

Ультраструктура эпителия проксимальных канальцев почки при пероральном введении карбоната лития в условиях опухолевого роста

Н.П. Бгатова¹, А.М. Рахметова², Ш.М. Жумадина³, Ю.С. Таскаева¹, Е.Л. Завьялов⁴

¹ Научно-исследовательский институт клинической и экспериментальной лимфологии – филиал ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

² НАО Торайгыров университет, Павлодар, Казахстан

³ НАО Казахский агротехнический университет имени Сакена Сейфуллина, Астана, Казахстан

⁴ ФГБНУ Федеральный исследовательский центр Институт цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук, Новосибирск, Россия

Резюме. *Введение.* Несмотря на постоянно выявляемые новые биологические эффекты солей лития, их использование ограничено нефротоксическим действием. В последнее время появляются экспериментальные данные о регенераторных и протективных свойствах кратковременного введения лития при различных патологиях почки. Цель работы – оценить ультраструктурную организацию эпителиоцитов проксимальных канальцев почки в условиях периферического опухолевого роста и перорального применения карбоната лития.

Материалы и методы. Работа проведена на мышах – самцах линии СВА (n=20), разделенных на четыре группы: контрольная группа; «контроль + литий»; «опухоль»; «опухоль + литий». Для моделирования опухолевого роста в мышечной ткани бедра использовали клеточную линию гепатоцеллюлярной карциномы-29. Карбонат лития вводили перорально в дозе 125 мг/кг массы тела через день, начиная с третьего дня после инокуляции опухолевых клеток. Материал для проведения электронномикроскопического исследования (фрагменты почки) забирали на 30-е сутки развития опухоли.

Результаты. В сравнительном аспекте проанализирована ультраструктурная организация апикальной, околядерной зон и аутофагических структур эпителиоцитов проксимальных канальцев почки. Выявлено уменьшение численной плотности эндосом, плотных апикальных канальцев, объемной плотности гранулярного эндоплазматического ретикула, митохондрий и возрастание объемной плотности аутолизосом в цитоплазме эпителиоцитов проксимальных канальцев почки животных с периферическим опухолевым ростом. При введении карбоната лития интактным животным показано возрастание объемной плотности свободных полисомальных комплексов рибосом. При использовании карбоната лития в условиях отдаленного роста опухоли отмечено увеличение численной плотности плотных апикальных канальцев и объемной плотности аутофагических структур в клетках проксимальных канальцев почки.

Заключение. Пероральное введение карбоната лития через день в течение месяца интактным животным не приводило к развитию деструктивных изменений эпителиоцитов проксимальных канальцев почки. Введение карбоната лития животным с периферическим опухолевым ростом, вероятно, через активацию аутофагии оказывало протективное действие на ультраструктурную организацию эпителиоцитов проксимальных канальцев почки.

Ключевые слова: периферическая опухоль, карбонат лития, проксимальные канальцы почки, ультраструктура, эндоцитоз, аутофагия

Для корреспонденции: Наталия Петровна Бгатова. E-mail: nataliya.bgatova@yandex.ru

Для цитирования: Бгатова Н.П., Рахметова А.М., Жумадина Ш.М., Таскаева Ю.С., Завьялов Е.Л. Ультраструктура эпителия проксимальных канальцев почки при пероральном введении карбоната лития в условиях опухолевого роста. Клини. эксп. морфология. 2023;12(4):42–52. DOI: 10.31088/СЕМ2023.12.4.42-52.

Финансирование. Исследование выполнено в рамках государственного задания Научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала Института цитологии и генетики Сибирского отделения Российской академии наук (№ NFWNR-2022-0012) и при финансовой поддержке гранта Центра международных программ Министерства науки и высшего образования Республики Казахстан (№ 6818).

Статья поступила 07.11.2022. Получена после рецензирования 21.11.2022. Принята в печать 12.12.2022.

Ultrastructure of the kidney proximal tubular epithelium during peroral administration of lithium carbonate in tumor growth

N.P. Bgatova¹, A.M. Rakhmetova², Sh.M. Zhumadina³, Iu.S. Taskaeva¹, E.L. Zavjalov⁴

¹ Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

² Toraigyrov University, Pavlodar, Kazakhstan

³ Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical University, Astana, Kazakhstan

⁴ Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of Russian Academy of Sciences, Novosibirsk, Russia

Abstract. Introduction. Although new biological effects of lithium salts are being constantly discovered, they are still used as nephrotoxins. Recently, experimental data have appeared on regenerative and protective properties of short-term lithium administration in various kidney pathologies. The paper aimed to evaluate ultrastructural organization of the kidney proximal tubule cells in peripheral tumor growth and lithium carbonate peroral administration.

Materials and methods. The study was carried out on CBA male mice (n=20). We formed four groups, 5 animals each: “control”, “control + lithium”, “tumor” and “tumor + lithium.” To stimulate tumor growth in the thigh muscle tissue, we used a cell line of hepatocellular carcinoma-29. Lithium carbonate was administered *per os* at a dose of 125 mg/kg of body weight every other day, starting from day 3 after inoculation of tumor cells. Animals were sacrificed on day 30 of tumor development, and kidney fragments were collected for electron microscopy.

Results. We compared and analyzed ultrastructural organization of the apical and perinuclear zones as well as autophagic structures of the kidney proximal tubule cells. The animals with peripheral tumor growth showed decreased numerical density of endosomes and dense apical tubules as well as decreased volume density of the granular endoplasmic reticulum and mitochondria. In these animals, we also revealed increased volume density of autolysosomes in the cytoplasm of the epitheliocytes. The intact animals that received lithium carbonate demonstrated an increase in the volume density of free polysomal ribosome complexes. The animals that developed tumors and were administered lithium carbonate showed a growth in both numerical density of dense apical tubules and the volume density of autophagic structures.

Conclusion. Peroral administration of lithium carbonate to intact animals every other day for 30 days did not cause any destructive changes to the kidney proximal tubule cells. The administration of lithium carbonate to animals with peripheral tumor growth had a protective effect on the ultrastructural organization of the kidney proximal tubules cells (probably due to autophagy activation).

Keywords: peripheral tumor, lithium carbonate, renal proximal tubules, ultrastructure, endocytosis, autophagy

Corresponding author: Nataliya P. Bgatova. E-mail: nataliya.bgatova@yandex.ru

For citation: Bgatova N.P., Rakhmetova A.M., Zhumadina Sh.M., Taskaeva Iu. S., Zavjalov E.L. Ultrastructure of the kidney proximal tubular epithelium during peroral administration of lithium carbonate in tumor growth. *Clin. exp. morphology.* 2023;12(4):42–52 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2023.12.4.42-52.

Funding. The study was carried out within the framework of the State Assignment to Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences (No. NFWNR-2022-0012) and supported by the grant of Center for International Programs of the Ministry of Science and Higher Education of the Republic of Kazakhstan (Project No. 6818).

Received 07.11.2022. **Received in revised form** 21.11.2022. **Accepted** 12.12.2022.

Введение

Научные публикации свидетельствуют о широком спектре биологических эффектов солей лития [1]. Интерес к литию связан прежде всего с тем, что для него выявлено несколько прямых мишеней: гликогенсинтаза киназа-3 (GSK-3) [2], инозитолмонофосфатаза и структурно родственные магнийзависимые фосфомоноэстеразы [3]. Известны нейротекторные свойства солей лития [4]. Исходя из механизмов действия лития, обсуждается его применение для воздействия на опухолевый рост [5]. В последнее время появляются данные о регенераторных эффектах лития [6]. Тем не

менее широкое использование лития ограничено его нефротоксическим действием и узким терапевтическим окном применения [7]. В то же время имеются данные о протективном действии на почки низких доз лития в условиях патологии [8].

Почки играют важную гомеостатическую роль, выполняя в организме множество функций [9]. Почки являются основным органом выделения, обладающим высоким кровотоком, что делает их чувствительными к метаболическим нарушениям [10]. Есть данные, что развивающаяся опухоль приводит к накоплению в крови токсичных продуктов обмена [11]. Чрезвычайно

важно сохранение гомеостаза почек в условиях злокачественного роста [12].

Эндоцитоз и аутофагия определены как основные взаимосвязанные процессы, направленные на сохранение гомеостаза клетки [13], и их эффективность важна для функции почки [14]. В литературе имеются данные о стимулирующем влиянии лития на процессы аутофагии [15, 16]. Механизм индукции аутофагии литием связывают с ингибированием активности инозитолмонофосфатазы [17]. Литий свободно фильтруется в клубочках и в значительной степени реабсорбируется в проксимальных канальцах [18].

Цель работы – оценить ультраструктурную организацию эпителиоцитов проксимальных канальцев почки в условиях периферического опухолевого роста и перорального применения карбоната лития.

Материалы и методы

Работа выполнена на мышах – самцах линии СВА (n=20) массой 18–20 граммов в возрасте 3 месяцев на базе ЦКП «SPF виварий» СО РАН. Работу с животными проводили в соответствии с Европейской конвенцией о защите позвоночных животных, используемых в экспериментальных и других научных целях (Страсбург, 1986). На проведение исследования получено разрешение этического комитета НИИ клинической и экспериментальной лимфологии (протокол № 140 от 26.04.2018).

Было сформировано четыре группы животных по пять особей в каждой: группа интактных животных («контроль»), группа интактных животных, получавших перорально карбонат лития («контроль + литий»), группа животных с опухолевым ростом («опухоль») и группа животных с опухолевым ростом, получавших перорально карбонат лития («опухоль + литий»). В связи с тем, что гепатоцеллюлярная карцинома является частным вариантом общей концепции канцерогенеза, определяющей злокачественный рост любой локализации [19], для моделирования опухолевого процесса использовали клеточную линию гепатоцеллюлярной карциномы-29 (Г-29), полученную и верифицированную сотрудниками Института цитологии и генетики СО РАН и предоставленную для наших исследований [20]. Животных содержали на стандартном рационе со свободным доступом к воде и пище. Клетки Г-29 вводили в дозе 2×10^6 клеток в 100 мкл 0,9% физиологического раствора хлорида натрия в мышцу правого бедра. Карбонат лития («Завод редких металлов», Россия) вводили перорально в дозе 125 мг/кг веса через день, начиная с третьего дня после инокуляции опухолевых клеток. Данная доза введения была выбрана на основании ранее полученных экспериментальных данных, свидетельствующих о ее противоопухолевом действии и концентрации в крови, не превышающей существующие нормы накопления лития [5]. Забор фрагментов почки проводили на 30-е сутки эксперимента. Животных выводили из эксперимента методом краниоцервикальной дислокации.

Для трансмиссионной электронной микроскопии (ТЭМ) образцы почки фиксировали в 4% растворе параформальдегида, приготовленном на среде Хенкса, дофиксировали в течение 1 часа в 1% растворе тетраоксида осмия (OsO_4) на фосфатном буфере pH 7,4, дегидратировали в этиловом спирте возрастающей концентрации и заключали в эпон. Полутонкие срезы толщиной 1 мкм получали на ультрамикротоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Германия), окрашивали толуидиновым синим, с помощью светового микроскопа Leica DME (Leica Microsystems, Германия) выбирали образцы для исследования в электронном микроскопе. Из отобранного материала изготавливали ультратонкие срезы толщиной 70–100 нм на ультратоме Leica EM UC7 (Leica Microsystems, Германия), контрастировали насыщенным водным раствором уранилацетата и цитратом свинца. Цифровые фотографии получали с помощью электронного микроскопа JEM 1400 (JEOL, Япония) в Центре коллективного пользования микроскопического анализа биологических объектов СО РАН.

Морфометрический анализ проводили с помощью компьютерной программы Image J (National Institute of Health, США). На цифровых микрофотографиях эпителиоцитов проксимальных канальцев почки при $\times 30\,000$ подсчитывали численные и объемные плотности цитоплазматических органелл в разных зонах клетки (по 25 микрофотографий каждой зоны клетки на группу).

Численную плотность везикулярных структур (количество везикул в тестовой площади) определяли с помощью закрытой тестовой системы площадью $2,37 \text{ мкм}^2$, которую накладывали на апикальную зону цитоплазмы проксимальных эпителиоцитов. Объемные плотности митохондрий, гранулярного эндоплазматического ретикулума, рибосом, аутофагосом, аутолизосом подсчитывали с помощью закрытой тестовой системы площадью $13,7 \text{ мкм}^2$, состоящей из 324 точек. Расстояние между точками составляло 0,1 мкм.

Статистический анализ проводили с использованием компьютерной программы Statistica Version 10 (StatSoft, США). Для проверки вариационных рядов на нормальность применяли статистический критерий Колмогорова–Смирнова. Выборки в настоящем исследовании не отвечали критериям нормального распределения, поэтому описание количественных характеристик представляли в виде медианы и первого и третьего квартилей – Me (25%; 75%). Значимость различий между изучаемыми выборками определяли с помощью U-критерия Манна–Уитни. Результаты считали значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Исследовали структурную организацию эпителиоцитов проксимальных канальцев почки (рис. 1). При анализе апикальной зоны клеток было выявлено, что число плотных апикальных канальцев больше, чем эндосом, во всех исследованных группах (табл. 1, рис. 2).

Таблица 1 | Table 1

Результаты морфометрии апикальной зоны эпителиоцитов проксимальных канальцев почки, Me (25; 75) |
The results of morphometry of the apical zone of the kidney proximal tubules epitheliocytes, Me (25;75)

Группы Groups	Эндосомы N_A Endosomes N_A	Плотные апикальные канальцы N_A Dense apical tubules N_A	Суммарное число везикулярных структур N_A Total number of vesicular structures N_A	Соотношение эндосом и плотных апикальных канальцев Ratio of endosomes to dense apical tubules
Контроль Control n=25	6,0 (5,0; 7,5)	9,0 (8,0; 12,0)	16,0 (14,0; 18,0)	0,63 (0,5; 0,88)
Контроль + литий Control + lithium n=25	6,0 (5,0; 7,0)	8,0 (8,0; 9,0)	14,0 (13,0; 16,0) *p=0,001	0,69 (0,57; 0,79)
Опухоль Tumor n=25	4,0 (3,0; 5,0) *p=0,0001	5,0 (4,0; 6,0) *p=0,0001	9,0 (8,0; 10,0) *p=0,0001	0,80 (0,67; 0,83) *p=0,009
Опухоль + литий Tumor + lithium n=25	7,0 (6,0; 8,0) #p=0,0001	10,5 (9,0; 13,0) #p=0,0001	18,5 (15,0; 20,0) #p=0,0001	0,68 (0,62; 0,75) #p=0,039

N_A – численная плотность структур; n=25 – количество цифровых микрофотографий; статистически значимые отличия: * – по сравнению с соответствующими значениями в группе «контроль», # – по сравнению с соответствующими значениями в группе «опухоль»
 N_A – the numerical density of structures; n=25 – number of digital micrographs, statistically significant differences: * – from corresponding values in the control group, # – from corresponding values in the group with tumors and no lithium administration

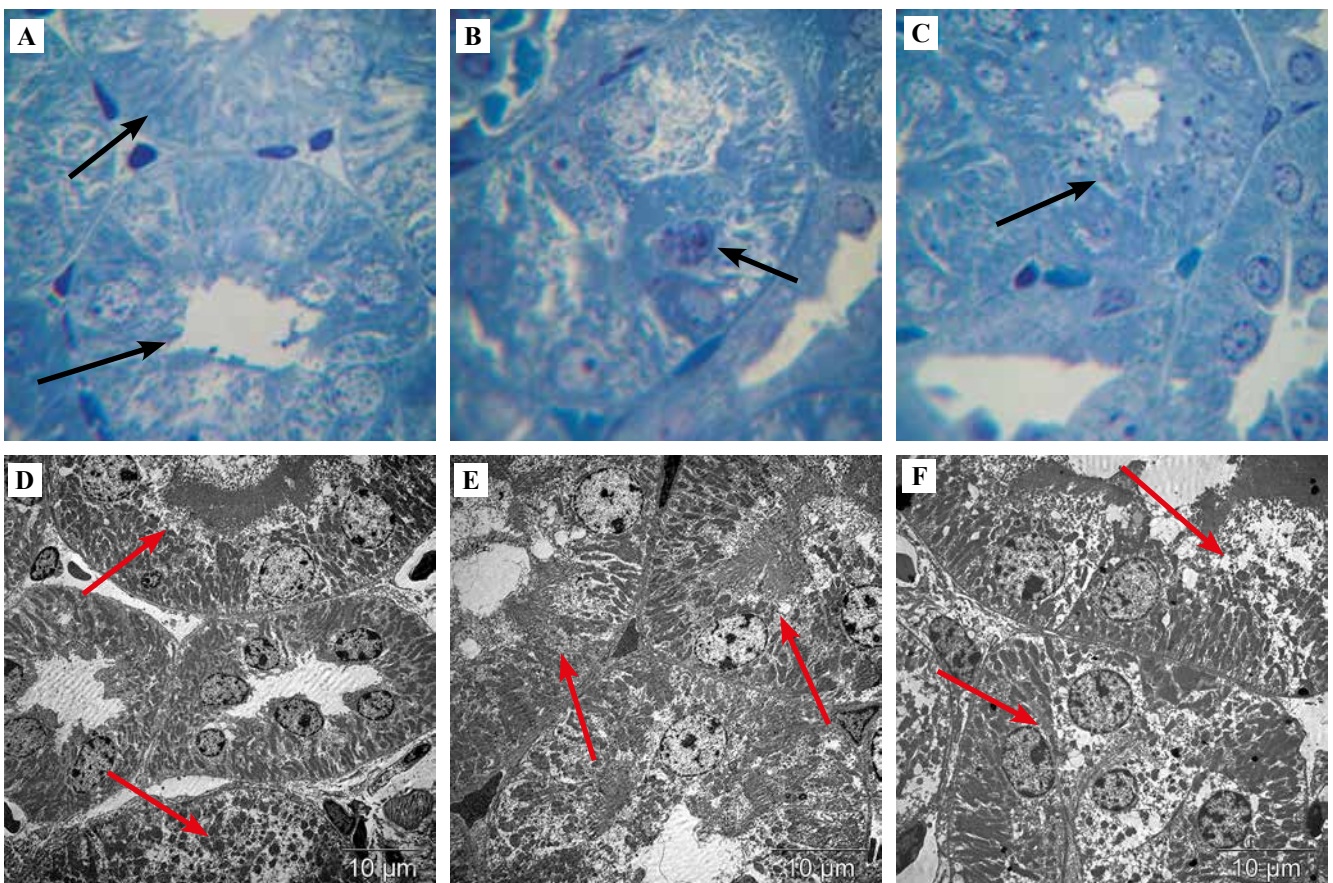


Рис. 1. Структура проксимальных канальцев почки мышей линии СВА (стрелки).

А, D – в группе контроля, В, Е – у животных из группы «опухоль», С, F – у животных из группы «опухоль + литий».

А, В, С – окраска толуидиновым синим, $\times 1000$ D, E, F – ТЭМ, $\times 3000$, масштабный отрезок – 10 мкм

Fig. 1. Structure of the kidney proximal tubules of CBA mice (arrows).

А, D – in the control group, В, Е – in the animals with tumors without lithium administration, С, F – in the animals with tumors and administered lithium. А, В, С – toluidine blue stain $\times 1000$ D, E, F – TEM, $\times 3000$, scale bar – 10 μ m

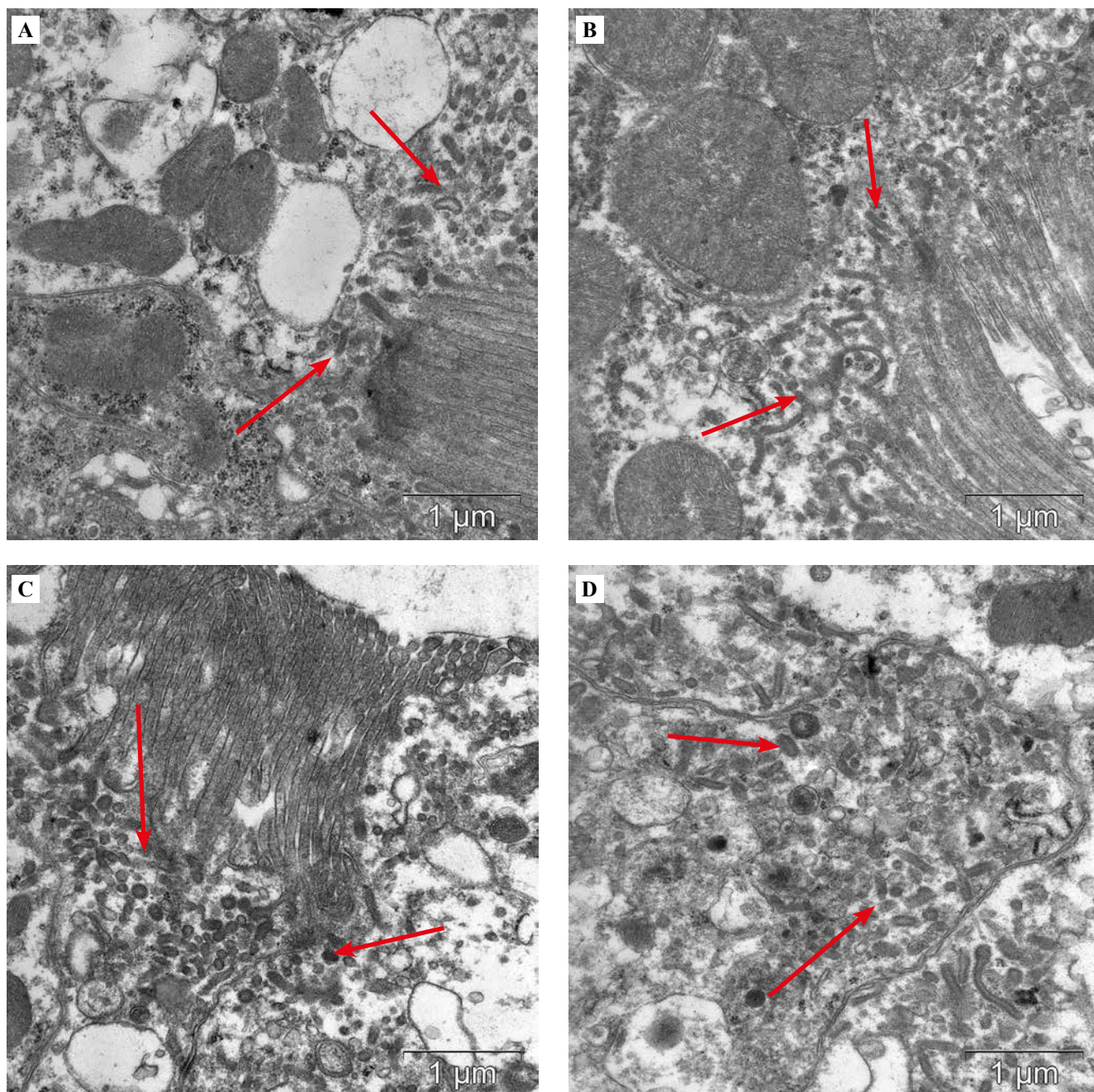


Рис. 2. Структурная организация апикальной зоны клеток проксимальных канальцев почки мышей линии СВА. Эндосомы и плотные апикальные каналцы (стрелки).

А – интактный контроль, В – группа «опухоль», С – группа «контроль + литий». D – группа «опухоль + литий». ТЭМ, масштабный отрезок – 1 мкм

Fig. 2. Structural organization of the apical zone of the kidney proximal tubule cells of CBA mice. Endosomes and dense apical tubules (arrows).

A – in the control group, B – in the animals with tumors without lithium administration, C – in the animals without tumors and with administered lithium, D – in the animals with tumors and administered lithium. TEM, scale bar – 1 µm

При введении карбоната лития интактным животным численные плотности эндосом и плотных апикальных канальцев достоверно не изменялись. Снижение численной плотности эндосом и плотных апикальных канальцев и общей численной плотности эндоцитарных структур наблюдали в группе животных с опухолевым ростом. При этом численная плотность эндосом была меньше на

33%, а плотных апикальных телец на 45% по сравнению с соответствующими показателями в контроле.

В апикальной зоне клеток проксимального отдела нефрона в группе животных «опухоль + литий» имела место тенденция к возрастанию численной плотности как эндосом, так и плотных апикальных телец, при этом их соотношение не отличалось от соответствующей

величины в контроле (табл. 1). По сравнению с клетками животных с опухолевым ростом на 75% была большей численная плотность эндосом и в 2 раза увеличено число плотных апикальных канальцев (табл. 1).

При исследовании ультраструктурной организации околядерной зоны клеток проксимальных

канальцев выявлено, что при введении перорально карбоната лития интактным животным в 2 раза возрастала объемная плотность свободных полисомальных комплексов рибосом, содержание в цитоплазме остальных органелл достоверно не изменялось (табл. 2, рис. 3 А, В).

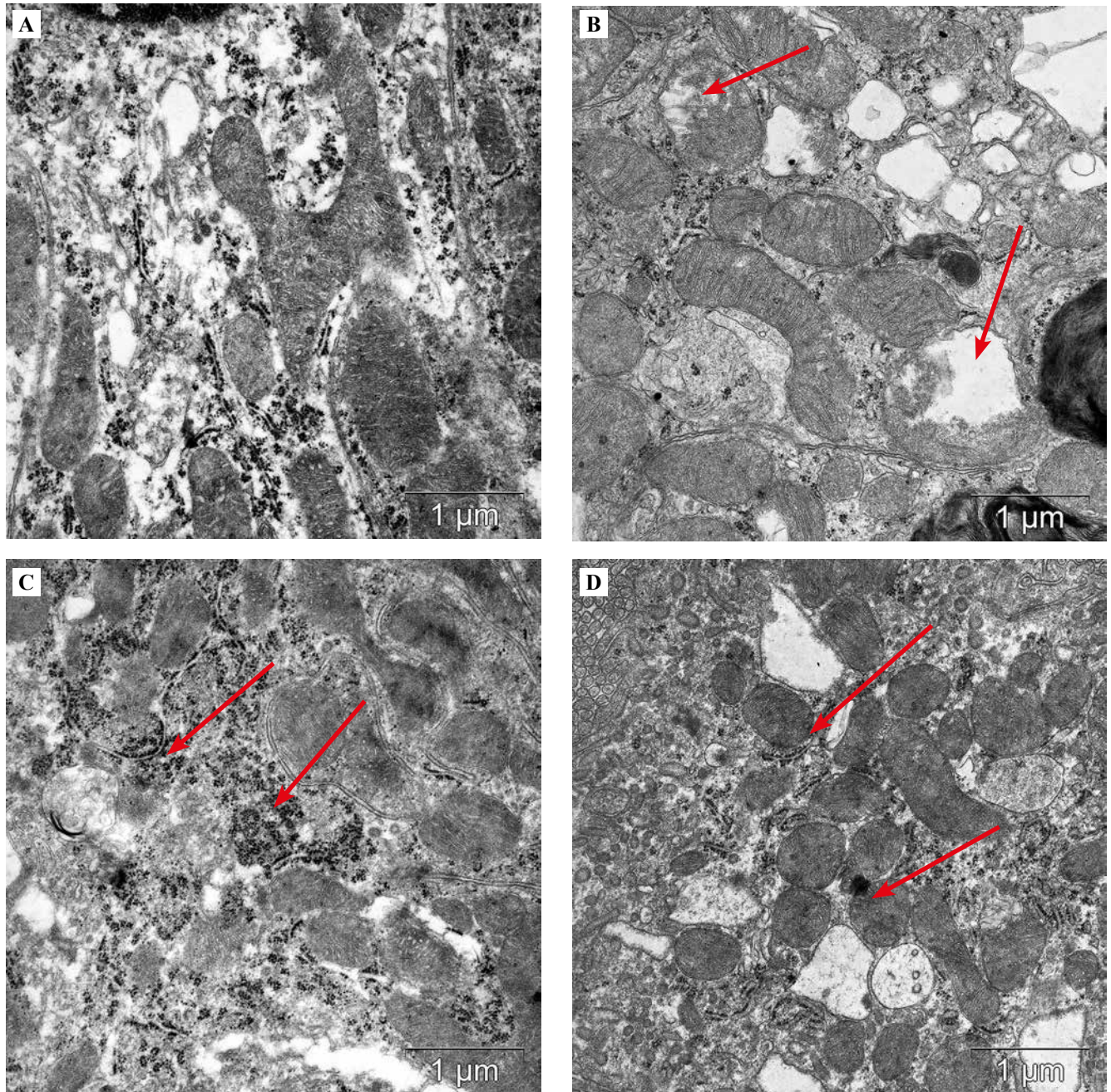


Рис. 3. Структурная организация околядерной зоны клеток проксимальных канальцев почки мышей линии СВА.

А – интактный контроль, В – группа «опухоль», набухание митохондрий и нарушение структуры крист (стрелки), С – группа «контроль + литий», большое содержание свободных полисомальных комплексов рибосом (стрелки),

Fig. 3. Structural organization of the perinuclear zone of the kidney proximal tubule cells of CBA mice.

Д – группа «опухоль + литий», большое содержание мелких митохондрий (стрелки). ТЭМ, масштабный отрезок – 1 мкм

A – in the control group, B – in the animals with tumors without lithium administration, swelling of mitochondria and disruption of the cristae structure (arrows), C – in the animals without tumors and with administered lithium, numerous free polysomal ribosome complexes (arrows), D – in the animals with tumors and administered lithium, numerous small mitochondria (arrows). TEM, scale bar – 1 µm

Таблица 2 | Table 2

Результаты морфометрии околядерной зоны эпителиоцитов проксимальных канальцев почки, Me (25; 75) |
Results of morphometry of the perinuclear zone of the kidney proximal tubules epithelial cells, Me (25; 75)

Группы Groups	Митохондрии Vv Mitochondria Vv	Митохондрии N _A Mitochondria N _A	ЭПР Vv EPR Vv	Рибосомы Vv Ribosomes Vv
Контроль Control n=25	9,0 (8,0; 10,0)	10,0 (9,0; 11,0)	4,0 (3,0; 5,0)	2,2 (2,0; 3,0)
Контроль + литий Control + lithium n=25	9,0 (8,0; 10,0)	10,0 (9,0; 11,0)	3,0 (3,0; 4,0)	4,8 (3,5; 5,0) *p=0,0001
Опухоль Tumor n=25	7,0 (6,0; 8,0) *p=0,0001	9,0 (8,0; 9,0)	2,1 (2,0; 3,0) *p=0,0001	2,0 (1,5; 2,0)
Опухоль + литий Tumor + lithium n=25	8,0 (7,0; 9,0)	12,0 (10,0; 13,0)	2,0 (1,9; 3,00) *p=0,0001	2,0 (1,5; 2,0)

Vv – объемная плотность структур (%); N_A – численная плотность структур; n=25 – количество цифровых микрофотографий,
* – статистически значимые отличия по сравнению с соответствующими значениями в группе «контроль»

Vv – the volume density of structures (%); N_A – the numerical density of structures; n=25 – number of digital micrographs,
* – statistically significant differences from corresponding values in the control group

В цитоплазме эпителиоцитов животных из группы «опухоль» отмечали снижение объемной плотности митохондрий на 22%, их численная плотность при этом достоверно не изменялась (табл. 2). Происходило набухание митохондрий и, как следствие, увеличение их размеров и нарушение структуры крист (рис. 3 В).

При введении перорально карбоната лития животным с опухолевым ростом имела место тенденция к снижению объемной плотности митохондрий и возрастанию их численной плотности, что, по-видимому, являлось следствием деления данных органелл, так как отмечали наличие большого количества мелких

митохондрий (табл. 2, рис. 3 D). Объемная плотность мембран гранулярного эндоплазматического ретикулума была снижена на 50% по сравнению с контролем (табл. 2).

При исследовании ультраструктурной организации аутофагических структур в цитоплазме эпителиоцитов проксимальных канальцев выявлено, что при введении карбоната лития интактным животным не происходило изменения количества лизосомальных структур. В группе животных с опухолевым ростом отмечено увеличение на 95% аутолизосом по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 3 | Table 3

Результаты морфометрии аутофагических структур эпителиоцитов проксимальных канальцев почки, Me (25; 75) |
The results of morphometry of the autophagic structures of the kidney proximal tubules epithelial cells, Me (25; 75)

Группы Groups	Аутофагосомы Vv Autophagosomes Vv	Лизосомы Vv Lysosomes Vv	Аутолизосомы Vv Autolysosomes Vv
Контроль Control n=25	0,25 (0,21; 0,29)	0,21 (0,19; 0,23)	0,19 (0,17; 0,20)
Контроль + литий Control + lithium n=25	0,23 (0,22; 0,24)	0,27 (0,25; 0,29)	0,19 (0,18; 0,22)
Опухоль Tumor n=25	0,20 (0,18; 0,22)	0,29 (0,28; 0,30)	0,37 (0,36; 0,44) *p=0,0008
Опухоль + литий Tumor + lithium n=25	0,32 (0,31; 0,34) *p=0,0001 #p=0,0001	0,50 (0,48; 0,51) *p=0,0001 #p=0,0001	0,43 (0,42; 0,46) *p=0,0001

Vv – объемная плотность структур (%); n=25 – количество цифровых микрофотографий, статистически значимые отличия:

* – по сравнению с соответствующими значениями в группе «контроль», # – по сравнению с соответствующими значениями в группе «опухоль»

Vv – the volume density of structures (%); n=25 – number of digital micrographs, statistically significant differences: * – from corresponding values in the control group, # – from corresponding values in the group with tumors and no lithium administration

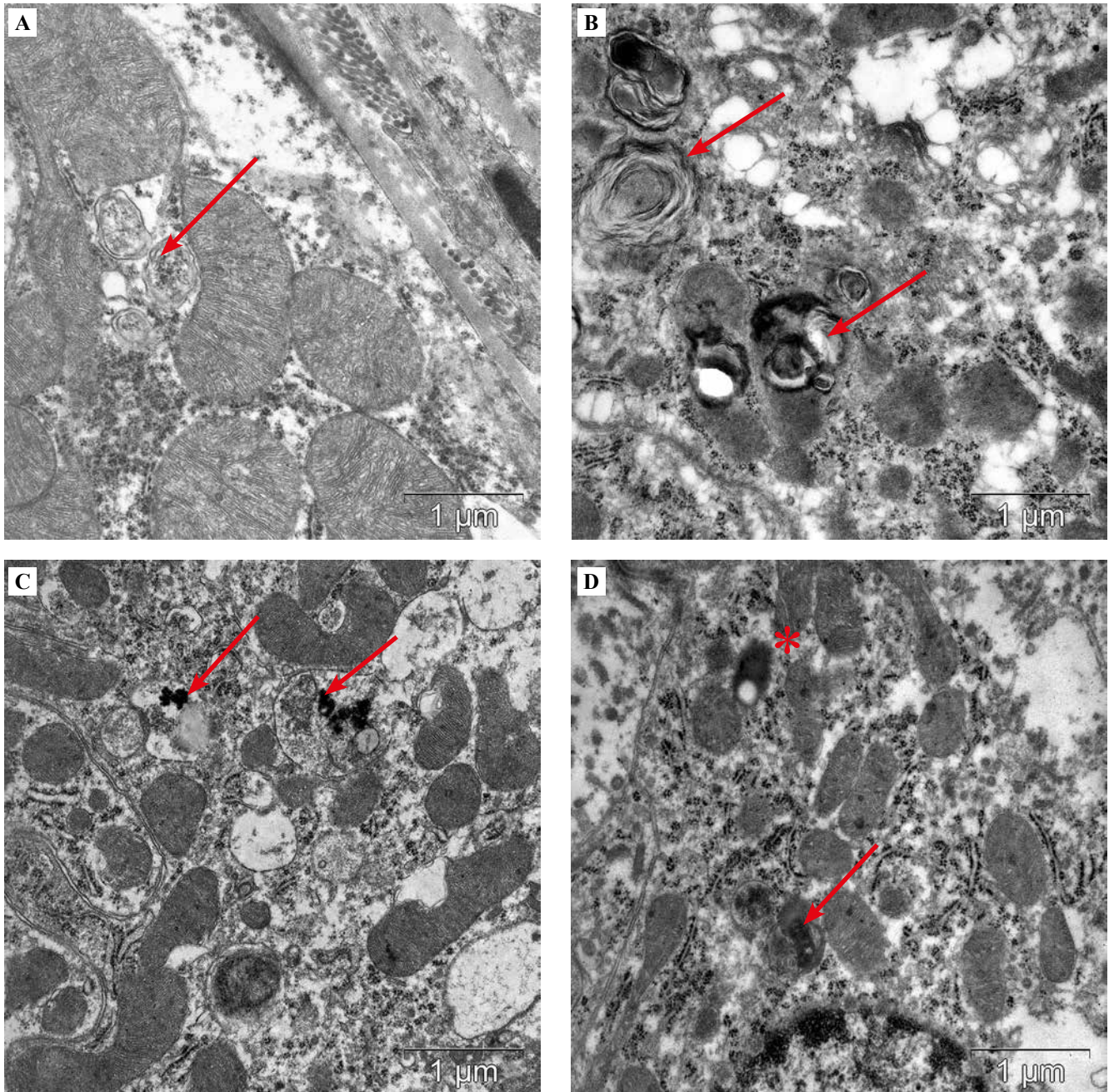


Рис. 4. Аутофагические структуры в цитоплазме клеток проксимальных канальцев почки мышей линии СВА.

А – интактный контроль, аутофагосомы с фрагментами цитоплазмы (стрелка), В – группа «опухоль», лизосомы и миелиновые тельца (стрелки), С – группа «опухоль + литий», аутофагосомы (стрелки), D – группа «опухоль + литий», лизосома (звездочка) и аутолизосомы (стрелка). ТЭМ, масштабный отрезок – 1 мкм

Fig. 4. Autophagic structures in the cytoplasm of the kidney proximal tubule cells of CBA mice.

A – in the control group, autophagosomes with fragments of the cytoplasm (arrow), B – in the animals with tumors, lysosomes and myelin bodies (arrows), C – in the animals with tumors and administered lithium, autophagosomes (arrows), D – in the animals with tumors and administered lithium, lysosome (asterisk) and autolysosomes (arrow). TEM, scale bar – 1 µm

При добавлении карбоната лития к рациону животных с опухолевым ростом значительно увеличивалась объемная плотность всех аутофагических структур (табл. 3). Морфометрический анализ клеток проксимальных канальцев почек показал, что в группе животных с опухолевым ростом, получавших литий, объемная плотность аутофагосом была больше на 28%,

чем величина соответствующего показателя в группе «контроль», и на 60%, чем в группе «опухоль». При этом объемная плотность лизосом увеличилась в 2 раза по сравнению с интактным контролем и на 72% по сравнению с животными с опухолевым ростом (табл. 3, рис. 4). Объемная плотность аутолизосом возросла в 2 раза по сравнению с контролем и достоверно

не отличалась от соответствующего показателя у животных с опухолевым ростом.

Обсуждение

В эпителиоцитах проксимальных канальцев почки происходит реабсорбция белков из клубочкового фильтрата за счет рецепторопосредованного эндоцитоза. Апикальный эндоцитарный аппарат проксимальных клеток состоит из окаймленных везикул, эндосом, лизосом и плотных апикальных канальцев. Поступившие в клетку путем эндоцитоза белки транспортируются эндосомальной системой в лизосомы, где деградируют, а рецепторы рециркулируют в апикальную плазматическую мембрану через плотные апикальные каналцы [21].

Имеются данные, что активность апикального эндоцитоза может проявляться морфологически различимыми изменениями в эндоцитарных компартментах, что отражает изменение способности к интернализации [22]. Следовательно, полученные нами ультраструктурные изменения в содержании эндосом и плотных апикальных канальцев в эпителиоцитах проксимального отдела почки могут свидетельствовать о снижении реабсорбции и рециркуляции белков в условиях периферического опухолевого роста и коррекции этого процесса при введении карбоната лития.

Известно, что клетки проксимальных канальцев в физиологических условиях обладают низким уровнем аутофагии. Однако базальная аутофагия необходима для поддержания их функции [23]. Показано, что за счет аутофагии в проксимальных канальцах происходит удаление поврежденных белков и органелл [24]. Деградируемый в лизосомах материал повторно используется в качестве строительных блоков, необходимых для поддержания клеточного гомеостаза, что позволяет рассматривать аутофагию как защитный механизм [25].

В нашем эксперименте в условиях токсической нагрузки на почки, связанной с периферическим опухолевым ростом, были получены данные об увеличении объемной плотности аутолизосом и уменьшении объемной плотности митохондрий и мембран гранулярного эндоплазматического ретикулула, свидетельствующие о возрастании катаболических процессов в клетках проксимальных канальцев. Тем не менее активность аутофагии, видимо, была недостаточной, так как в клетках сохранялись органеллы с деструктивными изменениями. В частности, митохондрии имели структурные признаки набухания со снижением содержания крист.

При введении карбоната лития в условиях отдаленного опухолевого роста в клетках проксимальных канальцев отмечалось возрастание объемной плотности всех типов аутофагических структур. При этом не отмечалось достоверных изменений в содержании и структуре митохондрий по сравнению с контролем и наблюдались достоверно большие значения численной плотности эндосом и плотных апикальных канальцев по сравнению и животными группы «опухоль».

Известно, что аутофагия в почке осуществляется через внутриклеточную лизосомную деградацию и рециклинг и необходима для поддержания баланса гомеостаза клетки и рециркуляции белка [26]. Выявленные нами данные об отсутствии различий в значениях численной плотности эндосомальных структур в группе «опухоль + литий» от соответствующих величин в контроле, по-видимому, связаны с активацией аутофагии литием, обусловившей сохранение процессов реабсорбции и рециркуляции белка в клетках проксимальных канальцев.

Ранее нами на этой же экспериментальной модели при пероральном введении карбоната через день в дозе 125 мг/кг массы тела было определено накопление лития в крови и органах экспериментальных животных с опухолевым ростом и показано, что его концентрации при введении в течение месяца не превышают допустимые для лития значения и составляют в крови $0,007 \pm 0,0005$ мМ/л и в почках $0,025 \pm 0,005$ мМ/кг [27].

Литий имеет чрезвычайно низкий терапевтический индекс, и важно тщательно контролировать его уровень в плазме. Известно, что диапазон эффективных доз лития при лечении нейродегенеративных заболеваний составляет 0,6–1,0 мМ в сыворотке и значения более 1,5 мМ могут быть токсичными, а уровни лития в сыворотке 1,5–2,0 мМ могут оказывать легкое и обратимое токсическое воздействие на почки, печень, сердце, эндокринные железы [28]. Концентрации лития выше 1,2 ммоль/л потенциально токсичны и могут быть смертельными [29].

Известно, что литий всасывается в основном в желудке и выводится почками. Эффект его действия заключается в снижении способности почек реабсорбировать воду, и степень поражения почек зависит от продолжительности непрерывного воздействия лития [28].

Показано, что период полувыведения лития равен примерно 24 часам [30]. Согласно нашим данным, в условиях введения лития через день в течение 30 дней даже в значительной дозе не наблюдается эффекта его избыточного накопления [27]. Сходные данные были получены другими авторами, использовавшими такую же дозу лития при моделировании рака толстой кишки [5]. Следовательно, введение карбоната лития через день в течение месяца позволяет избежать чрезмерного накопления лития в крови и почках, не оказывает повреждающего действия на структуру почек и способствует поддержанию структурной целостности клеток проксимальных канальцев через активацию аутофагии и эндоцитоза.

Заключение

В условиях отдаленного роста опухоли в апикальной части клеток проксимальных канальцев почки отмечено уменьшение численной плотности эндосом и плотных апикальных канальцев. В перинуклеарном компартменте клеток проксимальных канальцев на-

блюдались набухание митохондрий и деструкция крист. Была снижена объемная плотность митохондрий, мембран гранулярной эндоплазматической сети и увеличена объемная плотность аутолизосом.

Пероральное введение карбоната лития через день в течение месяца интактным животным не приводило к развитию деструктивных изменений эпителиоцитов проксимальных канальцев почки. Введение карбоната лития животным с периферическим опухолевым ростом оказывало протективное действие на ультраструктурную организацию эпителиоцитов проксимальных канальцев почки, что, по-видимому, было обусловлено активацией аутофагии. Полученные результаты могут быть полезны в разработке поддерживающей комплексной терапии пациентов с онкологическими заболеваниями и сопутствующим поражением почек.

Вклад авторов

Концепция и дизайн исследования – Н.П. Бгатова, Ш.М. Жумадина, Е.Л. Завьялов.
Сбор и обработка материала – А.М. Рахметова, Ю.С. Таскаева, Н.П. Бгатова.
Написание текста – Н.П. Бгатова.
Редактирование – Н.П. Бгатова, Ю.С. Таскаева, Е.Л. Завьялов.

Author contributions

Conceived the study and designed the experiment – N.P. Bgatova, Sh.M. Zhumadina, E.L. Zavjalov.
Collected the data and performed the analysis – A.M. Rakhmetova, Yu.S. Taskaeva, N.P. Bgatova.
Wrote the paper – N.P. Bgatova.
Edited the manuscript – N.P. Bgatova, Yu.S. Taskaeva, E.L. Zavjalov.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Disclosure. The authors declare no conflict of interest.

Литература/References

1. *Snitow ME, Bhansali RS, Klein PS.* Lithium and therapeutic targeting of GSK-3. *Cells.* 2021;10(2):255. DOI: 10.3390/cells10020255.
2. *Costemale-Lacoste JF, Guilloux JP, Gaillard R.* The role of GSK-3 in treatment-resistant depression and links with the pharmacological effects of lithium and ketamine: A review of the literature. *Encephale.* 2016;42(2):156–64. DOI: 10.1016/j.encep.2016.02.003.
3. *Kraft L, Roe SM, Gill R, Atack JR.* Co-crystallization of human inositol monophosphatase with the lithium mimetic L-690,330. *Acta Crystallogr D Struct Biol.* 2018;74(Pt 10):973–8. DOI: 10.1107/S2059798318010380.
4. *Won E, Kim YK.* An oldie but goodie: Lithium in the treatment of bipolar disorder through neuroprotective and neurotrophic mechanisms. *Int J Mol Sci.* 2017;18(12):2679. DOI: 10.3390/ijms18122679.
5. *Maeng YS, Lee R, Lee B, Choi SI, Kim EK.* Lithium inhibits tumor lymphangiogenesis and metastasis through the inhibition of TGFβ1 expression in cancer cells. *Sci Rep.* 2016;6:20739. DOI: 10.1038/srep20739.
6. *Zhao YJ, Qiao H, Liu DF, Li J, Li JX, Chang SE et al.* Lithium promotes recovery after spinal cord injury. *Neural Regen Res.* 2022;17(6):1324–33. DOI: 10.4103/1673-5374.327348.
7. *Davis J, Desmond M, Berk M.* Lithium and nephrotoxicity: A literature review of approaches to clinical management and risk stratification. *BMC Nephrol.* 2018;19(1):305. DOI: 10.1186/s12882-018-1101-4.
8. *Gong R, Wang P, Dworkin L.* What we need to know about the effect of lithium on the kidney. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2016;311(6):F1168–71. DOI: 10.1152/ajprenal.00145.2016.
9. *Glasscock RJ, Rule AD.* Aging and the kidneys: Anatomy, physiology and consequences for defining chronic kidney disease. *Nephron.* 2016;134(1):25–9. DOI: 10.1159/000445450.
10. *Sakul A, Ozansoy M, Elibol B, Ayla Ş, Günel MY, Yozgat Y et al.* Squalene attenuates the oxidative stress and activates AKT/mTOR pathway against cisplatin-induced kidney damage in mice. *Turk J Biol.* 2019;43(3):179–88. DOI: 10.3906/biy-1902-77.
11. *Sakhno LA, Sarnatskaya VV, Yushko LA, Snezhkova EA, Bardakhivskaya KI, Shevchuk OO.* Adsorptive therapy as a modifier for tumor-host interaction. *Exp Oncol.* 2019;41(3):254–7. DOI: 10.32471/exp-oncology.2312-8852.vol-41-no-3.13576.
12. *Гаркуша Т.А., Быханова Е.А., Хоржевский В.А., Ганноев С.В., Фирсов М.А., Ивлиев С.В.* Частота встречаемости гломерулопатий при новообразованиях почек в Красноярске. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(3):15–21. DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.15-21.
13. *Garkusha TA, Bykhanova EA, Khorzhevskii VA, Gappoev SV, Firsov MA, Ivliev SV.* The incidence of glomerulopathies in kidney neoplasms in Krasnoyarsk. Clinical and experimental morphology. 2022;11(3):15–21 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.3.15-21.
14. *Dikic I.* Proteasomal and autophagic degradation systems. *Annu Rev Biochem.* 2017;86:193–224. DOI: 10.1146/annurev-biochem-061516-044908.
15. *Qi YY, Zhou XJ, Cheng FJ, Hou P, Ren YL, Wang SX et al.* Increased autophagy is cytoprotective against podocyte injury induced by antibody and interferon-α in lupus nephritis. *Ann Rheum Dis.* 2018;77(12):1799–809. DOI: 10.1136/annrheumdis-2018-213028.
16. *Motoi Y, Shimada K, Ishiguro K, Hattori N.* Lithium and autophagy. *ACS Chem Neurosci.* 2014;5(6):434–42. DOI: 10.1021/cn500056q.
17. *Taskaeva I, Gogaeva I, Shatruck A, Bgatova N.* Lithium enhances autophagy and cell death in skin melanoma: An ultrastructural and immunohistochemical study. *Microsc Microanal.* 2022;28(5):1703–11. DOI: 10.1017/S1431927622000745.
18. *Sarkar S, Floto RA, Berger Z, Imarisio S, Cordenier A, Pasco M et al.* Lithium induces autophagy by inhibiting inositol monophosphatase. *J Cell Biol.* 2005;170(7):1101–11. DOI: 10.1083/jcb.200504035.
19. *Alsady M, Baumgarten R, Deen PM, Groot T.* Lithium in the kidney: Friend and foe? *J Am Soc Nephrol.* 2016;27(6):1587–95. DOI: 10.1681/ASN.2015080907.
20. *Шапошников А.В., Кут О.И., Непомнящая Е.М., Юрьева Е.А.* Гепатоцеллюлярный рак. Современные аспекты канцеро-

- генеза. Клиническая и экспериментальная морфология. 2022;11(4):5–15. DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.5-15.
- Shaposhnikov AV, Kit OI, Nepomnyaschaya EM, Yurieva EA.* Hepatocellular cancer. Current aspects of carcinogenesis. Clinical and experimental morphology. 2022;11(4):5–15 (In Russ.). DOI: 10.31088/CEM2022.11.4.5-15.
20. *Kaledin VI, Zhukova NA, Nikolin VP, Popova NA, Beliaev MD, Baginskaya NV et al.* Hepatocarcinoma-29, a metastasizing transplantable mouse tumor inducing cachexia. *Bull Exp Biol Med.* 2009;148(6):903–8. DOI: 10.1007/s10517-010-0848-9.
21. *Schreiber A, Theilig F, Schweda F, Höcherl K.* Acute endotoxemia in mice induces downregulation of megalin and cubilin in the kidney. *Kidney Int.* 2012;82(1):53–9. DOI: 10.1038/ki.2012.62.
22. *Eshbach ML, Weisz OA.* Receptor-mediated endocytosis in the proximal tubule. *Annu Rev Physiol.* 2017;79:425–48. DOI: 10.1146/annurev-physiol-022516-034234.
23. *Tang C, Livingston MJ, Liu Z, Dong Z.* Autophagy in kidney homeostasis and disease. *Nat Rev Nephrol.* 2020;16(9):489–508. DOI: 10.1038/s41581-020-0309-2.
24. *Wang Z, Choi ME.* Autophagy in kidney health and disease. *Antioxid Redox Signal.* 2014;20(3):519–37. DOI: 10.1089/ars.2013.5363.
25. *Choi AM, Ryter SW, Levine B.* Autophagy in human health and disease. *N Engl J Med.* 2013;368(7):651–62. DOI: 10.1056/NEJMra1205406.
26. *Lin TA, Wu VC, Wang CY.* Autophagy in chronic kidney diseases. *Cells.* 2019;8(1):61. DOI: 10.3390/cells8010061.
27. *Bgatova N, Solovjeva O, Shatskaya S, Taskaeva Iu, Khot-skin N, Isupov V et al.* Neuroprotective effects of lithium carbonate in conditions of tumor growth. Proceedings of the 11th International Multiconference Bioinformatics of Genome Regulation and Structure/Systems Biology (BGRS/SB). 2018 Aug 20–25; Novosibirsk: Russia. 2018;51–55. DOI: 10.1109/CSGB.2018.8544772.
28. *Albert U, De Cori D, Blengino G, Bogetto F, Maina G.* Lithium treatment and potential long-term side effects: A systematic review of the literature. *Riv Psichiatr.* 2014;49(1):12–21. DOI: 10.1708/1407.15620.
29. *Sheikh M, Qassem M, Triantis IF, Kyriacou PA.* Advances in therapeutic monitoring of lithium in the management of bipolar disorder. *Sensors (Basel).* 2022;22(3):736. DOI: 10.3390/s22030736.
30. *Malhi GS, Tanious M, Das P, Berk M.* The science and practice of lithium therapy. *Aust N Z J Psychiatry.* 2012;46(3):192–211. DOI: 10.1177/0004867412437346.

Информация об авторах

Наталья Петровна Бгатова – доктор биологических наук, профессор, руководитель лаборатории ультраструктурных исследований научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН.

Асель Мурзагельдиновна Рахметова – старший преподаватель кафедры биологии и экологии Торайгырова университета.

Шолпан Молдажановна Жумадина – доктор биологических наук, профессор, доцент кафедры биологии, защиты и карантина растений Казахского агротехнического университета им. С. Сейфуллина.

Юлия Сергеевна Таскаева – кандидат медицинских наук, научный сотрудник лаборатории ультраструктурных исследований научно-исследовательского института клинической и экспериментальной лимфологии – филиала ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН.

Евгений Леонидович Завьялов – кандидат биологических наук, руководитель Центра неклинических испытаний ФГБНУ ФИЦ Институт цитологии и генетики СО РАН.

Author information

Nataliya P. Bgatova – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Head of the Laboratory of Ultrastructural Research, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Science. <https://orcid.org/0000-0002-4507-093X>

Asel M. Rakhmetova – Senior Lecturer, Department of Biology and Ecology, Toraigyrov University. <https://orcid.org/0000-0002-3221-958X>

Sholpan M. Zhumadina – Dr. Sci. (Biol.), Professor, Associate Professor, Department of Biology, Plant Protection and Quarantine, Saken Seifullin Kazakh Agrotechnical University. <https://orcid.org/0000-0002-4792-7466>

Iuliia S. Taskaeva – Cand. Sci. (Med.), Researcher, Laboratory of Ultrastructural Research, Research Institute of Clinical and Experimental Lymphology – Branch of the Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Science. <https://orcid.org/0000-0002-2812-2574>

Evgenii L. Zavjalov – Cand. Sci. (Biol.), Head of the Non-clinical Testing Center, Institute of Cytology and Genetics, Siberian Branch of the Russian Academy of Science. <https://orcid.org/0000-0002-9412-3874>