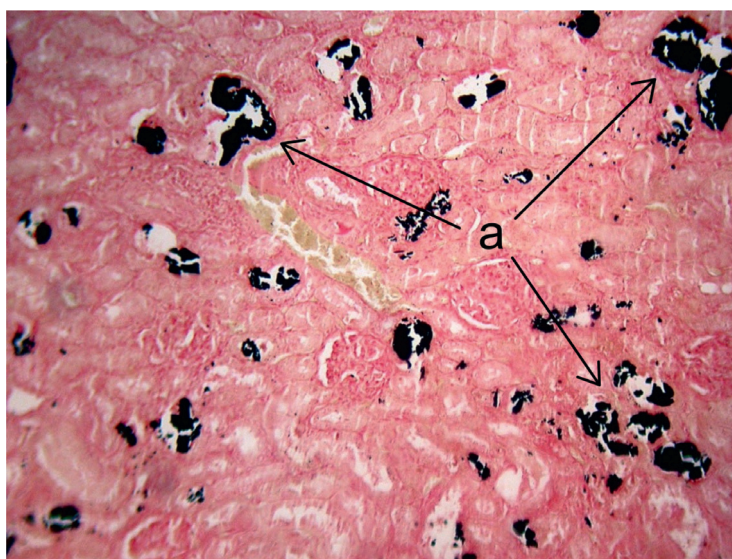
**Примечание.** *p* – уровень статистической значимости межгрупповых различий показателей.

**Note.** *p* is the level of statistical significance of intergroup differences in indicators.

происходит повреждение или гибель нефроцитов [16]. Оценить развитие такого повреждения биохимическими методами возможно, измеряя активность ЛДГ – цитозольного фермента, повышение активности которого в моче может происходить только в результате цитолиза нефроцитов [17]. В ходе проведенного эксперимента был зафиксирован почти 30-кратный рост активности ЛДГ в моче крыс экспериментальной группы относительно исходного уровня. Это свидетельствовало о повреждении почечных тканей, а значит, о формировании условий для образования конкрементов в почках. При этом следует отметить, что в предыдущих наших работах, где осуществлялось моделирование отдельно оксалатного и отдельно уратного нефролитиаза, к исходу 1-й нед эксперимента также наблюдался рост ак-

тивности ЛДГ, но он был значительно менее выражен: в 7,8 раза при моделировании оксалатного нефролитиаза и в 1,9 раза при моделировании уратного нефролитиаза [11, 12]. Это можно расценивать в качестве косвенного подтверждения, что при моделировании смешанного УОН происходит более существенное повреждение почек, чем при раздельном моделировании этих патологий.

Еще одним общепризнанным патогенетическим фактором, способствующим повреждению почечных тканей и формированию камней в почках, является образование токсичных активных форм кислорода, что влечет за собой перекисное повреждение мембранных липидов и ядерного аппарата и приводит к активации апоптоза и некрозу почечного эпителия [16, 18]. Экс-



**Рис.** Гистологическая картина почки крысы экспериментальной группы при моделировании уратно-оксалатного нефролитиаза. Окраска нитратом серебра по Косса. Ув. 100.

a – депозиты в кистозно расширенных почечных канальцах.

**Fig.** Histological picture of the kidney of the rat in the experimental group when modeling urate-oxalate nephrolithiasis. Cossa staining with silver nitrate. Magnification  $\times 100$ .

a – deposits in the cystic dilated renal tubules.

Таблица 3/ Table 3

**Данные морфометрического исследования почек крыс экспериментальной группы**

**Data of morphometric studies of the kidneys of experimental rats**

Количество депозитов в поле зрения	Пределы колебаний количества депозитов в поле зрения	Площадь депозитов, мкм <sup>2</sup>	Пределы колебаний площади депозитов, мкм <sup>2</sup>	Состав воспалительного инфильтрата
20,2 $\pm$ 2,35	8–40	540,55 $\pm$ 47,7	140,9–945,25	Лимфоциты, плазматические клетки, макрофаги и нейтрофилы

периментальные свидетельства развития оксидативного стресса в почках крыс при моделировании как оксалатного, так и уратного нефролитиаза, были получены и нами в предыдущих исследованиях [19, 20].

В настоящем исследовании, изучив показатели СРО, мы установили, что через 7 сут моделирования УОН концентрация ТБРП в гомогенате почек подопытных крыс статистически значимо (в 1,3 раза) превышает значение данного показателя у интактных крыс. Как известно, ТБРП – маркер перекисного повреждения фосфолипидов клеточных мембран [21]. Полученные данные хорошо согласуются с современными представлениями о повреждении при нефролитиазе мембран нефроцитов свободными радикалами кислорода.

Кроме того, обращает на себя внимание статистически значимое снижение активности супероксиддисмутазы при сопутствующем увеличении активности каталазы в гомогенате почек крыс экспериментальной группы относительно группы сравнения. Вероятно, это можно объяснить тем, что произошло истощение активности супероксиддисмутазы в процессе нейтрализации образующегося супероксида, который является наиболее агрессивной активной формой кислорода [14, 22]. На следующем этапе ферментной антиоксидантной защиты клеток, как известно, участвует каталаза, превращающая пероксид водорода в гидроксильный радикал [14, 23, 24]. Поэтому, по всей видимости, увеличение активности каталазы на 7-е сут эксперимента объясняется находящимся в активной фазе процессе нейтрализации пероксида водорода в гидроксильный радикал.

Параллельно нами было зафиксировано статистически значимое снижение ОАА и ОПА в гомогенате почек крыс экспериментальной группы относительно животных группы сравнения. Снижение ОАА в контексте развития патологии выглядит вполне логичным и указывает на ослабление системы совокупной ферментной и неферментной антиоксидантной защиты нефроцитов. Факт снижения интегративного показателя оксидативного статуса в клетках и внеклеточных жидкостях, основываясь на имеющихся экспериментальных данных, объяснить довольно трудно. Можно предположить, что это, хотя бы отчасти, объясняется накапливающейся в крови и моче в процессе моделирования уратного компонента нефролитиаза мочевой кислотой, которая, как известно, обладает свойствами прямого антиоксиданта [20, 25]. Не исключено, что накопление мочевой кислоты вызвало нейтрализацию некоторых внеклеточных активных форм кислорода, определяющих величину ОПА, что и вызвало его снижение.

Результаты морфологических исследований подтвердили формирование многочисленных почечных конкрементов.

Однако, разумеется, подобные предположения нуждаются в дополнительных экспериментальных исследованиях. Анализируя полученные данные, отметим, что, во-первых, наиболее вероятно, эти конкременты имели смешанный химический состав, включая гидраты оксалата кальция и мочевую кислоту. На подтверждение данной гипотезы будут направлены дальнейшие эксперименты по изоляции конкрементов и определения их химического состава. Во-вторых, сравнивая полученные результаты с результатами наших предыдущих экспериментов, в которых моделировался отдельно оксалатный и отдельно уратный нефролитиаз, важно отметить, что размеры депозитов в случае моделирования смешанного УОН были значительно крупнее: в 54 раза относительно моделирования оксалатного нефролитиаза и в 33 раза относительно моделирования уратного нефролитиаза.

Таким образом, в проведенных экспериментах впервые показана возможность успешного моделирования смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза.

### Заключение

Моделирование смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза у крыс путем применения 1% раствора этиленгликоля и смеси оксониевой и мочевой кислот в дозе 500 мг/кг и 1000 мг/кг соответственно сопровождается повреждением почечных тканей, о чем свидетельствует рост активности маркерного фермента лактатдегидрогеназы, развитием оксидативного стресса в почках, наиболее характерными признаками чего явились увеличение концентрации в почках ТБРП и снижение неферментной и ферментной антиоксидантной защиты нефроцитов, и формированием в почках многочисленных крупных конкрементов. На основе полученных результатов и дальнейших исследований в данном направлении будет разработана экспериментальная модель уратно-оксалатного нефролитиаза, применимая для оценки эффективности новых фармакологических подходов к лечению данного заболевания.

### Литература

(п.п. 2-5; 17; 18; 21-23 см. References)

1. Ковылько Е.М., Лидохова О.В. Мочекаменная болезнь: анализ заболеваемости и механизм развития. *Молодежный инновационный вестник*. 2018; 7(1): 10-2.

6. Демидко Ю.Л., Руденко В.И. Применение блемарена при нефролитиазе. *Фарматека*. 2015; 3(296): 71-5.
7. Руденко В.И., Рапопорт Л.М., Кузьмичева Г.М. Современные аспекты цитратного литолиза. *Эффективная фармакотерапия*. 2017; 24: 10-5.
8. Аляев Ю.Г., Руденко В.И. Современные аспекты медикаментозного лечения пациентов с мочекаменной болезнью. *Эффективная фармакотерапия*. 2016; 5(41): 23-7.
9. Жариков А.Ю., Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза. *Нефрология*. 2008; 12(4): 28-35.
10. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю., Условия развития уратного нефролитиаза и подходы к его моделированию. *Нефрология*. 2017; 21(4): 48-54.
11. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Азарова О.В., Мотин Ю.Г. Функция почек в условиях экспериментального оксалатного нефролитиаза. *Нефрология*. 2008; 12(1): 69-74.
12. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Черданцева Т.М., Бобров И.П. Успешный опыт моделирования уратной нефропатии у крыс. *Нефрология*. 2016; 20(4): 93-7.
13. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Кудинов А.В., Мотина Н.В. Влияние питьевых режимов на движущие силы кристаллизации при экспериментальном нефролитиазе. *Урология*. 2011; (1): 6-11
14. Брюханов В.М., Зверев Я.Ф., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Талалаева О.С. *Методы доклинического (экспериментального) исследования влияния лекарственных средств на функцию почек*. Новосибирск; Гео; 2013.
15. Хафизьянова Р.Х., Бурыкин И.М., Алеева Г.Н. *Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии*. Казань; Медицина; 2006.
16. Жариков А.Ю., Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Лампатов В.В. Механизм формирования кристаллов при оксалатном нефролитиазе. *Нефрология*. 2009; 13(4): 37-50.
19. Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., Талалаева О.С., Лампатов В.В., Жариков А.Ю., Талалаев С.В., и др. О роли процессов свободно-радикального окисления в развитии экспериментального нефролитиаза. *Нефрология*. 2008; 2(1): 58-63.
20. Перфильев В.Ю., Жариков А.Ю., Лукьяненко Д.Ю., Лысенко И.В. Активность свободнорадикального окисления в крови крыс на фоне экспериментальной уратной нефропатии. *Медицинский академический журнал*. 2016; 16(4): 188-9.
24. Луцкий М.А., Куксова Т.В., Смелянец М.А., Лушникова Ю.П. Свободнорадикальное окисление липидов и белков - универсальный процесс жизнедеятельности организма. *Успехи современного естествознания*. 2014; 12(1): 24-48.
25. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю., Лукьяненко Д.Ю., Лысенко И.В., Атабаева О.Ш. Опыт применения пиоглитазона для профилактики и лечения экспериментального уратного нефролитиаза. *Нефрология*. 2017; 21(1): 52-6.
2. Spivacow F.R., Del Valle E.E., Lores E., Rey P.G. Kidney stones: Composition, frequency and relation to metabolic diagnosis. *Medicina (B Aires)*. 2016; 76(6): 343-8.
3. Tao B., Jeang E., Liu J. Clinical Epidemiology Investigation of Inpatients with Urolithiasis. *Journal of Kunming Medical University*. 2021; 42(3): 94-7.
4. Sutthimethakorn S., Thongboonkerd V. Effects of high-dose uric acid on cellular proteome, intracellular ATP, tissue repairing capability and calcium oxalate crystal-binding capability of renal tubular cells: Implications to hyperuricosuria-induced kidney stone disease. *Chemico-Biological Interactions*. 2020; 331: 109270.
5. Fernandez A., Fuller A., Al-Bareeq R., Nott L, Razvi H. A comparison of the metabolic profiles of diabetic and non-diabetic uric acid stone formers. *Canadian Urological Association Journal*. 2013; 7(3-4): 190-2.
6. Demidko Yu.L., Rudenko V.I. The use of blemaren for nephrolithiasis. *Farmateka*. 2015; 3(296): 71-5. (In Russian)
7. Rudenko V.I., Rapoport L.M., Kuzmicheva G.M. Modern aspects of citrate litholysis. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2017; 24: 10-5. (In Russian)
8. Alyaev Yu.G., Rudenko V.I. Modern aspects of drug treatment of patients with urolithiasis. *Effektivnaya farmakoterapiya*. 2016; 5(41): 23-7. (In Russian)
9. Zharikov A.Yu., Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V. Modern methods of modeling oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2008; 12(4): 28-35. (In Russian)
10. Perfilov V.Yu., Zverev Y.F., Zharikov A.Yu. Conditions of urate nephrolithiasis and approaches to its modeling. *Nefrologiya*. 2017; 21(4): 48-54. (In Russian)
11. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Azarova O.V., Motin Yu.G. Renal function in experimental oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2008; 12(1): 69-74. (In Russian)
12. Perfilov V.Yu., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Cherdantseva T.M., Bobrov I.P. Successful experience in modeling urate nephropathy in rats. *Nefrologiya*. 2016; 20(4): 93-7. (In Russian)
13. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Kudinov A.V., Motina N.V. The influence of drinking regimes on the driving forces of crystallization in experimental nephrolithiasis. *Urologiya*. 2011; (1): 6-11. (In Russian)
14. Bryukhanov V.M., Zverev Ya.F., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Talalaeva O.S. Methods of preclinical (experimental) study of the effect of drugs on renal function. [*Metody doklinicheskogo (eksperimental'nogo) issledovaniya vliyaniya lekarstvennykh sredstv na funktsiyu pochek*]. Novosibirsk; Geo; 2013. (In Russian)
15. Khafizyanova R.Kh., Burikin I.M., Aleeva G.N. Mathematical statistics in experimental and clinical pharmacology. [*Matematicheskaya statistika v eksperimental'noy i klinicheskoy farmakologii*]. Kazan; Meditsina; 2006. (In Russian)
16. Zharikov A.Yu., Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Lampatov V.V. The mechanism of crystal formation in oxalate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2009; 13(4): 37-50. (In Russian)
17. Kabakov A.E., Gabai V.L. Cell Death and Survival Assays. *Methods in Molecular Biology*. 2018; 1709: 107-27.
18. Chaiyarit S., Thongboonkerd V. Mitochondrial Dysfunction and Kidney Stone Disease. *Frontiers in Physiology*. 2020; 11: 566506
19. Zverev Ya.F., Bryukhanov V.M., Talalaeva O.S., Lampatov V.V., Zharikov A.Yu., Talalaev S.V., et al. On the role of free radical oxidation processes in the development of experimental nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2008; 2(1): 58-63. (In Russian)

## References

1. Kovytko E.M., Lidokhova O.V. Urolithiasis: analysis of morbidity and mechanism of development. *Molodezhnyy innovatsionnyy vestnik*. 2018; 7(1): 10-2. (In Russian)



20. Perfilyev V.Yu., Zharikov A.Yu., Lukyanenko D.Yu., Lysenko I.V. The activity of free radical oxidation in the blood of rats against the background of experimental urate nephropathy. *Meditsinskiy akademicheskij zhurnal*. 2016; 16(4): 188-9. (In Russian)
21. Tsikas D. Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. *Analytical Biochemistry*. 2017; 524: 13-30.
22. Ratnam D.V., Ankola D.D., Bhardwaj V., Sahana D.K., Kumar M.N. Role of antioxidants in prophylaxis and therapy: A pharmaceutical perspective. *The Journal of Controlled Release*. 2006; 113(3): 189-207.
23. Sepasi Tehrani H., Moosavi-Movahedi A.A. Catalase and its mysteries. *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. 2018; 140: 5-12
24. Lutskiy M.A., Kuksova T.V., Smelyanets M.A., Lushnikova Yu.P. Free radical oxidation of lipids and proteins is a universal process of the body's vital activity. *Uspekhi sovremennogo estestvoznaniya*. 2014; 12(1): 24-48. (In Russian)
25. Perfilyev V.Yu., Zverev Ya.F., Zharikov A.Yu., Lukyanenko D.Yu., Lysenko I.V., Atabaeva O.Sh. Experience of using pioglitazone for the prevention and treatment of experimental urate nephrolithiasis. *Nefrologiya*. 2017; 21(1): 52-6 (In Russian)

**Сведения об авторах:**

**Жариков Александр Юрьевич**, доктор биол. наук, доцент, и.о. проректора по научной работе и инновациям, зав. каф. фармакологии, e-mail: zharikov\_a\_y@mail.ru;

**Кальницкий Артем Сергеевич**, аспирант каф. фармакологии, e-mail: artem\_kalnitsky@mail.ru;

**Мазко Олеся Николаевна**, канд. биол. наук, директор Института фармации АГМУ, доцент каф. фармакологии, e-mail: olesia.mazko@yandex.ru;

**Макарова Олеся Геннадьевна**, канд. фарм. наук, доцент каф. фармакологии, e-mail: olesia552@mail.ru;

**Бобров Игорь Петрович**, доктор мед. наук, проф. каф. судебной медицины им. проф. В.Н. Крюкова и патологической анатомии с курсом ДПО, e-mail: ig.bobrov2010@yandex.ru;

**Жарикова Ганна Викторовна**, канд. биол. наук, доцент каф. биологической химии, клин. лаб. диагностики, e-mail: ganna1704@mail.ru