

© А.В.Смирнов, В.А.Добронравов, А.И. Неворотин, С.Е.Хохлов, В.Г.Сиповский, В.В.Барабанова, С.Г.Чефу, А.А.Жлоба, Э.Л.Блашко, 2005
УДК 616.61-008.64-036.12.001.5:611.61-001

*А.В.Смирнов, В.А.Добронравов, А.И. Неворотин, С.Е.Хохлов,
В.Г.Сиповский, В.В.Барабанова, С.Г.Чефу, А.А.Жлоба, Э.Л.Блашко*

ГИПЕРГОМОЦИСТЕИНЕМИЯ УСУГУБЛЯЕТ ПОВРЕЖДЕНИЯ НЕФРОНА ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*A.V.Smirnov, V.A.Dobronravov, A.I.Nevorotin, S.E.Khokhlov, V.G.Sipovsky,
V.V.Barabanova, S.G.Chefu, A.A.Zhloba, E.L.Blashko*

HYPERHOMOCYSTEINEMIA EXACERBATES THE NEPHRON INJURIES INDUCED BY EXPERIMENTAL KIDNEY FAILURE

Научно-исследовательский институт нефрологии, Научно-исследовательский центр, кафедра патологической физиологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета имени акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ – оценить возможный вклад гомоцистеина в развитие повреждений клубочков и проксимальных канальцев (ПК) в условиях экспериментальной хронической почечной недостаточности (ПН). **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Использовали крыс линии Вистар, которые были подвергнуты субтотальной нефрэктомии. Экспериментальной группе животных ($n=11$) после операции вводили гомоцистеин (ГЦ) в дозе 13,4 мг/кг внутримышечно. В качестве контрольной группы использовали нефрэктомизированных животных без последующего введения ГЦ ($n=10$). В обеих группах определяли концентрацию общего ГЦ, креатинина, мочевины плазмы крови, а также суточный диурез, концентрацию альбумина и креатинина мочи с последующим расчетом отношения альбумин/креатинин (ACR), концентрационного индекса (U_{cr}/P_{cr}) и клиренса креатинина (C_{cr}). Проводили светооптическое и электронномикроскопическое исследование почек. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Общий ГЦ плазмы крови составил $5,0 \pm 0,7$ μ моль/л и $7,7 \pm 1,5$ μ моль/л в контрольной и экспериментальной группах соответственно ($p < 0.005$). У экспериментальных животных в сравнении с контрольными были выше значения $\log ACR$ на 100 г массы ($2,12 \pm 0,52$ vs $1,43 \pm 0,32$ мг/г, $p < 0.025$), креатинина плазмы ($79,0 \pm 13,9$ vs $56,3 \pm 8,0$ μ моль/л, $p < 0.001$) и ниже – C_{cr} ($0,20 \pm 0,07$ vs $0,46 \pm 0,08$ мл/мин, $p < 0.005$) и U_{cr}/P_{cr} ($53,2 \pm 25,9$ vs $123,3 \pm 25,7$, $p < 0.005$). Морфологически в контрольной группе крыс выявлены умеренная мезангиальная пролиферация и адгезия лейкоцитов к эндотелию капилляров клубочков наряду с выраженным нарастанием количества структур, отражающих эндоцитоз, включая большие апикальные вакуоли в клетках ПК. Назначение ГЦ приводило к усугублению описанных повреждений в обоих отделах нефрона, а также к депозиции фибрина в просвете капилляров и выраженной дезорганизации базальной цитоплазмы клеток ПК. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Результаты светооптического и субмикроскопического анализа в сочетании с биохимическими данными рассматриваются как прямое свидетельство дополнительного повреждающего воздействия ГЦ на основные клеточные популяции нефрона в условиях экспериментальной ПН.

Ключевые слова: экспериментальная почечная недостаточность, гипергомоцистеинемия, электронная микроскопия, канальцы, клубочки.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to evaluate a possible impact of homocysteine (HCy) on the glomerular and proximal tubule cell injury in the remnant kidney model (RKM). **MATERIAL AND METHODS.** An experimental group of adult male albino Wistar rats underwent subtotal nephrectomy followed by daily administration of HCy (i.m., 13.4 mg/kg) for three weeks ($n=11$). Nephrectomized rats not given HCy were used as a control group ($n=11$). Routine blood and urine functional tests as well as light and electron microscopic examinations of the kidney samples were used to compare urine albumin-creatinine ratio (ACR), creatinine clearance (C_{cr}) and cell alterations in RKM alone and those with a combination of RKM and superimposed hyperhomocysteinemia. **RESULTS.** Total plasma HCy was 5.0 ± 0.7 and 7.7 ± 1.5 in control and experimental animals respectively ($p < 0.005$). In the experimental group an increased $\log ACR$ per 100 g of body mass (2.12 ± 0.52 vs 1.43 ± 0.32 mg/g, $p < 0.025$) and plasma creatinine concentration (79.0 ± 13.9 vs 56.3 ± 8.0 , $p < 0.001$) and decreased C_{cr} (0.20 ± 0.07 vs 0.46 ± 0.08 ml/min, $p < 0.005$) and U_{cr}/P_{cr} (53.2 ± 25.9 vs 123.3 ± 25.7 , $p < 0.005$) were observed as compared to the control group. Moderate mesangial cell proliferation and local leukocyte adhesion to the endothelial lining in the glomeruli, with a pronounced increase of the amount of endocytosis-labeling structures, large apical vacuoles included, in the proximal tubule cells, were registered in the kidney parenchyma of the RKM rats. Administration of HCy apparently aggravated the above mentioned alterations in both nephron compartments and also resulted in fibrin deposition within the glomerular capillaries and extensive disorganization of the basal cytoplasm in the proximal tubule cells. **CONCLUSION.** Both light and electron microscopic data reinforced by the appropriate biochemical findings are considered as a direct evidence of the additional deleterious effects of HCy on the major cell populations of the nephron under conditions of experimental renal failure.

Key words: experimental renal failure, hyperhomocysteinemia, kidney cell disorganization, electron microscopy, kidney tubules, ultrastructure.

ВВЕДЕНИЕ

Отмечено, что по мере прогрессирования дисфункции почек и развития хронической почечной недостаточности (ХПН), наряду со многими детально изученными общими, системными и локальными нарушениями метаболизма происходит значительное увеличение концентрации в кровотоке общего гомоцистеина (ГЦ), достигающее 3–5-кратного превышения нормы [1–3], обычно в комплексе с различными белковыми молекулами [4]. Предполагают, что механизмы этого нарушения могут быть связаны как с системным нарушением метаболизма ГЦ, а именно, снижением внутриклеточных процессов реметилирования, транسمетилирования и транссульфирования, так и, в меньшей степени, со снижением выведения этого соединения [5–7]. Показано, что мишенью избытка молекул ГЦ в организме являются, в первую очередь, эндотелиальные, гладкомышечные и, возможно, другие клетки [8–11]. В ряде экспериментальных исследований установлено, что ГЦ вызывает структурные изменения в интактных почках в виде мезангиальной пролиферации и гломерулосклероза [12–14]. Нами же ранее было продемонстрировано, что ГЦ в эксперименте способна вызывать отчетливые повреждения не только клеток клубочка, но и эпителия проксимальных канальцев (ПК) [15]. Эти данные позволяют предполагать, что ГЦ является не только «невинным» свидетелем прогрессирующей дисфункции почек, но также может вызывать дополнительное повреждение структур нефрона в условиях ХПН, ускоряя прогрессирование последней. С учетом вышеизложенного, целью данной работы явилось выяснение на экспериментальной модели вклада повышенной концентрации ГЦ в комплекс повреждений, характерных для ХПН.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта использовали крыс самцов линии Вистар (возраст 12 недель, масса тела 180–220 г). Для создания экспериментальной уремии применяли метод субтотальной нефрэктомии (НЭ; эквивалентный термин – remnant kidney model – RKM) [16] как общепринятая модель ХПН, при которой значительная редукция функциональной массы почки сочетается с прогрессирующим гломерулярным склерозом и протеинурией [17–19]. Животным под наркозом (тиопентал натрия 50 мг/кг внутримышечно) была выполнена билатеральная резекция 5/6 массы почечной ткани [16]. Операции проводились в два этапа с интервалом в одну неделю. На первом этапе производилась резекция 2/3 массы левой почки. На втором этапе проводи-

ли правостороннюю нефрэктомию. Для доступа к почкам использовался заднепоясничный разрез. С целью сохранения надпочечников перед резекцией почки декапсулировали. Для профилактики операционной инфекции и для компенсации потери объема крови во время операции животным после каждого этапа операции внутрибрюшинно вводили пенициллин в дозе 1000 ед. на 100 г. массы тела и 1 мл. физиологического раствора.

Через 2 недели после НЭ животным экспериментальной группы (n=11) в течение 3 недель внутримышечно вводили DL-изомер ГЦ в дозе 13,4 мг/кг, 1 раз в сутки. Животные контрольной группы (n=10) получали внутримышечно физиологический раствор по 1 мл ежедневно в течение этого же периода времени. В ходе всего эксперимента животные содержались на стандартном лабораторном пищевом рационе и свободном потреблении воды.

За сутки до взятия материала у подопытных животных собирали суточную мочу в метаболической камере. Утром натошак под наркозом (тиопентал натрия 50 мг/кг внутримышечно) у крыс брали кровь из яремной вены в объеме 5 мл, которую помещали на 30 мин в охлажденные пластиковые пробирки с антикоагулянтом (ЭДТА). Образцы крови немедленно центрифугировали при температуре +4 °C при 3000 об/мин в течение 7 минут.

В полученных образцах плазмы крови определяли концентрацию общего ГЦ методом высокоэффективной жидкостной хроматографии со спектрометрической детекцией на аппарате Agilent 1100 [20], а также концентрацию креатинина и мочевины по стандартной методике на биохимическом автоанализаторе (COBAS MIRA, Beckmann, США).

При исследовании мочи определяли: суточный диурез, концентрацию креатинина с последующим расчетом концентрационного индекса (U_{cr}/P_{cr}) и клиренса креатинина (C_{cr}), скорректированного на 100 г массы животного. Также в моче иммунохимическим методом с нефелометрической детекцией на автоматическом анализаторе Agau-360 (Beckmann, США) определяли концентрацию альбумина и рассчитывали отношение альбумин мочи/креатинин мочи (ACR), как показатель суточной экскреции этой молекулы.

После забора крови вскрывали брюшную полость животного и брали образцы почечной ткани для морфологических исследований.

Для световой микроскопии кусочки почечной паренхимы размером до 100 мг фиксировали в формалине (10%, pH 7,4. После стандартной проводки и заливки 5–7 мк парафиновые срезы окрашивались гематоксилин-эозином по Ван Гизон с

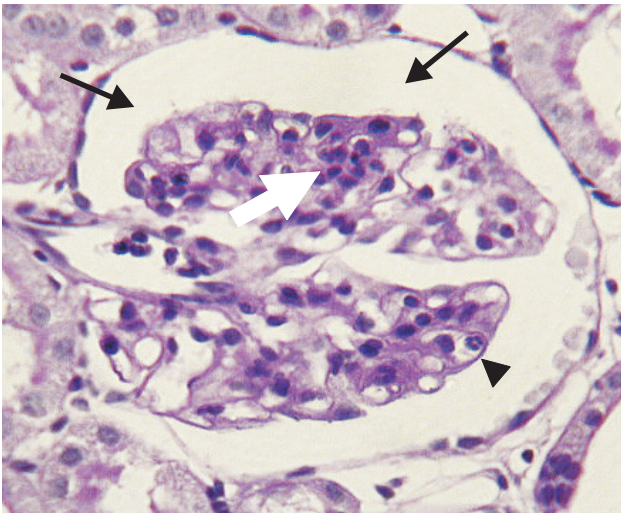


Рис. 1. Структурные изменения в нефроне при ХПН. Расширение мочевого пространства Боуменовой капсулы (черная стрелка), сегментарная гиперклеточность мезангия (белая стрелка). Наконечник стрелки указывает на картину краевого стояния сегментоядерного лейкоцита в просвете капилляра клубочка (увеличение $\times 120$).

докраской на эластические волокна, реактивом Шиффа, по Вейгерту, хромотропом, нитратом серебра по Джонсу–Моури. Полученные срезы исследовались в светооптическом микроскопе MICROS 200A (Австрия).

Для электронной микроскопии применяли альдегидную фиксацию с последующим осмированием, контрастированием, проводкой в спиртах возрастающей концентрации и заливкой в смесь Эпона и Аралдита. Ультраструктурный анализ ультратонких срезов проводился в электронном микроскопе JEM -7a (Япония).

После забора материала для морфологических исследований животных выводили из эксперимента путем перерезки брюшной аорты.

Различия в группах определяли с использованием стандартных непараметрических тестов сравнения в лицензионном пакете статистических программ SPSS 11.0. Достоверными считали различия при значении $p < 0.05$.

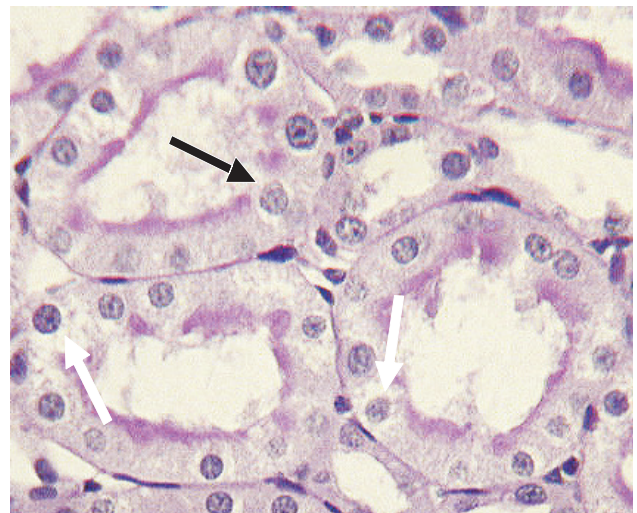


Рис. 2. Структурные изменения в нефроне при ХПН. В некоторых клетках ПК видно просветление околоядерной цитоплазмы (белые стрелки) и участки утраты щеточной каемки (черная стрелка) (увеличение $\times 160$).

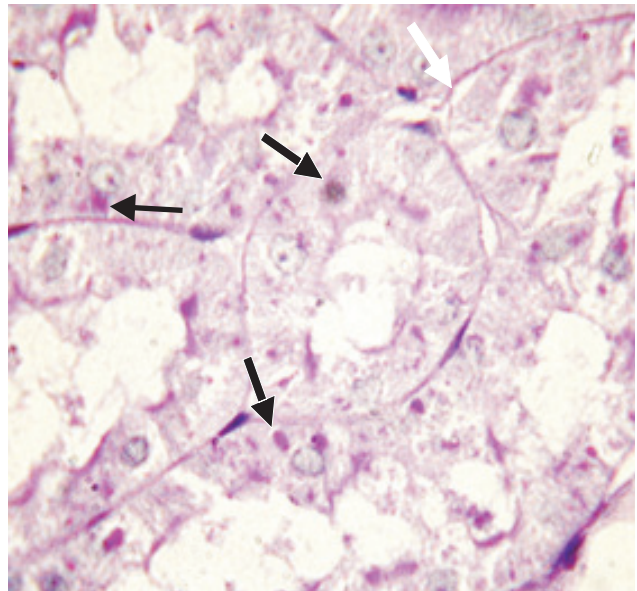


Рис. 3. Структурные изменения в нефроне при сочетании ХПН с ГГЦ. Многочисленные, в том числе и гигантские (черные стрелки) PAS-позитивные гранулы, участки некроза в базальном отделе (белая стрелка) клеток ПК; апикальная поверхность многих из них лишена щеточной каемки (увеличение $\times 140$).

Лабораторные показатели плазмы крови и мочи экспериментальных животных

Показатель	Нефрэктомия (n=10)	Нефрэктомия + ГГЦ (n=11)	p
Креатинин плазмы крови, мкмоль/л	56,3 $\pm$ 8,0	79,0 $\pm$ 13,9	$p < 0.001$
Креатинин мочи, мкмоль/л	7529 $\pm$ 1949	3769 $\pm$ 1642	$p < 0.025$
Мочевина плазмы крови, ммоль/л	13,5 $\pm$ 2,5	16,7 $\pm$ 3,8	$p > 0.10$
ГЦ плазмы крови, мкмоль/л	5,0 $\pm$ 0,7	7,7 $\pm$ 1,5	$p < 0.005$
Диурез, мл	14,1 $\pm$ 4,3	16,5 $\pm$ 8,7	$p > 0.10$
Альбумин мочи, мг/л	52,9 $\pm$ 26,2	95,1 $\pm$ 147,8	$p > 0.10$
Log(ACR)/100 г массы, мг/г	1,43 $\pm$ 0,32	2,12 $\pm$ 0,52	$p < 0.025$
U_{cr}/P_{cr}	123,3 $\pm$ 25,7	53,2 $\pm$ 25,9	$p < 0.005$
$C_{cr}/100$ г массы, мл/мин	0,46 $\pm$ 0,08	0,20 $\pm$ 0,07	$p < 0.005$

Данные представлены в виде $\bar{X} \pm SD$

РЕЗУЛЬТАТЫ

Парентеральное введение ГЦ приводило к достоверному увеличению концентрации ГЦ в плазме крови. У крыс с ГГЦ на фоне ХПН были достоверно выше концентрация креатинина плазмы крови и ниже концентрация креатинина в моче, U_{cr}/P_{cr} , а также C_{cr} . Содержание мочевины плазмы крови в обеих группах не отличалось. В экспериментальной группе животных



Рис. 4. Структурные изменения в нефроне при ХПН. Поли-
нуклеарный нейтрофильный лейкоцит в просвете капилляра клубочка. Отростки цитоплазмы лейкоцита уже проникли в межклеточные контакты и достигли базальной мембраны (стрелки). Увеличение 7160. Масштабная метка – 3 мкм.

регистрировали достоверно более высокие значения мочевого экскреции альбумина, представленной в виде логарифма ACR (таблица).

Светооптическое исследование. В структуре клубочков при моделировании ХПН отмечалось умеренное расширение мочевого пространства капсулы Боумена и неравномерное полнокровие петель

капилляров; в просвете некоторых из них наблюдались фигуры краевого стояния лейкоцитов (рис. 1). В некоторых клубочках выявлялись единичные спайки капилляров с капсулой. Для мезангия было характерно сегментарное расширение матрикса с умеренной пролиферацией мезангиальных клеток. При введении ГЦ на фоне ХПН указанные изменения были более выраженными и сопровождались очаговыми утолщениями базальных мембран и участками капиллярного стаза.

В проксимальных канальцах (ПК) при моделировании ХПН отмечена умеренная гипертрофия эпителиальных клеток с просветлением околядерной цитоплазмы при почти полной сохранности щеточной каймы (рис. 2). Введение ГЦ при удалении 5/6 почечной паренхимы приводило к частичной утрате щеточной каймы, увеличению числа PAS-положительных гранул и приводило к деструкции отдельных клеток (рис. 3).

Субмикроскопическое исследование. В ультраструктуре клубочков при моделировании ХПН в целом выявлены те же изменения, что и в световом микроскопе; существенным уточнением, однако, следует считать прямое свидетельство функционального взаимодействия между поверхностью лейкоцитов и эндотелиальной выстилкой капилляра (рис. 4). После сочетанного влияния ХПН и ГЦ в отдельных капиллярах выявлены отложения фибрина, а в подоцитах – агрегация пучков актиновых филаментов, – результат их чрезмерного сокращения (рис. 5).

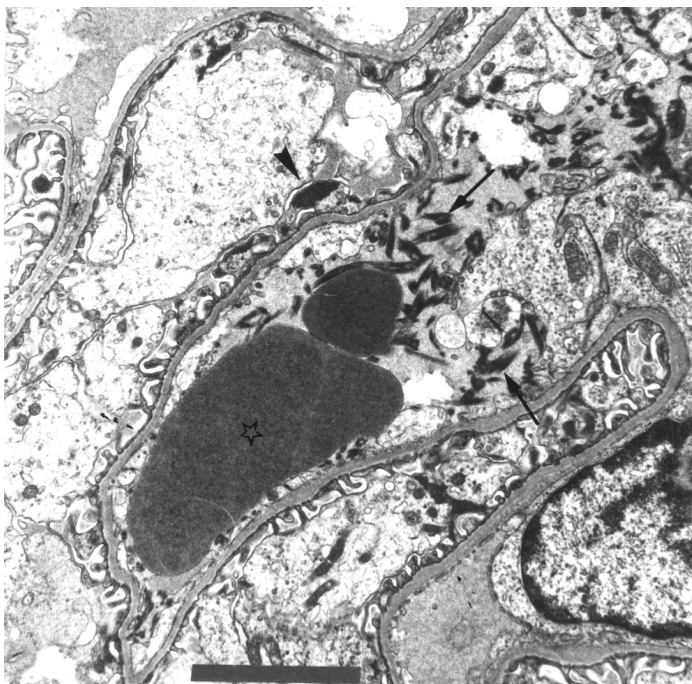


Рис. 5. Структурные изменения в нефроне при сочетании ХПН с ГГЦ. Отложение фибриновых масс (стрелки) на поверхности эндотелиальной клетки. Агрегация микрофиламентов (наконечник стрелки) в ножке подоцита. Увеличение $\times 7160$. Масштабная метка – 3 мкм.

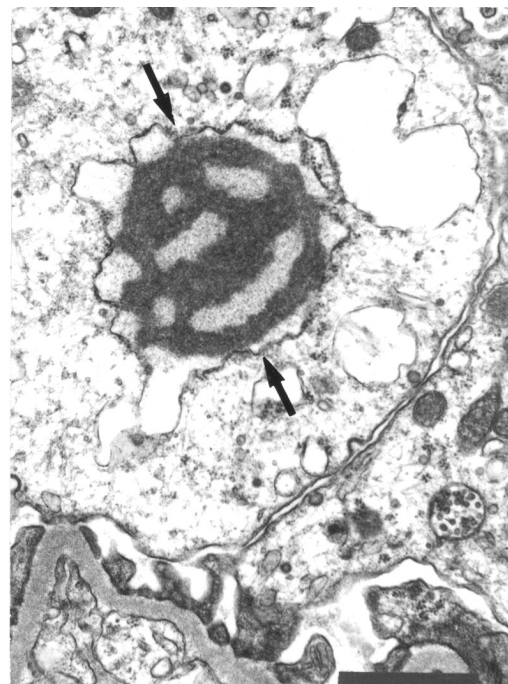


Рис. 6. Структурные изменения в нефроне при сочетании ХПН с ГГЦ. Крупное полиморфное включение в просвете резко расширенной цистерны (стрелки) шероховатого эндоплазматического ретикулума подоцита. Увеличение $\times 18580$. Масштабная метка – 1 мкм.

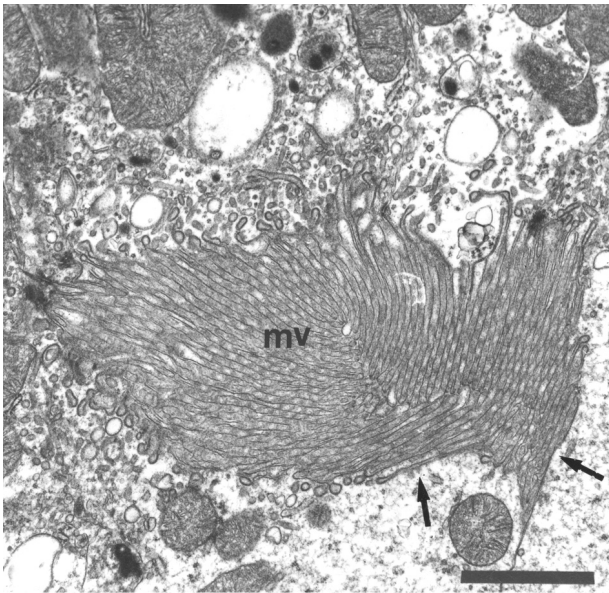


Рис. 7. Структурные изменения в нефроне при ХПН. Ультратонкий срез проходит через локальное углубление со стороны просвета ПК. Полость углубления заполнена микроворсинками (mv), отходящими от апикального отдела эпителиальной клетки, расположенной в верхней части рисунка. В цитоплазме этой клетки видны эндоцитозные пузырьки, большие апикальные вакуоли, митохондрии и единичные лизосомы, причем по расположению, структуре и количественному соотношению указанные элементы не отличаются от таковых в intactных клетках ПК. Стрелками указаны участки апикальной плазмалеммы двух соседних клеток, лишенные щеточной каемки. Увеличение $\times 11920$. Масштабная метка – 2 мкм.

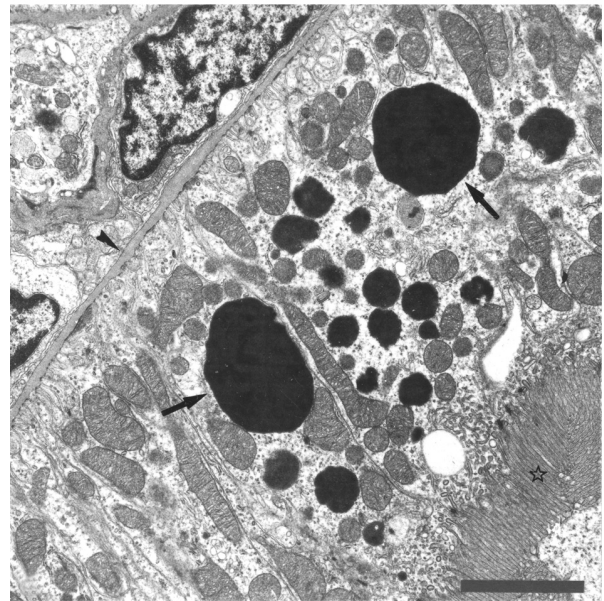


Рис. 8. Структурные изменения в нефроне при ХПН. Многочисленные, в том числе и гигантские (стрелки) лизосомы в клетках ПК. Остальные структуры не отличаются от таковых в intactных клетках ПК. Звездочкой отмечены микроворсинки щеточной каемки. Увеличение $\times 6500$. Масштабная метка – 3 мкм.

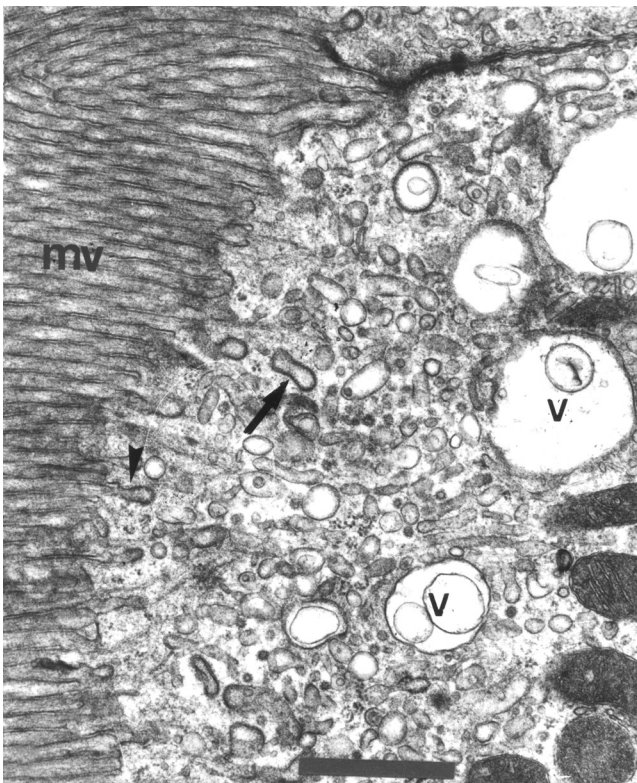


Рис. 9. Структурные изменения в нефроне при сочетании ХПН с ГГЦ. Структура апикального отдела этой клетки ПК не отличается от таковой в intactных клетках. Наконечник стрелки указывает формирующийся эндоцитозный пузырек, а стрелкой маркировано слияние двух таких пузырьков в более глубоком слое апикальной цитоплазмы клетки ПК. Увеличение $\times 19400$. Масштабная метка – 1 мкм.

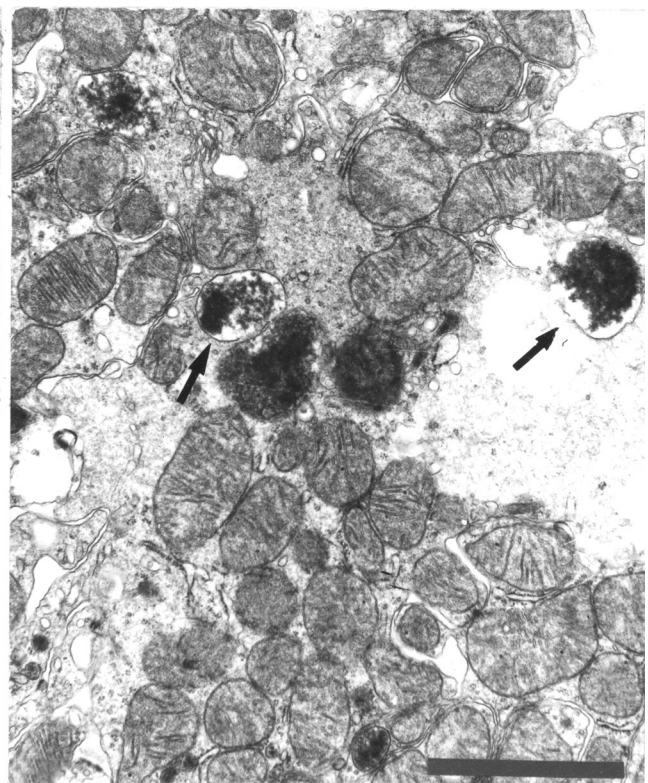


Рис. 10. Структурные изменения в нефроне при сочетании ХПН с ГГЦ. В базальном отделе клетки ПК видно заметное набухание митохондрий с локальным просветлением матрикса некоторых из них. В правой части рисунка – обширный участок клетки, свободный от органелл и не ограниченный мембраной от остальной цитоплазмы. Стрелками указаны аутофагосомы. Увеличение $\times 11750$. Масштабная метка – 2 мкм.

участки шероховатого эндоплазматического ретикула (ЭР) с гетерогенными по плотности включениями (рис. 6).

Наиболее заметным проявлением ХПН в цитоплазме клеток ПК оказалось резкое увеличение количества и размеров, нередко сопоставимых с ядерными, вторичных лизосом, частичная утрата щеточной каймы на отдельных участках апикальных отделов клеток при отсутствии иных ультраструктурных изменений в цитоплазме (рис. 7, 8). Обилие лизосом и нарушение целостности щеточной каймы были характерны и при сочетанном влиянии ХПН и ГЦ; как и при ХПН без ГЦ значительное число клеток сохраняли нормальное строение (рис. 9). Однако введение ГЦ при ХПН резко усиливало процесс аутофагии, в базальных отделах клетки наблюдалось умеренное набухание и просветление матрикса митохондрий, нередко встречались очаги запустевания цитоплазмы (рис. 10).

ОБСУЖДЕНИЕ

Доказано, что резкое повышение функциональной нагрузки на оставшиеся нефроны при удалении большей части почечной паренхимы (remnant kidney model) ведет к развитию гломерулярной гипертензии и гиперфильтрации, что, в свою очередь, влечет за собой повреждение эндотелия капилляров клубочков. Результатом этого является гиперпродукция ряда цитокинов с последующим притоком воспалительных клеток и дальнейшим исходом в гломерулосклероз [21, 22]. Структурным эквивалентом указанных изменений служит частое обнаружение лейкоцитов в просвете капилляров и их адгезия к стенке сосудов [23–25], а также спайки капилляров с капсулой и умеренные изменения в мезангии [26, 27]. Полученные в настоящей работе результаты в целом согласуются с наблюдениями других авторов [28, 29]. Признаки склероза, однако, не были обнаружены, что, скорее всего, определяется относительно коротким сроком наших опытов по сравнению с данными экспериментальных работ-прототипов [12–14]. Вместе с тем, даже при трехнедельной экспозиции ГЦ отмечены более выраженные, чем при ХПН без ГЦ, и характерные для различных видов патологии нефрона морфологические изменения клубочков, такие как очаговые утолщения базальных мембран [30–32], отложение фибрина в просвете капилляров [33–35], участки капиллярного стаза [36–38], которые сопровождались и более глубокими функциональными нарушениями, такими как нарастание содержания креатинина в плазме крови, снижение его концентрационного индекса и клиренса. Указанные изменения и, еще в большей

степени, увеличение экскреции альбумина с мочой являются, по-видимому, косвенным показателем токсического эффекта ГЦ на клубочковые структуры. Значительно более убедительным аргументом в пользу указанного эффекта служит наличие внутрицистернальных включений в просвете ЭР подоцитов, поскольку на примере самых разнообразных типов клеток установлено, что они возникают в результате агрегации неправильно упакованных (misfolded) полипептидных молекул [39,40], а ГЦ способствует такой упаковке [41,42]. Недавно показано, что именно ЭР является одной из наиболее уязвимых внутриклеточных мишеней избыточной концентрации ГЦ [39]. Не исключено, что картины агрегации актиновых филаментов в подоцитах, обнаруженные как в настоящем исследовании, так и в ряде других работ, посвященных анализу тяжелой почечной патологии [43,44], также отражают специфический эффект молекулярного повреждения полипептидов ГЦ, однако это требует специального изучения.

Резкое увеличение числа и размеров вторичных лизосом в клетках ПК при ХПН следует ассоциировать с повышением концентрации белка в первичной моче, а отсутствие других значительных изменений в цитоплазме этих клеток, за исключением локальной утраты щеточной каймы, свидетельствует, по-видимому, об адекватной компенсации этого процесса, во всяком случае на коротких сроках опыта. Негативный вклад ГЦ в этот процесс представляется вполне очевидным, поскольку, наряду с указанными изменениями в клетках ПК отмечены явно патологические сдвиги, такие как резкое повышение количества аутофагических вакуолей, утрата щеточной каймы на обширных участках апикальной поверхности, а главное – появление участков дезорганизации цитоплазмы и набухание митохондрий. Наибольший интерес, по-видимому, представляет собой выраженная полярность повреждений, а именно – преобладание грубых, явно пренекротических нарушений в базолатеральном отделе при сравнительно малоизмененном апикальном отделе рассматриваемых клеток. Если допустить, что концентрация ГЦ, поступившего в клетку как совместно с белком (эндоцитозный путь), так и по транспортным системам на плазматической мембране [45], одинакова по всей цитоплазме, наиболее вероятной причиной обнаруженной зональности повреждений в опытах с сочетанием ХПН и ГЦ представляется неодинаковая чувствительность структур, концентрирующихся преимущественно в одном из полюсов. Прежде всего, это относится к митохондриям, сосредоточенным, в основном, в

базальной цитоплазме. С одной стороны, из-за повреждения эндотелия ГЦ в различных сосудах, включая, по-видимому, и интерстициальные [46], возникает область относительной гипоксии вокруг ПК, к которой наиболее чувствительными оказываются именно митохондрии. С другой стороны, нельзя исключить и прямого избирательно повреждающего воздействия ГЦ именно на митохондрии, как установлено на примере этих органелл кардиомиоцитов и сосудов микроциркуляции головного мозга при экспериментальной ГГЦ [9,47]. В этом случае дефицит АТФ может способствовать не только дезорганизации многочисленных энергозависимых цитоплазматических структур, но и приводить к снижению активности многочисленных транспортных каналов, представленных на обширной поверхности базальных лабиринтов ПК. Следствием этого может явиться повреждение реарбсорбционной функции нефрона, что подлежит экспериментальной проверке доступными лабораторными методами. К аналогичному эффекту может приводить и непосредственное повреждающее влияние ГЦ на один или несколько транспортных каналов, что, однако, может быть проверено с использованием лишь исключительно сложных методов современной молекулярной биологии и к настоящему времени документировано лишь очень недавними единичными ссылками на модели эндотелиальных клеток легочной артерии [48].

Таким образом, введение ГЦ не только усугубляет последствия экспериментальной хронической ПН, но и приводит к весьма глубоким изменениям в клубочках и ПК, в основном повреждающего характера. Причем некоторые из этих изменений, по-видимому, отражают специфический эффект воздействия ГЦ на внутриклеточные белки. Совокупность полученных данных позволяет заключить, что ГГЦ следует рассматривать как весьма вероятный фактор риска прогрессирования ХПН.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Голубев ПВ и др. Распространенность гипергомоцистеинемии в зависимости от стадии хронической болезни почек. *Нефрология* 2005; 9(2): 48-52
2. Arnadottir M, Hultberg B, Nilsson-Ehle P, Thysel H. The effect of reduced glomerular filtration rate on plasma total homocysteine concentration. *Scand J Clin Lab Invest* 1996; 56(1): 41-46
3. Wollesen F, Brattstrom L, Refsum H, et al. Plasma total homocysteine and cysteine in relation to GFR in diabetes mellitus. *Kidney Int* 1999; 55(3): 1028-1032
4. Jakubowski H. Protein homocysteineintlation: possible mechanism underlying pathological consequences of elevated homocystein level. *The FASEB Journal* 1999; 13: 2277-2283
5. van Guldener C, Kulik W, Berger R et al. Homocysteine and methionine metabolism in ESRD: a stable isotope study. *Kidney Int* 1999; 56(3): 1064-1071
6. Hultberg B, Andersson A, Sterner G. Plasma homocysteine in renal failure. *Clin Nephrol* 1993; 40(4): 230-235
7. van Guldener C, Janssen MJFM, de Meer K et al. CDA Effect of folic acid and betaine on fasting and postmethionine-loading plasma homocysteine and methionine levels in chronic hemodialysis patients. *J Int Med* 1999; 245: 175-183
8. Cook JW, Taylor LM, Orloff SL et al. Homocysteine and arterial disease. Experimental mechanisms. *Vascul Pharmacol* 2002; 38(5): 293-300
9. Kim JM, Lee H, Chang N. Hyperhomocysteinemia due to short-term folate deprivation is related to electron microscopic changes in the rat brain. *J Nutr* 2002; 132(11): 3418-3421
10. Baumbach GL, Sigmund CD, Bottiglieri T, Lentz SR. Structure of cerebral arterioles in cystathionine beta-synthase-deficient mice. *Circ Res* 2002; 91(10):931-937
11. Rolland PH, Friggi A, Barlatier A et al. Hyperhomocysteinemia-induced vascular damage in the minipig: captopril-hydrochlorothiazide combination prevents elastic alterations. *Circulation* 1995; 91: 1161-1174
12. Miller A, Mujumdar V, Shek E et al. Hyperhomocyst(e)inemia induces multiorgan damage. *Heart Vessels* 2000; 15(3):135-143
13. Li N, Chen YF, Zou AP. Implications of hyperhomocysteinemia in glomerular sclerosis in hypertension. *Hypertension* 2002; 39(2 Pt 2): 443-448
14. Chen YF, Li PL, Zou AP. Effect of hyperhomocysteinemia on plasma or tissue adenosine levels and renal function. *Circulation* 2002; 106:1275-1281
15. Смирнов АВ, Добронравов ВА, Неворотин АИ и др. Гомоцистеин вызывает повреждения не только клубочкового, но и канальцевого отдела нефрона (экспериментальное исследование) *Нефрология* 2005; 9(3): 81-87
16. Ormrod D, Miller T. Experimental uremia. Description of a model producing varying degrees of stable uremia. *Nephron* 1980; 26(5): 249-254
17. Anderson S, Brenner B. The role of intraglomerular pressure in the initiation and progression of renal disease. *J Hypertens Suppl* 1986; 4(5): S236-8
18. Schwartz MM, Bidani AK, Lewis EJ. Glomerular epithelial cell function and pathology following extreme ablation of renal mass. *Am J Pathol* 1987; 126(2):315-24
19. Olson JL, de Urdaneta AG, Heptinstall RH. Glomerular hyalinosis and its relation to hyperfiltration. *Lab Invest* 1985; 52(4): 387-98
20. Zhloba AA, Blashko EL. Liquid chromatographic determination of total homocysteine in blood plasma with photometric detection. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci* 2004; 800(1-2): 275-280
21. Floege J, Burns MW, Alpers CE et al. Glomerular cell proliferation and PDGF expression precede glomerulosclerosis in the remnant kidney model. *Kidney Int* 1992; 42: 297-309
22. Ohashi R, Nakagawa T, Watanabe S et al. Inhibition of p38 mitogen-activated protein kinase augments progression of remnant kidney model by activating the ERK pathway. *Am J Pathol* 2004; 164(2): 477-485
23. Feng L, Xia Y, Yoshimura T, Wilson CB. Modulation of neutrophil influx in glomerulonephritis in the rat with anti-macrophage inflammatory protein-2 (MIP-2) antibody. *J Clin Invest* 1995; 95(3):1009-17
24. Ley K. Integration of inflammatory signals by rolling neutrophils. *Immunol Rev* 2002; 186:8-18
25. Alon R, Feigelson S. From rolling to arrest on blood vessels: leukocyte tap dancing on endothelial integrin ligands and chemokines at sub-second contacts. *Semin Immunol* 2002; 14(2): 93-104
26. Floege J, Alpers CE, Burns MW et al. Glomerular cells, extracellular matrix accumulation, and development of glomerulosclerosis in the remnant kidney model. *Lab Invest* 1992; 66(4):485-97
27. Floege J, Burns MW, Alpers CE et al. Glomerular cell proliferation and PDGF expression precede glomerulosclerosis in the remnant kidney model. *Kidney Int* 1992; 4(2):297-309
28. Floege J, Lonson RJ, Couser WG. Mesangial cells in the

pathogenesis of progressive glomerular disease in animal models. *Clin Invest* 1992; 70(9): 857-913

29. Shankland SJ, Hamel P, Scholey JW. Cyclin and cyclin-dependent kinase expression in remnant glomerulus *J Am Soc Nephrol* 1997; 8(3): 368-375

30. Caglar Y, Kaya M, Belge E, Mete UO. Ultrastructural evaluation of the effect of endosulfan on mice kidney. *Histol Histopathol* 2003;18(3):703-708

31. Obineche EN, Mensah-Brown E, Chandranath SI et al. Morphological changes in the rat kidney following long-term diabetes. *Arch Physiol Biochem* 2001;109(3): 241-245

32. Bal C, Longkumer T, Patel C et al. Renal function and structure in subacute hepatic failure. *J Gastroenterol Hepatol* 2000;15(11): 1318-1324

33. Ono T, Liu N, Makino T et al. Role of mesangial Factor V expression in crescent formation in rat experimental mesangioproliferative glomerulonephritis. *J Pathol* 2004; 204(2): 229-238

34. Davin JC, Dechenne C, Lombet J et al. Acute experimental glomerulonephritis induced by the glomerular deposition of circulating polymeric IgA-concanavalin A complexes. *Virchows Arch A Pathol Anat Histopathol* 1989; 415(1): 7-20

35. D'Agati V, Chander P, Nash M, Mancilla-Jimenez R. Idiopathic microscopic polyarteritis nodosa: ultrastructural observations on the renal vascular and glomerular lesions. *Am J Kidney Dis* 1986; 7(1): 95-110

36. Coppola A, Davi G, De Stefano V et al. Homocysteine, coagulation, platelet function and thrombosis. *Semin Thromb Hemost* 2000; 26(3): 243-254

37. Ay H, Arsava EM, Tokgozoglu SL et al. Hyperhomocysteinemia is associated with the presence of left atrial thrombus in stroke patients with nonvalvular atrial fibrillation. *Stroke* 2003; 34(4): 909-912

38. Heil SG, De Vriese AS, Kluijtmans LA et al. The role of

hyperhomocysteinemia in nitric oxide (NO) and endothelium-derived hyperpolarizing factor (EDHF)-mediated vasodilatation. *Cell Mol Biol (Noisy-le-grand)* 2004; 50 (8): 911-916

39. Nevorotin AI. Endoplasmic reticulum (a review of the literature). *Tsitologiya* 1992; 34(8): 3-25

40. Pow DV, Morris JF, Rodgers S. Peptide accretions in the endoplasmic reticulum of magnocellular neurosecretory neurons in normal and experimentally manipulated rats. *J Anat* 1991; 178: 155-174

41. Hutchinson S, Aplin RT, Webb H et al. Molecular effects of homocysteine on cbEGF domain structure: insights into the pathogenesis of homocystinuria. *J Mol Biol* 2005; 346(3): 833-844

42. Werstuck GH, Lentz SR, Dayal S et al. Homocysteine-induced endoplasmic reticulum stress causes dysregulation of the cholesterol and triglyceride biosynthetic pathways. *J Clin Invest* 2001;107(10):1263-1273

43. Asanuma K, Mundel P. The role of podocytes in glomerular pathobiology. *Clin Exp Nephrol* 2003; 7(4):255-259

44. Pavenstadt H, Kriz W, Kretzler M. Cell biology of the glomerular podocyte. *Physiol Rev* 2003; 83(1): 253-307

45. Hultberg B. Extracellular concentration of homocysteine in human cell lines is influenced by specific inhibitors of cyst(e)ine transport. *Clin Chem Lab Med* 2004; 42(4): 378-383

46. Kumagai H, Katoh S, Hirose K et al. Renal tubulointerstitial injury in weanling rats with hyperhomocysteinemia. *Kidney Int* 2002; 62(4):1219-1228

47. Chang L, Xu J, Yu F et al. Taurine protected myocardial mitochondria injury induced by hyperhomocysteinemia in rats. *Amino Acids* 2004; 27(1):37-48

48. Harrington EO, Newton J, Morin N, Rounds S. Barrier dysfunction and RhoA activation are blunted by homocysteine and adenosine in pulmonary endothelium. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2004; 287(6): L1091-1097

Поступила в редакцию 19.10.2005 г.