

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ
ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное учреждение науки
Институт эволюционной физиологии и биохимии им. И.М. Сеченова
Российской Академии Наук

Научный доклад об основных результатах подготовленной научно-
квалификационной работы (диссертации)

**Морфофункциональные изменения фильтрационного барьера почек
крыс при интоксикации параоксоном**

Соколова Маргарита Олеговна

1.5.22. Клеточная биология
(Биологические науки)

Научный руководитель
д.б.н. Соболев Владислав Евгеньевич

Санкт-Петербург
2023

Общая характеристика работы

Актуальность темы исследования

Фосфоорганические соединения (ФОС) входят в группу химических веществ, широко применяемых в сельскохозяйственном производстве в качестве пестицидов и инсектицидов [1, 27]. Параоксон (О, О-диэтилО-(4-нитрофенил) фосфат) является активным метаболитом инсектицида паратиона [13, 36]. Паратион классифицируется ВОЗ как стойкий органический загрязнитель класса токсичности Ia (чрезвычайно опасный) [22]. Он быстро и полно всасывается при любых путях введения. Основным способом попадания инсектицидов, подобных параоксону, в организм является контакт с кожными покровами или поступление через желудочно-кишечный тракт, что приводит к острому или хроническому отравлению. Метаболиты параоксона выводятся из организма, в основном, почками. Оценка участия ФОС в формировании нефропатологии при остром воздействии на человека проводилась на основании данных и образцов биологического материала, собранных National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) в США в 2001–2004 и 2007–2010 годов [31], 2009–2010, 2011–2012 [14], и 2005–2015 для лиц младше 18 лет [10], а также многочисленных, освещенных в литературе, случаях формирования острого почечного повреждения (ОПП) у людей после отравления ФОС [8, 19, 23]. Хотя у пациентов с ХБП имелись следы метаболитов ФОС в моче, все эти исследования не подтвердили однозначной связи между отравлением ФОС и формированием нефропатологии. Механизм воздействия ФОС на почки и степень повреждения в результате однократного острого воздействия остаются не выясненными [30, 32]. Результаты морфологического исследования случаев отравления ФОС сконцентрированы на массивных повреждениях тубулярных эпителиальных клеток извитых канальцев почек, вопрос о том, затрагивает ли острое воздействие ФОС гломерулярный фильтрационный барьер почек рассмотрен недостаточно.

Несмотря на рост описанных случаев ОПП при остром воздействии ФОС, характер морфологических изменений в тканях почек рассмотрен недостаточно и нуждается в дополнительных исследованиях. Таким образом, актуальность данного исследования определяется необходимостью выявления появления ультраструктурных нарушений в гломерулярном фильтрационном барьере почек после острого воздействия ФОС для уточнения прогноза рисков для лиц, контактирующих с ФОС, а также понимания механизма воздействия ФОС на почки.

Цель и задачи исследования

Цель исследования:

Выявить и сравнить нарушения в гломерулярном фильтрационном барьере почек крыс в результате острого воздействия сублетальных доз параоксона в трех моделях отравления.

Задачи исследования:

1. Воспроизвести в экспериментах *in vivo* острую интоксикацию параоксоном крыс в трех моделях отравления – в модели 1- с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы крови специфическим ингибитором СВDP (СВРОХ); в модели 2 - двукратным интервальным введением параоксона (РОХ2х); в модели 3 – введением параоксона в дозах LD50 и LD84 без предварительного ингибирования карбоксилэстеразы (РОХ1х).
2. Выполнить сравнительное комплексное морфологическое, электронно-микроскопическое, иммуногистохимическое и морфометрическое исследование тканей почек крыс в трех моделях отравления.
3. Провести сравнительный анализ морфометрических показателей компонентов гломерулярного фильтрационного барьера и тубулярных эпителиальных клеток извитых канальцев нефрона почек крыс в моделях отравления.

Положения, выносимые на защиту

1. Острая интоксикация ФОС в 3-х моделях отравления крыс параоксоном вне зависимости от наличия и способа ингибирования карбоксилэстеразы крови является повреждающим фактором для гломерулярного фильтрационного барьера и тубулярных эпителиальных клеток извитых канальцев почек.
2. Нефротоксичность параоксона проявляется изменениями в архитектуре гломерулярного фильтрационного барьера почек крыс, затрагивает фенестры эндотелиальных клеток клубочковых капилляров, структуру гломерулярной базальной мембраны и актиновый цитоскелет цитоподий подоцитов.
3. Воздействие параоксона на тубулярные эпителиальные клетки извитых канальцев имеет временный характер, морфологические изменения тубулярных клеток и биохимические показатели крови и мочи восстанавливаются спустя семь суток после отравления.
4. Способ ингибирования карбоксилазы крови влияет на степень повреждения гломерулярного фильтрационного барьера и тубулярных эпителиальных клеток извитых канальцев нефрона. Двукратное интервальное введение параоксона (РОХ2) вызывает максимально выраженные изменения в нефронах отравленных животных в трех моделях отравления.
5. Острое отравление параоксоном не изменяет экспрессию основных структурных белков гломерулярного фильтрационного барьера почек –

нефрина и коллагена VI типа, обеспечивающих архитектурную целостность гломерулярной базальной мембраны и сохранность щелевых диафрагм.

б. Структурные изменения эндотелиальных клеток клубочковых капилляров и гломерулярной базальной мембраны в результате острого отравления параоксоном имеют постоянный характер, и в результате однократного отравления сохраняются длительный, (до 90 суток) срок после отравления.

Научная новизна исследования

Впервые проведена комплексная сравнительная оценка структурно-функциональных элементов гломерулярного фильтрационного барьера почек крыс после острого воздействия параоксона в трех моделях отравления, в том числе с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы крови крыс различными способами.

Теоретическое и практическое значение работы

На основе анализа данных литературы, результатов собственного экспериментального исследования установлено, что для изучения механизмов нефротоксичности ФОС и возможностей защиты от их патологического эффекта необходимо исследование адаптации тканевых элементов к воздействию токсиканта на ультраструктурном уровне; для выявления мишеней, воздействие на которые способствует снижению токсического воздействия параоксона, необходимо учитывать изменения, происходящие в структуре гломерулярного фильтрационного барьера и тубулярных эпителиальных клеток извитых канальцев нефрона; также для разработки методов решения проблемы отравления ФОС необходимо учитывать что эндотелиальные клетки клубочковых капилляров являются основным клеточным элементом гломерулярного фильтрационного барьера почек, нарушения архитектуры которого сохраняется в длительном периоде и запускает каскад дальнейших патологических изменений прочих элементов.

Апробация результатов исследования

Основные результаты диссертационного исследования доложены и обсуждены на XXVII Всероссийской конференции молодых учёных с международным участием «Актуальные проблемы биомедицины – 2021» (Санкт-Петербург, 2021), XXV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье» (Санкт-Петербург, 2022), XI Всероссийском съезде трансплантологов с международным участием (Москва, 2022).

Публикации

По теме диссертации опубликовано 5 печатных работ, в том числе 3 в журналах, рекомендованных Высшей аттестационной комиссией при Министерстве образования и науки Российской Федерации.

Материалы и методы

1. Объект исследования. Информация об уходе, содержании и эвтаназии животных

Исследование проводилось на белых беспородных крысах-самцах *Rattus norvegicus*, массой 250 – 370 г. в соответствии с Директивой ЕС 2010/63/EU по проведению экспериментов на лабораторных животных и было одобрено Этическим комитетом Института эволюционной физиологии и биохимии имени И.М. Сеченова Российской академии наук (этическое разрешение № 13-к-а от 15 февраля 2018 г.). Ограничения в питании и питьевом режиме для животных не вводились. В контрольные точки проводили выборочную эвтаназию животных в каждой группе путем декапитации, отбирали материал для биохимического и морфологического исследования.

2. Обследуемые группы.

В соответствии с целью эксперимента животные случайным образом были поделены на 4 группы:

Группа №1 – Контроль (n=32). Интактные животные, без признаков инфекционной патологии для оценки биохимических параметров сыворотки крови и мочи, морфологии тканей почек.

Группа №2 – POX1x (n=35). Животные, подвергшиеся однократному введению параоксона в сублетальной дозе 250 мкг/кг (для сроков 1, 3, 7 суток) и 420 мкг/кг (для сроков 14, 30, 60 и 90 суток) для оценки изменения биохимических показателей сыворотки крови и мочи, морфологического исследования тканей почек без предварительного ингибирования карбоксилэстеразы крови у крыс.

Группа №3 – POX2x (n=15). Животные, подвергшиеся дробному последовательному введению параоксона в сублетальных дозах 110 мкг/кг и 150 мкг/кг, для оценки изменения биохимических показателей сыворотки крови и мочи, морфологического исследования тканей почек с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы крови у крыс путем двукратного введения параоксона.

Группа №4 – СВРОХ (n=15). Животные, подвергшиеся введению специфического ингибитора СВDP в дозе 3.3 мг/кг и последующим отравлением параоксоном в дозе 150 мкг/кг, для оценки изменения биохимических показателей сыворотки крови и мочи, морфологического исследования тканей почек с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы крови крыс путем введения специфического ингибитора.

3. Введение исследуемого препарата:

Параоксон (О, О-диэтил-О-(п-нитрофенил) фосфат, РОХ, Sigma) вводили животным подкожно в дозировке, указанной выше для каждой исследуемой группы. Специфический ингибитор карбоксилэстеразы СВDP (2-(о-крезил)-4Н-1,3,2-бензодиоксафосфорин-2-оксид, синтезирован в НИИ гигиены, профпатологии и экологии человека ФМБА России), вводили подкожно животным группы СВРОХ. Интактным животным контрольной группы вводили 1 мл 0,9% раствора NaCl.

4. Контрольные точки исследования

Основные экспериментальные данные получали в контрольных точках исследования: 1, 3, 7 сутки от момента моделирования заболевания. Выбор таких временных интервалов обусловлен данными литературных источников о сроках формирования острого повреждения почек в результате отравления ФОС. Для группы РОХ1х дополнительно получали материал на сроках 14, 30, 60 и 90 суток с целью выявления изменений, имеющих отсроченный характер. Всех животных взвешивали до введения параоксона и в момент выведения животного из эксперимента.

5. Методы взятия биологического материала для последующего анализа

Во всех моделях отравления отбор биологического материала проводили через 1, 3 и 7 суток после введения параоксона. Дополнительно отбор материала производили для группы РОХ1х на сроках 14, 30, 60 и 90 суток после отравления. Образцы суточной мочи собирали в метаболических клетках Techniplast® Metabolic cages for Mice & Rats (Braintree Scientific, USA). После декапитации крыс образцы гепаринизированной крови (50 IU/ml) центрифугировали 4 мин при 3000 об/мин (1500 g). Полученную плазму хранили при -70°C до проведения анализа. Почки после эвтаназии быстро извлекали, взвешивали, и с помощью скальпеля вырезали образцы ткани для гистологических исследований.

6. Описание используемых лабораторных методов исследования биологического материала

Биохимия. Исследование образцов мочи проводили на анализаторе мочи Combilyzer 13 (Human GmbH, Германия). Оценивали удельный вес, pH, суточный диурез, уровни содержания мочевого кислоты, креатинина, общего белка, глюкозы, D-3-гидроксибутерата, альбумина. Исследования сыворотки крови проводили на биохимическом анализаторе Sapphire (Hirose Electronic System Co., Япония) с использованием коммерческих наборов согласно инструкции производителя. Измеряли уровни содержания в сыворотке крови

аланинаминотрансферазы, аспаратаминотрансферазы, альбумина, глюкозы, D-3-гидроксипурутата, липазы, общего белка, щелочной фосфатазы, мочевины, триглицеридов, креатинина, гликированного гемоглобина, общего билирубина, холестерина, липопротеинов низкой плотности, липопротеинов высокой плотности, мочевой кислоты, амилазы.

Гистологическое исследование. Образцы почек фиксировали в 10 % нейтральном забуференном формалине, обезвоживали в спиртах восходящей концентрации, заливали в парафин. Обзорные срезы окрашивали гемактоксилином и эозином, изучали на микроскопе Axio Imager A2 (Zeiss, Германия).

Иммуногистохимия. Парафиновые срезы почек окрашивали антителами к нефрину и коллагену VI типа (Sigma-Aldrich, США), для визуализации антигена применяли систему детекции Reveal-Biotin-Free Polivalent AP (Spring Bioscience Corp., США).

Трансмиссионная электронная микроскопия. Образцы ткани почек фиксировали 2,5 % глутаровом альдегиде на фосфатном буфере pH 7,2-7,4 в течение 24 часов, дофиксацию проводили 2% раствором оксида осмия на фосфатном буфере pH 7,2-7,4 с сахарозой, последовательно обезвоживали сперва в спиртах восходящей концентрации, а затем ацетоне, и заливали в смолу Аралдит (ESM, США). Полутонкие срезы окрашивали метиленовым синим. Двойное контрастирование ультратонких срезов, толщиной 80 нм, проводили в растворе нитрата свинца и 1 % водном растворе уранилацетата (Serva, Германия). Ультратонкие срезы исследовали на электронном микроскопе Merlin (Zeiss, Германия).

Морфометрическое исследование. Измерения производили на снимках, полученных с электронного и светового микроскопов в программе для анализа и обработки фотографии ImageJ (НИН, США) и базовой программе для получения, обработки и анализа изображений AxioVision, version 4.8.2 (Carl Zeiss, Германия). Измеряли радиусы проксимального и дистального канальцев нефрона, радиус почечных телец, высоту тубулярных эпителиальных клеток проксимального и дистального отдела извитых канальцев нефрона. Для морфометрии компонентов гломерулярного фильтрационного барьера измерения проводились на 4-х интракортикальных клубочках для каждого животного, используя метод, описанный [4]. Измеряли количество фенестр в тестовом отрезке гломерулярной базальной мембраны 2 мкм, радиус фенестр, толщину гломерулярной базальной мембраны, количество ножек подоцитов, примыкающих к мембране в тестовом отрезке 2 мкм, ширину подошвенной части цитоподий подоцитов.

Статистическая обработка результатов исследования. Данные обрабатывали в программе GraphPad Prism 5.0 и Statistica 7.0. Проверку на нормальность распределения выполняли с использованием тестов Колмогорова-Смирнова и Шапиро-Уилка. Данные с нормальным распределением сравнивали в однофакторном тесте ANOVA с поправкой Бонферони, в других случаях применяли непараметрический тест Крускала-Уоллиса для множественных сравнений с использованием критерия Данна.

Сравнение двух независимых выборок выполняли по U-критерию Манна-Уитни. Отличия считались статистически значимыми при $p < 0.05$. Данные представлены в виде среднего \pm стандартное отклонение ($M \pm SD$).

Результаты и обсуждение

1 Сравнительная оценка изменения относительной массы почек, биохимических показателей сыворотки крови и мочи крыс в 3-х моделях отравления

Относительная масса почек

Относительная масса правой и левой почек изменялась только в группе РОХ1х в 1-е сутки после отравления ($p < 0,05$). В группе предварительного ингибирования изменений выявлено не было. В 3-и и 7-е сутки после отравления масса почек экспериментальных животных соответствовала контрольным значениям. Данные о средних показателях относительного веса правой и левой почек представлены в таблице.

Таблица 1. Распределение относительной массы почек в 1-е сутки после отравления в контрольной и экспериментальных группах, г

Группа / Объект	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
Правая почка, г	0.357 \pm 0.01	0.435\pm0.01*	0.355 \pm 0.01	0.355 \pm 0.01
Левая почка, г	0.343 \pm 0.01	0.407\pm0.01*	0.365 \pm 0.01	0.365 \pm 0.01

Клиренс креатинина

Эндогенный клиренс креатинина у крыс вне зависимости от способа ингибирования карбоксилэстеразы крови заметно снижался в 1-е сутки после отравления параоксоном в группах РОХ2х ($p < 0,05$) и СВРОХ ($p < 0,05$). В группе без предварительного ингибирования РОХ1х отмечалась тенденция к снижению, но статистически значимых отличий выявлено не было. В 3-и и 7-е сутки после отравления клиренс креатинина у крыс всех групп существенно не отличался от контрольных показателей. Данные о показателях клиренса эндогенного креатинина в контрольной и экспериментальных группах представлены в таблице 2.

Таблица 2. Средние показатели клиренса эндогенного креатинина у животных контрольной и экспериментальных групп, мл/мин/100 г массы тела

Группа	1 сутки	3 сутки	7 сутки
Контроль	0.25±0.01	0.28±0.01	0.30±0.01
РОХ1х	0,21±0.07	0.28±0.03	0.31±0.05
РОХ2х	0.18±0.01**	0.33±0.05	0.36±0.05
СВРОХ	0.21±0.02*	0.38±0.04	0.30±0.05

Сывороточный альбумин

В 1-е сутки после отравления у крыс без предварительного ингибирования карбоксилэстеразы – РОХ1х наблюдалось статистически значимое снижение уровня содержания сывороточного альбумина в крови ($p < 0,05$), в 3-и и 7-е сутки после отравления уровень содержания альбумина не отличался от контрольных значений. В группах с предварительным ингибированием РОХ2х и СВРОХ уровень содержания сывороточного альбумина соответствовал контрольным значениям. При этом уровень содержания альбумина в моче оставался в пределах $1,02 \pm 0,35$ г/л во всех исследуемых группах, что соответствует контрольным значениям. Данные о показателях уровня содержания сывороточного альбумина в контрольной и экспериментальной группах представлено в таблице 3.

Таблица 3. Уровень содержания альбумина в сыворотке крови крыс контрольной и экспериментальной групп, г/л

Группа	1 сутки	3 сутки	7 сутки
Контроль	35.8±1,3	32,07±1,7	32,1±1,8
РОХ	30,65±5,83*	34,20±1,72	32,28±1,29
РОХ2х	32,45±0,91	32,95±2,74	32,65±2,29
СВРОХ	31,12±1,33	32,93±0,72	30,95±2,74

Показатели уровней содержания амилазы, лактата, мочевой кислоты, общего билирубина, триглицеридов, мочевины, общего белка, глюкозы, D-3-гидроксибутирата в сыворотке крови отравленных животных не обнаруживали статистически значимых отличий от показателей контрольной группы.

Глюкоза

Одним из значимых отличий биохимии мочи у отравленных крыс была выраженная глюкозурия, наблюдаемая в 1-е сутки после отравления в группах РОХ1х, РОХ2х и СВРОХ ($p < 0,0001$). В 3-и и 7-е сутки во всех исследуемых группах уровень содержания глюкозы соответствовал контрольным значениям. Данные об уровнях содержания глюкозы в моче отравленных животных представлены в таблице 4.

Таблица 4. Уровень содержания глюкозы в моче и сыворотке крови крыс в 1-е сутки после отравления в контрольной и экспериментальных группах, ммоль/л

Образец	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
В моче	1,56±0,24	18,26±7,86***	21,33±7,89***	12,38±7,27***
В сыворотке	7,7±1,41	8,37±0,30	7,28±1,84	7,45±0,58

Показатели рН мочи крыс групп с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы РОХ2х и СВРОХ колебались в диапазоне 6.0–7.0, удельный вес мочи составлял 1.016–1.025 г/л, наблюдалась микроальбуминурия в диапазоне 30-80 мг/л, что не обнаруживало значимых различий при сравнении с контрольными значениями. Суточный диурез при этом вырос относительно контрольных значений в 1-е сутки после отравления.

В моче отравленных животных без предварительного ингибирования карбоксилэстеразы РОХ1х выявлено сокращение суточного диуреза, увеличение плотности мочи и уровня D-3-гидроксибутирата в 1-е сутки после отравления ($p < 0,05$). Уровень мочевой кислоты увеличивался в 1-е и 3-и сутки, рН мочи смещался в кислую сторону в 1-е и в щелочную в 3-и сутки после отравления ($p < 0,05$). Данные об этих показателях представлены в таблице.

Таблица 5. Параметры биохимии мочи крыс группы РОХ1х в 1-е, 3-и и 7-е сутки наблюдения

Показатель \ Группа	Суточный диурез, мл	рН	Удельный вес, г/л	Мочевая кислота, мкмоль/л	Общий белок, г/л	D-3-гидроксибутират, ммоль/л
Контроль	12,38±0,86	7,4±0,1	1,015±0,05	216,37±67,5	4,7±0,37	0,06±0,03
РОХ1х 1-е сутки	8,0±0,86*	6,4±0,1*	1,035±0,05*	615,18±153,6**	5,20±0,31	0,135±0,02*
РОХ1х 3-и сутки	14,38±2,75	8,2±0,1*	1,015±0,05	383,7±12,34**	3,62±0,76	0,06±0,04
РОХ1х 7-е сутки	14,58±2,33	7,4±0,1	1,02±0,05	116,34±9,27	4,12±0,49	0,06±0,04

Микроскопическое исследование осадка мочи крыс не выявило значимых признаков развития острого повреждения почек, а именно: гематурии, эритроцитурии, пиурии, кристаллурии, цилиндрурии и повышения содержания эпителиальных клеток. Острое отравление параоксоном нарушило функциональную активность почек, о чем свидетельствует снижение скорости клубочковой фильтрации в 1-е сутки после отравления. В литературе сообщается о нефротоксичности ФОС и формировании ОПП в случае острого отравления [33, 35]. При этом у крыс острое отравление параоксоном продемонстрировало наступление состояния метаболического кетоацидоза в 1-е сутки после отравления, что также согласуется с данными литературы [23]. Также в представленном исследовании острое отравление

Размер почечного тельца	+1	+1	0	+1	0	0	-1	0	0	(0)
Кариопикноз ядер ТЭК ПК	+1	0	0	+1	0	0	+1	0	0	(0)
Нарушение микроворсинок ТЭК ПК	+1	0	0	+1	+1	0	+1	+1	0	(0)
Клеточный детрит в просвете ПК	+1	+2	+1	0	+1	+2	+2	+2	+1	(0)
Кариопикноз ядер ТЭК ДК	+1	0	0	+1	0	0	+1	0	0	(0)
Нарушение апикальной поверхности ТЭК ДК	0	0	0	0	0	0	0	0	+1	(0)
Клеточный детрит в просвете ДК	+1	+2	+1	+2	+2	+1	+2	0	0	(0)

Данные о морфометрической оценке показателей средней площади почечного тельца, среднем диаметре проксимального отдела извитого канальца и дистального отдела извитого канальца представлены в таблице 7.

Таблица 7. Средние морфометрические радиуса почечного тельца, диаметра проксимального и дистального отдела канальцев в разных группах.

Показатель/ группа	Площадь почечного тельца, мкм ²	Диаметр ПК, мкм	Диаметр ДК, мкм
Контроль	19,07±4,5	13,70±1,5	17,55±2,6
POX1 x	1	17,54±5,05	11,23±2,7
	3	18,35±5,1	10,96±3,04
	7	18,48±2,9	11,37±2,7
POX2 x	1	20,00±6,1	14,08±2,8
	3	18,24±1,3	13,35±4,20
	7	17,83±5,6	14,30±4,35
CBP OX	1	17,56±4,3	14,05±3,4
	3	20,08±5,4	17,2±5,3*
	7	17,84±4,5	15,17±5,1*

Морфометрическая оценка продемонстрировала увеличение диаметра проксимального отдела извитых канальцев и сокращение диаметра дистального отдела извитых канальцев в 7-е сутки после отравления у групп POX2x и CBPOX ($p < 0,05$). В остальном изучение гистологических срезов коркового вещества почек не показало значимых отличий между группами.

Иммуногистохимия

ИГХ показало положительную реакцию на основной белок щелевой диафрагмы – нефрин и на присутствие этого белка в цитоплазме подоцитов во всех контрольных точках. Уровень экспрессии у интактных и отравленных животных с предварительным и без предварительного ингибирования карбоксилэстеразы оказался сопоставимым. Коллаген IV типа, основной структурный компонент ГБМ, присутствовал в капиллярном клубочке и базальных мембранах мелких капилляров эндотелия во всех контрольных точках. Отличий в экспрессии коллагена IV типа между интактными и отравленными животными не наблюдалось.

Нефрин играет роль связующего звена между ножками подоцитов III-го порядка, за счет чего актиновый цитоскелет подоцита сохраняется в нормальном положении, не допуская сглаживания ножек и развития протеинурии [11, 15]. В нашем случае экспрессия основных структурных белков – нефрина и коллагена IV типа, поддерживающих целостность ГФБ почек у отравленных животных всех групп в 1-е, 3-и и 7-е сутки после отравления была сопоставима с контрольной группой. При этом было выявлено присутствие нефрина в цитоплазме подоцитов, что косвенно свидетельствует о метаболической активности клеток, не нарушенной в результате острой токсической нагрузки. Отсутствие или минимальное количество белка в моче отравленных животных согласуется с сохранностью этих структурных белков.

3. Сравнительная оценка ультрамикроскопических изменений гломерулярного фильтрационного барьера почек в результате однократного острого воздействия параоксона в 3-х моделях отравления

Гломерулярная базальная мембрана

При различных моделях отравления компоненты почечного фильтра реагировали различно. При ингибировании карбоксилэстеразы крови двукратным введением РОХ2х и при однократном введении РОХ1х в группе, не подвергшейся предварительному ингибированию, отмечается последовательное возрастание показателей средней толщины гломерулярной базальной мембраны, статистически значимым по сравнению с контрольным показателем отличие становится к 7 суткам после отравления ($p < 0,0001$). Также динамика изменения среднего показателя толщины гломерулярной базальной мембраны на 7-е сутки статистически значимо отличается от показателей, полученных для соответствующих групп РОХ1х и РОХ2х от показателей, полученных в 1-е и 3-и сутки ($p < 0,05$). При ингибировании карбоксилэстеразы крови специфическим ингибитором в группе СВРОХ отмечается увеличение толщины мембраны ($p < 0,001$) в 1-е и 3-и сутки после отравления по сравнению с контрольными значениями, а на 7-е сутки толщина мембраны снижается. Динамика изменения показателя толщины гломерулярной базальной мембраны в этом случае характеризуется снижением на 7-е сутки ($p < 0,05$). Данные о показателях средней толщины гломерулярной базальной мембраны контрольной и экспериментальных групп представлены в таблице 8.

Таблица 8. Толщина гломерулярной базальной мембраны в разных группах экспериментальных животных сравнение с контролем мкм.

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	0,16±0,04	0,18±0,02	0,17±0,06	0,20±0,05**
3	0,16±0,04	0,17±0,03	0,18±0,05	0,20±0,05***

7	0,16±0,04	0,21±0,05***	0,22±0,09***	0,18±0,05
---	-----------	---------------------	---------------------	-----------

Структурные изменения, обнаруженные в гломерулярной базальной мембране отравленных животных, были схожи между экспериментальными группами и включали неравномерную толщину, появление разреженных участков мембраны под телами эндотелиальных клеток и очагово – под тонким слоем фенестрированного эндотелия. Отдельно встречались участки удвоения мембраны. Однако, разрывов, иных нарушений целостности, наличия осмиофильных включений и электронно-плотных включений в толще мембраны обнаружено не наблюдалось. В результате острой токсической нагрузки после отравления параоксоном происходило ультраструктурное изменение фильтрационного барьера, которое в зависимости от способа ингибирования карбоксилэстеразы проявлялось различно. Динамика изменений, происходящих в гломерулярной базальной мембране отличалось в разных группах в зависимости от способа ингибирования карбоксилэстеразы, так при однократном и двукратном введении параоксона изменения схожи, при введении СВDP протекают в обратном порядке. В настоящее время гломерулярная базальная мембрана описывается как гелеобразная структура, способная набухать при дефектах структурных белков и накапливать макромолекулы в своей толще [12, 26]. Это может объяснить различие в динамике изменения мембран в случае предварительного ингибирования карбоксилэстеразы СВDP. Увеличение трансгломерулярного транспорта привело к накоплению белков в мембране, за счет чего толщина мембраны была увеличена в 1-е и 3-и сутки после отравления, к 7-м суткам подоциты, как клетки-макрофаги устранили посторонний белок из гломерулярной базальной мембраны, и толщина сократилась. Однако толщина мембраны последовательно росла к 7-м суткам после отравления в группах РОХ1х и РОХ2х, а также увеличение толщины мембраны сохраняется вплоть до 90 суток после отравления. Это можно объяснить тем, что накоплением белков [12], или синтезом компонентов мембраны вследствие разобщения метаболизма подоцитов и эндотелиальных клеток в результате острой токсической нагрузки [6].

Эндотелиальные клетки клубочковых капилляров

Средний показатель количества фенестр эндотелиальных клеток клубочковых капилляров в тестовом отрезке 2 мкм снижался в группах с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы. Для РОХ2х в 3-и и 7-е сутки ($p < 0.001$), для СВРОХ в 1-е, 3-и и 7-е сутки после отравления ($p < 0.05$). Для группы без предварительного ингибирования отличий от контрольного значения выявлено не было. Данные о распределении показателей представлены в таблице 9.

Таблица 9. Количество фенестр эндотелиальных клеток клубочковых капилляров в тестовом отрезке 2 мкм ГБМ в контрольной и экспериментальных группах в 1-3, 3-и и 7-е сутки после отравления, ед.

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	10,0±1,9	9,66±1,7	9,78±1,5	6,55±1,1***
3	10,0±1,9	8,66±1,6	7,75±1,5***	7,60±1,8**
7	10,0±1,9	9,0±2,2	7,45±1,6***	7,71±2,1*

В группе РОХ2х наблюдается статистически значимое увеличение количества фенестр в 1-е сутки наблюдения ($p < 0,001$), затем этот показатель начинает снижаться. В группе СВРОХ показатель количества фенестр в тестовом отрезке проявляет тенденцию к росту, а в группе РОХ1х наблюдается тенденция к снижению показателя в 3-и сутки после отравления, но статистически значимые отличия отсутствуют.

В первые сутки увеличение радиуса фенестр по сравнению с контрольным показателем наблюдается в группе РОХ1х ($p < 0,0001$), в 3-и сутки статистически значимое отличие обнаружено для всех групп отравления ($p < 0,05$), а к 7-м суткам увеличение радиуса выявлено для групп РОХ1х и РОХ2х ($p < 0,05$). Данные о показателях радиусов фенестр эндотелиальных клеток клубочковых капилляров представлены в таблице 10.

Таблица 10. Радиус фенестр эндотелиальных клеток клубочковых капилляров в контрольной и экспериментальных группах в 1-е, 3-и и 7-е сутки после отравления, мкм

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	0,08±0,02	0,12±0,03***	0,08±0,02	0,10±0,02
3	0,08±0,02	0,10±0,02*	0,11±0,02***	0,10±0,03*
7	0,08±0,02	0,10±0,02*	0,10±0,03*	0,09±0,02

В группе без предварительного ингибирования происходит последовательное сокращение радиусов фенестр эндотелиальных клеток клубочковых капилляров ($p < 0,05$), а в группах с предварительным ингибированием карбоксилэстеразы происходит увеличение радиуса фенестр на 3-и сутки, а затем сокращение его на 7-е сутки после отравления ($p < 0,05$).

При изучении обзорных срезов клубочковых капилляров почечного тельца изменения фенестрированного эндотелия не обнаруживали существенных визуальных различий в разных экспериментальных группах. Однако, отслаивание эндотелия клубочковых капилляров очагово обнаруживалось во всех исследуемых группах и проявлялось незначительно в контрольной группе, а в группах отравленных животных – в умеренной степени. Данные изменения, наблюдаемые в эндотелиальных клетках клубочковых капилляров можно объяснить тем, что они первыми

подвергаются воздействию циркулирующих факторов крови среди прочих компонентов гломерулярного фильтрационного барьера [2, 20]. Кроме изменения микроциркуляции при остром отравлении ФОС [2, 34], для почек был описан мускариновый рецептор AChM1R [25], из-за присутствия которого изменения, наблюдаемые в эндотелиальных клетках клубочковых капилляров могут быть оправданы. Так изменения, сохраняющиеся после однократного острого отравления параоксоном, обусловлены изменениями в эндотелиальных клетках клубочковых капилляров и включают сокращение количества фенестр в фиксированном отрезке при одновременном увеличении их радиуса, и нарушением архитектуры и формы ГБМ со стороны эндотелиальных клеток.

Подоциты

Количество ножек подоцитов, примыкающих к ГБМ на тестовом отрезке 2 мкм, увеличивается в 1-е сутки во всех группах отравленных животных по сравнению с контрольными значениями, однако статистически значимым это отличие является только в случае группы РОХ2х ($p < 0,05$). В 3-и и 7-е сутки после отравления количество ножек подоцитов соответствует контрольным значениям. Данные об этих показателях представлены в таблице 11.

Таблица 11. Количество ножек подоцитов, примыкающих к ГБМ на тестовом отрезке 2 мкм, в контрольной и экспериментальной группах, Ед.

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	5,93±1,8	7,20±1,9	7,40±1,3*	6,70±1,8
3	6,07±1,8	6,27±1,5	6,70±1,3	6,01±1,8
7	6,07±1,8	6,29±1,5	6,04±1,5	6,71±1,5

В группе с предварительным ингибированием путем двукратного введения РОХ2х и группе без предварительного ингибирования РОХ1х отмечается тенденция к снижению показателя количества ножек подоцитов, примыкающих к гломерулярной базальной мембране в тестовом отрезке 2 мкм. В группе с предварительным ингибированием СВРОХ снижение наблюдается в 3-и сутки и рост показателя к 7-м суткам наблюдения. Статистически значимых отличий при этом не выявлено.

Ширина подошвенной части подоцитов не меняется в 1-е сутки после отравления ни в одной из экспериментальных групп. В 3-и сутки наблюдается статистически значимое увеличение этого показателя в группе предварительного ингибирования карбоксилэстеразы РОХ2х ($p < 0,05$). В 7-е сутки увеличение ширины цитоподий наблюдается уже в обеих группах с предварительным ингибированием ($p < 0,01$). В группе без предварительного ингибирования отличий по этому показателю не наблюдается. Данные о средних показателях ширины цитоподий подоцитов в контрольной и экспериментальной группах представлены в таблице 12.

Таблица 12. Ширина подошвенной части цитоподий подоцитов в контрольной и экспериментальных группах в 1-е, 3-и и 7-е сутки после отравления, мкм.

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	0,204±0,09	0,221±0,13	0,197±0,09	0,246±0,15
3	0,188±0,07	0,186±0,07	0,248±0,14*	0,223±0,14
7	0,188±0,07	0,170±0,07	0,267±0,15***	0,274±0,18**

При этом динамика изменения средней ширины подошвенной части цитоподий подоцитов в трех группах отравленных животных протекает различно. В группе РОХ2х отмечается тенденция к увеличению ширины подошвенной части цитоподий подоцитов, средние значения показателя статистически значимо отличаются между 1-ми и 7-ми сутками ($p < 0,05$). В группе предварительного ингибирования СВРОХ отмечается сокращение в 3-и сутки и последующий рост показателя к 7-м суткам, однако статистически значимых отличий не выявлено. В группе без предварительного ингибирования РОХ1х отмечается тенденция к снижению подошвенной части цитоподий подоцитов и в 3-и в 7-е сутки, к 7-м суткам отличие между 1-ми и 7-ми сутками становится статистически значимым ($p < 0,05$).

Полученные данные свидетельствуют о перестройке актинового цитоскелета ножек подоцитов в ответ на изменения в вышележащих компонентах гломерулярного фильтрационного барьера [5, 7]. В литературе описано перекрестное взаимодействие между эндотелиальными клетками клубочковых капилляров и подоцитами по оси VEGFA-eNOS / NO-ET1 [9, 28]. Показанное выше нарушение архитектуры фенестрированного эндотелия указывает на существование дисфункции эндотелиальных клеток, приводящей к повышенному накоплению белков в гломерулярной базальной мембране, стимулированию изменения цитоскелета цитоподий подоцитов [16, 21].

Тубулярные эпителиальные клетки проксимального отдела извитых канальцев нефрона

Среди тубулярных клеток отмечались колебания высоты клеток канальцев у экспериментальных групп. Показатель высоты эпителиальных клеток проксимального отдела извитых канальцев нефрона в 1-е сутки значимо отличался в группе СВРОХ ($p < 0,05$) и показывал увеличение высоты клеток. В 3-и сутки увеличение наблюдалось в группах предварительного ингибирования карбоксилэстеразы РОХ2х и СВРОХ ($p < 0,05$), в 7-е сутки увеличение высоты эпителиальных клеток проксимального отдела сохранялось для группы СВРОХ. Показатели группы без предварительного ингибирования карбоксилэстеразы РОХ1х не демонстрируют значимых отличий. Показатели высоты эпителиальных клеток проксимального отдела извитых канальцев нефрона представлены в таблице 12.

Таблица 12. Высота эпителиальных клеток проксимального отдела извитых канальцев нефрона в контрольной и экспериментальных группах в 1-е, 3-и и 7-е сутки после отравления, мкм

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	11,52±2,9	12,70±4,3	12,07±2,8	13,44±3,8*
3	11,52±2,9	10,84±2,7	12,96±2,4*	14,21±2,3**
7	11,52±2,9	10,61±3,1	11,71±2,8	13,56±2,8*

Среди всех экспериментальных групп динамика средних показателей высоты эпителиальных клеток проксимального отдела извитых канальцев нефрона демонстрирует схожие изменения. В 3-и сутки высота увеличивается и затем снижается к 7-м суткам. Увеличение высоты клеток в 3-и сутки в группе РОХ2х является статистически значимым ($p < 0,05$).

При исследовании срезов коркового вещества почек отравленных животных среди эпителиальных клеток проксимального отдела извитых канальцев нефрона обнаруживали такие признаки повреждения клеток как увеличение осмиофильности цитоплазмы, нарушение базального лабиринта, нарушение целостности микроворсинок апикальной поверхности, единичное нарушение структуры митохондрий, а также наличие фаголизосом в цитоплазме, которые, в свою очередь характеризуют сохранность функциональной активности клетки. Эти изменения согласуются с данными о повреждении и массивном некрозе канальцевых клеток, наблюдаемом в 1-е сутки после острого отравления ФОС [33]. Однако ТЭК проксимального отдела канальца являются клетками с ограниченной способностью к делению, способны регенерировать, мигрировать и противостоять апоптозу [17, 18]. Поэтому функциональное восстановление и возврат к нормальному строению в 7-е сутки после отравления является ожидаемым.

Тубулярные эпителиальные клетки дистального отдела извитых канальцев нефрона

Тубулярные эпителиальные клетки дистального отдела извитых канальцев нефрона также показали неравномерное изменение высоты клеток по сравнению с показателями контрольной группы. В 1-е сутки после отравления выявлено сокращение высоты эпителиальных клеток в группе РОХ1х ($p < 0,0001$), впоследствии этот показатель возрос и статистически значимого отличия от контроля не наблюдалось. В 3-и сутки выявлено увеличение высоты эпителиальных клеток в группе РОХ2х ($p < 0,0001$), которое сохранилось и к 7-м суткам после отравления ($p < 0,05$). В группе СВРОХ статистически значимых отличий от контрольной группы не выявлено. Данные об этом показателе представлены в таблице 13.

Таблица 13. Высота эпителиальных клеток дистального отдела извитых канальцев нефрона в контрольной и экспериментальных группах в 1-е, 3-и и 7-е сутки после отравления, мкм.

Сутки	Контроль	РОХ1х	РОХ2х	СВРОХ
1	8,72±2,4	6,02±2,1***	8,59±2,3	9,59±2,2
3	8,72±2,4	8,06±3,2	11,56±3,4***	10,09±2,4
7	8,72±2,4	7,23±3,3	10,43±2,9*	8,57±2,6

Динамика изменения средних показателей высоты эпителиальных клеток дистального отдела извитых канальцев нефрона в разных группах отравленных животных происходила различно. В группе с двукратным введением параоксона – РОХ2х к 3-м суткам наблюдалась тенденция к увеличению высоты клеток ($p < 0,01$), а к 7-м к сокращению. В группах СВРОХ и РОХ1х к 3-м суткам высота снизилась, причем в РОХ1х отличие было статистически значимым ($p < 0,01$), затем в группе с предварительным ингибированием карбоксилазы высота эпителиальных клеток продолжила сокращаться, а в группе без ингибирования – возросла.

Среди эпителиальных клеток дистального отдела извитого канальца нефрона выявлялись признаки нарушения, обнаруживаемые во всех группах отравленных животных – увеличение осмиофильности цитоплазмы клеток, кариопикноз ядер, нарушение базального лабиринта, потеря крист единичных митохондрий, очаговое нарушение апикальной поверхности эпителиальных клеток и отслаивание клеток от поверхности тубулярной базальной мембраны. Основным механизмом, влияющим на появление гипертрофических изменений клеток дистального канальца, считается увеличение Na^+ содержащегося в просвете канальца, стимулирующего гипертрофию и активность канальцевых клеток [29]. При массивном повреждении эпителиальных клеток проксимального отдела канальца, вероятно, Na^+ / K^+ – насосная функция была временно утрачена, что привело к увеличению Na^+ в просвете канальца [17, 24].

Изменения, выявляемые в отдаленные сроки после отравления параоксоном

После однократного острого отравления параоксоном в группе РОХ1х на более отдаленных сроках выявляются изменения в гломерулярном фильтрационном барьере почек. На сроках 14, 30, 60 и 90 суток выявлено увеличение показателей толщины гломерулярной базальной мембраны на 0,03-0,04 мкм по сравнению с контрольными значениями ($p < 0,05$). Про этом в эндотелиальных клетках наблюдается сокращение количества фенестр в тестовом отрезке на 2 мкм мембраны в 14-е, 60-е и 90 сутки после отравления ($p < 0,05$), в 30-е сутки значения ниже контрольных, но статистически значимо не отличаются. Показатели среднего радиуса фенестр увеличиваются на 0,03-0,05 мкм на всех сроках наблюдения ($p < 0,01$). Морфометрическая оценка

количества цитоподий подоцитов, примыкающих к гломерулярной базальной мембране на тестовом отрезке 2 мкм, и ширины подошвенной части подоцитов не обнаружила статистически значимых отличий, за исключением сокращения количества цитоподий ($p < 0,01$) в тестовом отрезке на сроке 90 суток после отравления при одновременном увеличении ширины их подошвенной части. Морфометрическая оценка высоты тубулярных эпителиальных клеток в проксимальном и дистальном отделах извитого канальца также не отличались, за исключением сокращения высоты эпителиальных клеток проксимального отдела канальца на сроке 90 суток после отравления ($p < 0,05$). Данные об указанных выше морфологических показателях показаны в таблице 14.

Таблица 14. Морфометрические показатели, характеризующие компоненты ГФБ и ТЭК, в группе РОХ1х на 14-е, 30-е, 60-е и 90-е сутки после отравления.

Признак	Контроль	14 суток	30 сутки	60 сутки	90 сутки
Толщина ГБМ, мкм	0,15±0,03	0,19±0,04***	0,18±0,06*	0,19±0,05***	0,19±0,04***
Количество фенестр в 2 мкм, ед	10,0±1,9	7,69±2,0**	9,27±1,8	8,70±1,81*	8,26±2,11**
Радиус фенестр, мкм	0,08±0,02	0,13±0,02***	0,11±0,03**	0,11±0,03***	0,12±0,03***
Количество цитоподий подоцитов в 2 мкм, ед	5,93±1,8	6,0±1,5	5,45±2,2	5,20±2,3	4,16±1,81**
Ширина цитоподий, мкм	0,204±0,09	0,219±0,11	0,219±0,10	0,283±0,15	0,299±0,18
Высота ТЭК ПК, мкм	11,52±2,9	10,82±2,4	11,37±2,7	11,46±3,0	9,8±1,6*
Высота ТЭК ДК, мкм	8,72±2,4	7,47±2,5	8,07±2,1	8,44±1,9	8,96±1,8

Выводы

1. Острое воздействие параоксона в 3 моделях отравления *in vivo* имеет признаки нефротоксичности, проявляющиеся изменениями в архитектуре гломерулярного фильтрационного барьера почек, тубулярных эпителиальных клетках извитых канальцев нефрона и биохимических показателях сыворотки крови и мочи.
2. Структурные изменения в тканях почек крыс наиболее выражены при ингибировании карбоксилэстеразы двукратным, интервальным введением параоксона (РОХ2х), что позволяет рассматривать эту модель отравления как наиболее объективную для изучения нефротоксичности ФОС и трансляционного переноса данных.
3. Структурные изменения в тубулярных эпителиальных клетках извитого канальца нефрона в результате острого отравления параоксоном имеют временный характер. Изменения, наблюдаемые в первые сутки после

отравления, отсутствуют в более отдаленные сроки – с третьих по шестидесятые сутки.

4. Острая интоксикация параоксоном в 3 моделях отравления не изменяет экспрессию основных структурных белков гломерулярного фильтрационного барьера почек – нефрина и коллагена VI типа, обеспечивающих архитектурную целостность гломерулярной базальной мембраны и сохранность щелевых диафрагм.

5. Отравление параоксоном при однократном (POX1x) и двукратном, интервальном введении токсиканта (POX2x) провоцирует увеличение толщины гломерулярной базальной мембраны почечного клубочка и вызывает изменения в фенестрированном эндотелии клубочковых капилляров, сохраняющемся вплоть до 90-х суток после отравления. Этот факт может указывать на роль острого отравления ФОС как потенциального триггера развития отставленной патологии почек.

Список публикаций по теме диссертации

Статьи

1. Соколова М.О., Соболев В.Е., Решеткина Д.А., Нагибович О.А. Токсическое действие фосфорорганических соединений на почки // Вестник Российской военно-медицинской академии. – 2020. – 3 (71). – С. 199-205.
2. Соколова М.О., Соболев В.Е., Гончаров Н.В. Ультраструктурные изменения почек и биохимические показатели крови и мочи крыс при острой интоксикации о,о-диэтил-о-(4-нитрофенил) фосфатом // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2022. – Т. 58, № 6. – С.540–548.
3. Соколова М.О., Соболев В.Е., Гончаров Н.В. Гистологические и ультраструктурные изменения в почках крыс на ранних сроках после отравления параоксоном // Токсикологический вестник. – 2022. – 30(4). – С. 242-248.
4. Sobolev V.E., Sokolova M.O., Jenkins, R.O., Goncharov, N.V. Molecular Mechanisms of Acute Organophosphate Nephrotoxicity // International Journal of Molecular Sciences. – 2022. – V. 23. – A. 8855.
5. Sobolev V.E., Sokolova M.O., Jenkins, R.O., Goncharov, N.V. Nephrotoxic Effects of Paraoxon in Three Rat Models of Acute Intoxication // International Journal of Molecular Sciences. – 2021. – V. 22. – A. 13625.

Тезисы

1. Соколова М.О., Иванова А.К. Структурные изменения почек крыс в ранние сроки после интоксикации параоксоном // Материалы XXVII всероссийской конференции молодых учёных с международным участием. – 2021. – С.251-252.
2. Соколова М.О., Иванова А.К. Морфологические изменения почек крыс, выживших после отравления параоксоном // Материалы XXV Международной медико-биологической конференции молодых исследователей

«Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье». – 2022. – Т. 1. – С. 106-107.

3. Соколова, М.О., Иванова А.К. Повреждение тканей почек крыс, погибших вследствие острого отравления параоксоном // Материалы XXV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье». – 2022. – Т. 1. – С. 120-121.

4. Соколова М.О. Изменения биохимических показателей сыворотки крови и мочи крыс после отравления параоксоном // Материалы XXV Международная медико-биологическая конференция молодых исследователей «Фундаментальная наука и клиническая медицина – человек и его здоровье». – 2022. – Т. 1. – С. 324-325.

5. Соколова М.О., Иванова А.К. Нефротоксичность фосфорорганических соединений как фактор риска возникновения осложнений при трансплантации почки // Материалы XI Всероссийского съезда транспантологов с международным участием. Вестник транспантологии и искусственных органов. – 2022. – С. 122

Список цитируемой литературы

1. Михайликова В.В. Применение пестицидов в Российской Федерации / В.В. Михайликова, Н.С. Стребкова, Д.Н. Говоров, А.В. Живых // Защита и карантин растений. – 2015. – № 11. – С. 12–14.
2. Прозоровский В.Б. Дистантное действие в патогенезе отравлений фосфоорганическими соединениями / В.Б. Прозоровский, В.Г. Скопичев // Обзоры по клин. фармакол. и лек. терапии. – 2004. – Т. 3. – № 3. – С. 56–67.
3. Соболев, В.Е. Крыса (*Rattus norvegicus*) как объект исследования в модели острого отравления фосфорорганическими соединениями. 5. морфофункциональные изменения почек / В.Е. Соболев, Е.А. Корф, Н.В. Гончаров // Журнал эволюционной биохимии и физиологии. – 2019. – Т. 55. – № 4. – С. 272–281.
4. Bgatova N. Ultrastructure of the kidney filtration barrier in conditions of distant tumor growth and lithium treatment / N. Bgatova, I. Taskaeva // Ultrastructural Pathology. – 2020. – P. 1-11.
5. Chew C. Basement Membrane Defects in Genetic Kidney Diseases / C. Chew, R. Lennon // Front. Pediatr. – 2018. – Vol. 6. – A: 11.
6. Eberfors K. Modeling the Glomerular Filtration Barrier and Intercellular Crosstalk / K. Eberfors, E. Lassen, N. Anandakrishnan, E. U. Azeloglu, I. S. Daehn // Front. Physiol. – 2021. – V. 12. – A. 689083.
7. Garg P. A Review of Podocyte Biology / P. Garg / Am J Nephrol. – 2018. – Vol. 47(suppl 1). – P. 3–13.

8. Gunasena J.B. Organophosphate Poisoning Complicated by Rhabdomyolysis-Induced Acute Kidney Injury: A Case Report and Review of Literature / J. B. Gunasena, S. T. Da-Silva // *J Clin Toxicol.* – 2020. – Vol. 10. – A:450.
9. Hart D.C. Co-Culture of Glomerular Endothelial Cells and Podocytes in a Custom-Designed Glomerulus-on-a-Chip Model Improves the Filtration Barrier Integrity and Affects the Glomerular Cell Phenotype / D.C. Hart, D. Yildiz, V. Palacio-Castañeda, L. Li, B. Gumuscu, R. Brock, W.P. Verdurmen, J. van der Vlag, T. Nijenhuis // *Biosensors.* – 2023. – Vol. 13. – A: 339.
10. Jacobson M.H. Organophosphate pesticides and progression of chronic kidney disease among children: A prospective cohort study / M.H. Jacobson, Y. Wu, M. Liu, K. Kannan, A.J. Li, M. Robinson, B.A. Warady, S. Furth, H. Trachtman, L. Trasande // *Environment International.* – 2021. – Vol. 155. – A: 106597.
11. Kravets I. The Role of Podocytes and Podocyte-Associated Biomarkers in Diagnosis and Treatment of Diabetic Kidney Disease / I. Kravets, S.K. Mallipattu // *Journal of the Endocrine Society.* – 2020. – Vol. 4. – No. 4. – P. 1–11.
12. Lawrence M.G. Permeation of macromolecules into the renal glomerular basement membrane and capture by the tubules / M.G. Lawrence, M.K. Altenburg, R. Sanford, J.D. Willett, B. Bleasdale, B. Ballou, J. Wilder, F. Li, J. H. Miner, U.B. Berg, O. Smithies // *PNAS.* – 2017. – Vol. 114. – No. 11. – P. 2958–2963.
13. Lee Y. Associations between Pesticide Exposure and Kidney Function Failure / Y. Lee // *Pesticide Exposure and Kidney Function Failure.* – 2017. – P. 1–12.
14. Lee Y.J. Regulatory mechanisms of Na⁺/glucose cotransporters in renal proximal tubule cells / Y.J. Lee, H.J. Han // *Kidney International.* – 2007. – Vol. 72. – S27–S35.
15. Lennon R. The importance of podocyte adhesion for a healthy glomerulus / R. Lennon, M.J. Randles, M.J. Humphries // *Frontiers of Endocrinology.* – 2014. – Vol.5 – A: 160.
16. Li Z. The pathological role of damaged organelles in renal tubular epithelial cells in the progression of acute kidney injury / Z. Li, Z. Liu, M. Luo, X. Li, H. Chen, S. Gong, M. Zhang, Y. Zhang, H. Liu, X. Li // *Cell Death Discovery.* – 2022. – Vol. 8. – A: 239.
17. Ludes P.-O. Role of Damage-Associated Molecular Patterns in Septic Acute Kidney Injury, From Injury to Recovery / P.-O. Ludes, C. de Roquetaillade, B.G. Chousterman, J. Pottecher, A. Mebazaa // *Front. Immunol.* – 2021. – Vol. 12. – A: 606622.
18. Maeshima A. Diverse Cell Populations Involved in Regeneration of Renal Tubular Epithelium following Acute Kidney Injury / A. Maeshima, S. Takahashi, M. Nakasatomi, Y. Nojima // *Stem Cells International.* – 2015. – Vol. 2015. – A: 964849.

19. Muthu V. A Rare Manifestation of Organophosphorus Poisoning: Hypothermia with Cardiotoxicity / V. Muthu, S. Dhooria, I.S. Sehgal // *Int J Clin Cardiol.* – 2014. – Vol. 1. – A :005.
20. Rabelink T.J. The Pathophysiology of Proteinuria / T.J. Rabelink, D. Zeeuw // In book: *Chronic Renal Disease.* – 2015. – P. 92-105.
21. Reiser J. Podocytes [version 1; referees: 2 approved] / J. Reiser, M.M. Altintas // *F1000Research.* – 2016. – Vol. 5. – A: 114.
22. Rosenberg Y. Development of a Prophylactic Butyrylcholinesterase Bioscavenger to Protect Against Insecticide Toxicity Using a Homologous Macaque Model / Y. Rosenberg, X. Jiang, L. Mao, S.H. Abanto, K. Le // *Insecticides – Basic and Other Applications.* – 2012. – P. 79-100.
23. Rubio R. Acute renal failure due to the inhalation of organophosphates: successful treatment with haemodialysis Consolación / R. Rubio, C.F. Fernández, R.M. Bueno, B.A. del Pozo, J.M. García // *Clin Kidney J.* – 2012. – Vol. 5. – A: 582–583
24. Sateesh J. Regenerating re-absorption function of proximal convoluted tubule using microfluidics for kidney-on-chip applications / J. Sateesh, K. Guha, A. Dutta, P. Sengupta, K.S. Rao // *SN Applied Sciences.* – 2020. – Vol. 2. – A: 39.
25. Saternos H. C. Distribution and function of the muscarinic receptor subtypes in the cardiovascular system / H.C. Saternos, D.A. Almarghalani, H.M. Gibson, M.A. Meqdad, R.B. Antypas, A. Lingireddy, W.A. AbouAlaiwi // *Physiol Genomics.* – 2018. – Vol. 50. – P. 1–9.
26. Schlondorff D. Revisiting the determinants of the glomerular filtration barrier: what goes round must come round / D. Schlondorff, C.M. Wyatt, K.N. Campbell // *Kidney International.* – 2017. – Vol. 92. – P. 533–536.
27. Shaw I.C. Principles of environmental toxicology / I.C. Shaw, J. Chadwick – Taylor&Francis e–Library, 2002. – 231p.
28. Sol M. Glomerular Endothelial Cells as Instigators of Glomerular Sclerotic Diseases / M. Sol, J. Kamps, J. van den Born, M.C. van den Heuvel, J. van der Vlag, G. Krenning, J.L. Hillebrands // *Front. Pharmacol.* – 2020. – Vol. 11. – A: 573557.
29. Subramanya A.R. Distal Convoluted Tubule / A.R. Subramanya, D.H. Ellison // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2014. – Vol. 9. – P. 1-17.
30. Valcke, M. Pesticide exposures and chronic kidney disease of unknown etiology: an epidemiologic review / M. Valcke, M.-E. Levasseur, A. Soares da Silva, C. Wesseling // *Environmental Health.* – 2017. – Vol. 16. – No. 49. – P. 1–20.
31. Wan E.-T. Association of Pesticides and Kidney Function among Adults in the US Population 2001–2010 / E.-T. Wan, D. Darssan, S. Karatela, S.A. Reid, N.J. Osborne // *Int. J. Environ. Res. Public Health.* – 2021. – Vol. 18. – A: 10249.
32. Wang P. Roles of DNA damage in renal tubular epithelial cells injury / P. Wang, J. Ouyang, Z. Jia, A. Zhang, Y. Yang / *Front. Physiol.* – 2023. – Vol. 14. – A: 1162546.

33. Wu J. Evaluation and Use of Organs from Donors Poisoned by Organophosphorus Pesticide / J. Wu, X. Ma, E.F. Dong, N. Wen, K. Qin, L. Lan, J. Liao, Z. Lei, H. Li, X. Su // *Ann Transplant.* – 2023. – Vol. 28. – e939343.
34. Xu B. Clinical characteristics and early prediction of mortality risk in patients with acute organophosphate poisoning-induced shock / B. Xu, W. Zeng, F. Chen, G. Lin, M. Wang, J. Ding, Y. Hong, J. Ke, X. Wang, X. Shang // *Front. Med.* – 2023. – Vol. 9. – A: 990934.
35. Zafar R. Acute Renal Failure due to Organophosphate Poisoning: A Case Report / R. Zafar, K. Munawar, A. Nasrullah, S. Haq, H. Ghazanfar, A.B. Sheikh, A.Y. Khan // *Cureus.* – 2017. – Vol. 9. – No. 7. – e1523.
36. Zhou S. Paraoxon Attenuates Vascular Smooth Muscle Contraction through Inhibiting Ca²⁺ Influx in the Rabbit Thoracic Aorta / S. Zhou, L. Liu, X. Yang, S. Wu, G. Chen // *Journal of Biomedicine and Biotechnology.* – 2010. – Vol. 2010. – A: 829190.