

Особенности пролиферации и апоптоза в клетках сосудистых клубочков и нефроцитов после локального облучения электронами и введения аскорбиновой кислоты

Г.А. Демяшкин^{1,2}, Ж.Э. Урусханова¹, С.Н. Корякин², М.А. Паршенков¹, Т.К. Дубовая³, Г.М. Родионова¹, В.И. Щекин¹, Ю.В. Ивченко¹, О.В. Ионова¹

¹ Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова (Сеченовский Университет), Москва, Россия;

² Национальный медицинский исследовательский центр радиологии, Москва, Россия;

³ Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Москва, Россия

АННОТАЦИЯ

Обоснование. Радиационное облучение — один из методов лечения злокачественных новообразований, сопряжённых с риском развития радиационной нефропатии из-за высокой радиочувствительности сосудистых клубочков и эпителия канальцев нефронов. Исследование пролиферации и апоптоза эндотелия сосудистых клубочков и нефроцитов имеет ключевое значение для понимания механизмов радиационного повреждения и разработки способов профилактики.

Цель исследования — оценка пролиферации и апоптоза эндотелия сосудистых клубочков и нефроцитов при предлучевом введении аскорбиновой кислоты в модели лучевой нефропатии.

Материалы и методы. Крысы линии Wistar ($n=90$) были разделены на группы: I — контрольная ($n=15$); II — облучение, разовая очаговая доза (РОД) 2 Гр ($n=15$); III — облучение, РОД 8 Гр ($n=15$); IV — облучение, РОД 2 Гр + аскорбиновая кислота, интраперитонеальная инъекция, доза 50 мг/кг ($n=15$); V — облучение, РОД 8 Гр + аскорбиновая кислота, интраперитонеальная инъекция, доза 50 мг/кг ($n=15$); VI — аскорбиновая кислота, интраперитонеальная инъекция, доза 50 мг/кг ($n=15$). Образцы окрашивали гематоксилином и эозином, а также проводили иммуногистохимическую оценку количества Ki-67- и каспаза-3-позитивных клеток.

Результаты. При гистологическом исследовании патоморфологические изменения структур почки были менее выражены при предлучевом введении аскорбиновой кислоты в модели острой лучевой нефропатии, индуцированной локальным облучением электронами в РОД 2 Гр и 8 Гр. При иммуногистохимическом исследовании в группах РОД 2 Гр и 8 Гр наблюдали уменьшение Ki-67- и каспаза-3-позитивных клеток в сосудистых клубочках, эпителиоцитах проксимальных и дистальных канальцев нефронов ($p > 0,05$). Напротив, в опытных группах с предлучевым введением аскорбиновой кислоты фиксировали статистически значимое снижение интенсивности апоптоза, а количество Ki-67-позитивных клеток было приближено к контрольным значениям ($p > 0,05$).

Заключение. Предлучевое введение аскорбиновой кислоты снижает степень выраженности радиационно-индуцированного повреждения структур почек, а также воздействие электронов на пролиферацию и апоптоз клеток сосудистых клубочков, эпителиоцитов канальцев нефронов, усиливая эффективность антиоксидантной защиты.

Ключевые слова: лучевая нефропатия; облучение электронами; почки; аскорбиновая кислота; клеточный цикл; пролиферация, апоптоз.

Как цитировать:

Демяшкин Г.А., Урусханова Ж.Э., Корякин С.Н., Паршенков М.А., Дубовая Т.К., Родионова Г.М., Щекин В.И., Ивченко Ю.В., Ионова О.В. Особенности пролиферации и апоптоза в клетках сосудистых клубочков и нефроцитов после локального облучения электронами и введения аскорбиновой кислоты // *Морфология*. 2024. Т. 162, № 1. С. 00–00. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.629410>

Рукопись получена: 25.03.2024 Рукопись одобрена: 25.06.2024 Опубликовано online: 28.07.2024

Accepted for publication

Renal proliferation and apoptosis against ascorbic acid administration in a model of acute radiation nephropathy

Grigory A. Demyashkin^{1,2}, Zhanna E. Uruskhanova¹, Sergey N. Koryakin², Mikhail A. Parshenkov¹, Tatiana K. Dubovaya³, Galina M. Rodionova¹, Vladimir I. Shchekin¹, Yuliya V. Ivchenko¹, Olga V. Ionova¹

¹ The First Sechenov Moscow State Medical University (Sechenov University), Moscow, Russia;

² National Medical Research Radiological Center, Moscow, Russia;

³ The Russian National Research Medical University named after N.I. Pirogov, Moscow, Russia

ABSTRACT

BACKGROUND: Radiation exposure, an integral part of the treatment of malignant neoplasms, carries a risk of radiation nephropathy due to the high radiosensitivity of the kidneys. The study of renal tissue proliferation and apoptosis is one of the keys to understanding the mechanisms of radiation damage and developing treatment strategies.

AIM: Evaluation of endothelial proliferation and apoptosis of vascular tubules and nephrocytes during pre-radiation administration of ascorbic acid in a model of radiation nephropathy.

MATERIALS AND METHODS: Wistar rats ($n=90$) were divided into groups: I — control ($n=15$); II — irradiation, 2 Gy dose ($n=15$); III — irradiation, 8 Gy dose ($n=15$); IV — irradiation, 2 Gy dose + ascorbic acid, intraperitoneal injection, dose 50 mg/kg ($n=15$); V — irradiation, 8 Gy dose + ascorbic acid, intraperitoneal injection, dose 50 mg/kg ($n=15$); VI — ascorbic acid, intraperitoneal injection, dose 50 mg/kg ($n=15$). Kidney slides were stained with hematoxylin and eosin. In addition, immunohistochemical evaluation of the expression level of Ki-67- and Cas-3-positive cells was performed.

RESULTS: The histological study showed that pre-radiation administration of ascorbic acid (intraperitoneal injection; dose 50 mg/kg) in the model of acute radiation nephropathy induced by local irradiation with electrons at doses 2 Gy and 8 Gy contributed to statistical reduction of pathomorphologic changes. According to the results of immunohistochemical evaluation of proliferation and apoptosis — distribution of Ki-67- and Cas-3-positive cells in the tubules, epitheliocytes of proximal and distal tubules of nephrons in mono-irradiation groups revealed activation of the terminal stage of cell death, which correlated with the dose of electron irradiation. At the same time, in the experimental groups with pre-irradiation administration of ascorbic acid a statistically significant decrease in the intensity of apoptosis was recorded.

CONCLUSION: Pre-radiation administration of ascorbic acid statistically reduces the strength of radiation-induced kidney damage, as well as the effect of electron irradiation on the life cycle of tubular cells, epitheliocytes of nephron tubules, while increasing the effectiveness of antioxidant defense.

Keywords: radiation nephropathy; electron irradiation; kidneys, ascorbic acid; cell cycle; proliferation; apoptosis.

To cite this article:

Demyashkin GA, Uruskhanova ZE, Koryakin SN, Parshenkov MA, Dubovaya TK, Rodionova GM, Shchekin VI, Ivchenko YuV, Ionova OV. Renal proliferation and apoptosis against ascorbic acid administration in a model of acute radiation nephropathy. *Morphology*. 2024;162(1):00–00. DOI: <https://doi.org/10.17816/morph.629410>

Received: 25.03.2024 Accepted: 25.06.2024 Published online: 28.07.2024

Accepted for publication

ОБОСНОВАНИЕ

Радиационное облучение — один из методов диагностики и лечения злокачественных новообразований, связанный с определённым риском развития ранних или поздних постлучевых осложнений [1–3].

Известно, что почки являются радиочувствительным органом [4]. Так, воздействие ионизирующего излучения приводит к морфологическим изменениям сосудистых клубочков, в первую очередь апоптозу эндотелия вплоть до его отслойки от базальной мембраны. Именно поэтому радиационную нефропатию относят к тромботической микроангиопатии. Кроме того, наблюдается повреждение подоцитов, эпителия канальцев нефрона. Постлучевое поражение почек проявляется протеинурией, гипертонией и другими симптомами [5, 6].

Изучение нарушения стадий клеточного цикла эндотелиоцитов сосудистых клубочков нефроцитов играет ключевую роль при анализе их регенеративного потенциала [7]. После облучения отмечается снижение пролиферативной активности клеток и их способности к восстановлению, так как происходят двуцепочечные разрывы ДНК [8], а также образуются активные формы кислорода — пероксид водорода, супероксид и гидроксильный радикал, которые негативно влияют на генетический аппарат, клеточную мембрану, белки и др. [9, 10]. При клеточной гибели (апоптоз, некроз и др.) высвобождается множество молекул, ассоциированных с повреждением (damage-associated molecular pattern, DAMP), таких как белки теплового шока (в частности, high-mobility group protein B1, HMGB1), инициируя иммунные реакции, усиливающие противоопухолевые механизмы [11]. Регуляция жизненного цикла эндотелиоцитов сосудистого клубочка и нефроцитов тесно связана с активацией белка пролиферации Ki-67 и каскада апоптотических ферментов — каспаз и др. [12].

Исследования, посвящённые структурно-функциональным изменениям интактной почки, как при её непосредственном облучении электронами, так и при электронотерапии соседних органов, практически отсутствуют. Однако, несмотря на определённый прогресс в понимании биологии клеточного цикла, вопрос развития радиационной нефропатии требует более глубокого изучения, а также создания экспериментальных моделей для оценки пролиферации и апоптоза эндотелия сосудистых клубочков и нефроцитов. Особенно это актуально после воздействия электронами — перспективного способа современной радиобиологии и лучевой терапии злокачественных новообразований почек (интраоперационное облучение) и органов брюшинного пространства.

В специализированной литературе отсутствуют данные о роли ключевых регуляторов пролиферации и апоптоза в структурах почки на фоне введения аскорбиновой кислоты, обладающей протекторным действием.

Цель исследования — оценка пролиферации и апоптоза эндотелия сосудистых клубочков и нефроцитов при предлучевом введении аскорбиновой кислоты в модели лучевой нефропатии.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

ДИЗАЙН ИССЛЕДОВАНИЯ

Проведено экспериментальное одноцентровое одномоментное выборочное контролируемое нерандомизированное исследование.

В эксперименте использовали животных — самцов крыс Wistar ($n=90$; $220,3\pm 10,6$ г;

9–10 недель), которых содержали в виварии при контролируемой температуре (22°C) и световом периоде (12L:12D) со свободным доступом к воде и стандартному корму. Крысы были разделены на шесть экспериментальных групп в зависимости от способа терапии злокачественного новообразования.

Животных всех групп выводили из эксперимента с помощью высоких доз анестетика (кетамин в дозе 50 мг/кг внутримышечно и ксилазин в дозе 5 мг/кг интраперитонеально) на 7-е сутки. После плановой эвтаназии, согласно дизайну, у крыс были изъяты почки.

ОПИСАНИЕ ВМЕШАТЕЛЬСТВА

Перед облучением крыс опытных групп седатировали однократным введением кетамина (50 мг/кг, внутримышечно) и ксилазина (5 мг/кг, внутривенно).

Анестезированных животных размещали на столике для исследований по одному. Положение — на животе с разведёнными в стороны лапами, что обеспечивало доступ к изучаемой области. При этом было важно, чтобы лёгкие и сердце находились вне зоны облучения, в так называемой радиационной тени. Для максимальной точности облучения тубус прибора направляли строго перпендикулярно к исследуемому участку так, чтобы его конец находился на расстоянии не более 2 мм от предварительно выбритого кожного покрова.

С целью обеспечения неподвижности животных во время процедуры использовали специальные фиксирующие устройства. Дополнительно всю оставшуюся часть тела, включая костный мозг, надёжно экранировали для предотвращения нежелательного облучения.

МЕТОДЫ РЕГИСТРАЦИИ ИСХОДОВ

Облучение животных проведено на импульсном ускорителе электронов NOVAC-11 (S.I.T. Sordina IORT Technologies S.P.A., Италия) в отделе радиационной биофизики Медицинского радиологического научного центра имени А.Ф. Цыба (филиал ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр радиологии» Минздрава России). Установка генерирует пучок электронов с регулируемой энергией и коллимацией (от лат. *collineare* — целить, направлять).

В эксперименте выбраны следующие параметры: энергия 10 МэВ, частота 9 Гц с коллимацией диаметром 100 мм, что позволило обеспечить точечное и безопасное облучение целевой зоны почек крыс. Эта конфигурация облучения подтверждена дозиметрическими исследованиями, указывающими на глубину проникновения электронов до 50 мм, обеспечивая тем самым идеальные условия для достижения требуемой дозы в органе с минимальным риском для окружающих тканей.

Дозы и режим облучения (разовая очаговая доза, РОД 2 Гр и РОД 8 Гр; однократно) выбраны после предварительной апробации [13]. Доза аскорбиновой кислоты (50 мг/кг) получена в реальных условиях опытным путём, в котором апробированы несколько доз витамина С (30 мг/кг, 50 мг/кг, 100 мг/кг, 200 мг/кг). Основой послужила средняя эффективная доза для человека, после чего выполнен перерасчёт на килограмм массы тела. Получившееся значение перевели в эквивалентную дозу для лабораторных животных (крыс) при помощи коэффициентов, согласно руководству по проведению доклинических исследований лекарственных средств [14].

Гистологическое исследование. Фрагменты почек фиксировали в растворе забуференного формалина, после проводки (Leica Biosystems, Германия) заливали в парафиновые блоки, из которых готовили серийные срезы толщиной 3 мкм, депарафинировали, дегидратировали и окрашивали гематоксилином Майера и

эозином.

Учитывая, что радиационная нефропатия проявляется поражением клубочков (тромботическая микроангиопатия, коллапс), канальцев нефрона и интерстициального компонента, которые приводят к гломерулосклерозу и тубулоинтерстициальному фиброзу, методом световой микроскопии (в 10 случайных полях зрения при увеличении 200) оценивали вакуолизацию, дистрофию, атрофию клубочков и канальцев нефрона, а также воспаление и некроз.

Балльная система оценки изменений в почках при воздействии электронов выбрана на основе методики, представленной в литературе, с изменениями, согласно дизайну настоящего исследования [15]. Для проверки статистической значимости различий между группами применялся тест Краскела–Уоллиса ($p < 0,05$).

Для количественной оценки исследовано 40 случайно выбранных сосудистых клубочков (при увеличении 200) с помощью программы Software DP-SOFT. Долю повреждённых сосудистых клубочков, канальцев нефрона с признаками вакуолизации, дистрофии и атрофии подсчитывали в баллах (процент от площади поражения): 0 — отсутствуют; 1 — слабые (<25%); 2 — умеренные (25–50%); 3 — тяжелые (>50%).

Оценку очагового некроза сосудистого клубочка и некроза эпителия канальцев нефрона производили в баллах от 0 до 3, где 0 — изменения отсутствуют; 1 — 1/3 площади поражения; 2 — 2/3 площади поражения; 3 — более 2/3 площади поражения.

Количество иммунокомпетентных клеток определяли при компьютерной морфометрии в 10 полях зрения суммарной площадью 1,6 мм², затем количественную плотность на 1 мм² рассчитывали по формуле:

$$N \text{ в } 1 \text{ мм}^2 = \frac{\Sigma N \times 1\,000\,000 \text{ мкм}^2}{N \text{ полей зрения} \times S \text{ одного поля (мкм}^2\text{)},$$

где ΣN — суммарное количество воспалительных клеток, N — количество, S — площадь.

Полученные данные переводили в баллы, где 0 баллов — менее 5 клеток, 1 балл — от 5 до 10 клеток, 2 балла — от 11 до 20 клеток, 3 балла — от 21 до 30 клеток.

Иммуногистохимическое исследование. Для проведения анализа использовали парафиновые срезы толщиной 3 мкм, которые подвергали депарафинизации, а затем обрабатывали 0,3% раствором перекиси водорода в метаноле в течение 30 минут. После этого все препараты подвергали термической обработке в автоклаве в цитратном буфере в течение 20 минут при pH 6,0, после чего инкубировали с первичными антителами на протяжении 12 часов. Использовали моноклональные антитела к Ki-67 (ThermoFisher, Clone MM1), каспазе-3 (ThermoFisher, Clone 74T2); в качестве вторичных антител применяли универсальные антитела (HiDef Detection HRP Polymer system, Cell Marque, США). Ядра клеток докрашивали гематоксилином Майера. Подсчёт количества иммунопозитивных клеток (ядер коричневого цвета на Ki-67; ядер и цитоплазмы коричневого цвета на каспазу-3) проводили в 10 случайно отобранных полях зрения при увеличении 400 (в %).

Микроскопический анализ выполняли с помощью системы видеомикроскопии (микроскоп Leica DM2000, Германия; камера Leica ICC50 HD).

ЭТИЧЕСКАЯ ЭКСПЕРТИЗА

Все манипуляции осуществляли согласно международным рекомендациям по проведению медико-биологических исследований с использованием животных

(ЕЭС, Страсбург, 1985)¹, Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (ЕЭС, Страсбург, 1986)², руководствам по проведению медико-биологических исследований по уходу и использованию лабораторных животных (ILAR³, CLA⁴), правилам лабораторной практики, согласно Приказу Минздрава РФ № 199н⁵.

Исследование одобрено Комиссией по биоэтическому контролю за содержанием и использованием лабораторных животных в научных целях Национального медицинского исследовательского центра радиологии (протокол № 6 от 27.04.2023).

СТАТИСТИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ

Все статистические анализы проведены с использованием компьютерной программы SPSS 12.0 for Windows (IBM Analytics, США). Все данные представлены в формате среднего значения и стандартного отклонения ($M \pm SD$). Тест Колмогорова–Смирнова использовали для каждой выборки отдельно. В случае нормального распределения применяли t-тест Стьюдента. Для проверки статистической значимости различий между группами применяли тест Краскела–Уоллиса. Различия между выборками считались статистически значимыми при уровне значимости $p < 0,05$, установленном до начала анализа.

РЕЗУЛЬТАТЫ

ОБЪЕКТЫ (УЧАСТНИКИ) ИССЛЕДОВАНИЯ

Крысы разделены на шесть экспериментальных групп в зависимости от способа терапии: I — контрольная ($n=15$); II — опытная ($n=15$), в которой животных подвергали однократному локальному облучению электронами в РОД 2 Гр; III — опытная ($n=15$), в которой животных подвергали однократному локальному облучению электронами в РОД 8 Гр; IV — опытная ($n=15$), в которой животным перед однократным локальным облучением электронами в РОД 2 Гр вводили аскорбиновую кислоту (интраперитонеальная инъекция; доза 50 мг/кг); V — опытная ($n=15$), в которой животным перед однократным локальным облучением электронами в РОД 8 Гр вводили аскорбиновую кислоту (интраперитонеальная инъекция; доза 50 мг/кг); VI — опытная ($n=15$), в которой животным вводили аскорбиновую кислоту (интраперитонеальная инъекция; доза 50 мг/кг).

ОСНОВНЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

¹ Международные рекомендации (этический кодекс) по проведению медико-биологических исследований с использованием животных. Режим доступа: <https://lec.kpfu.ru/wp-content/uploads/2024/02/mezhdunarodnye-rekomendaczii-eticheskij-kodeks-po-provedeniyu-mediko-biologicheskikh-issledovaniy-s-ispolzovaniem-zhivotnyh-cioms.-geneva-1985.docx>.

² Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 18.03.1986). Режим доступа: <https://base.garant.ru/4090914/?ysclid=lywp9oy0mi895847748>.

³ Institute for Laboratory Animal Research. Руководство по содержанию и использованию лабораторных животных. Режим доступа: https://www.researchgate.net/publication/317339001_Guide_for_the_Care_and_Use_of_Laboratory_Animals_Eight_Edition_Translation_to_Russian.

⁴ Guide for the care and use of laboratory animals, National research council, National academy press, 2011. Режим доступа: <https://grants.nih.gov/grants/olaw/guide-for-the-care-and-use-of-laboratory-animals.pdf>

⁵ Приказ Министерства здравоохранения Российской Федерации от 01.04.2016 № 199н «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Режим доступа: <https://www.garant.ru/products/ipo/prime/doc/71366108/?ysclid=lywpc9he54430633856>.

Гистологическое исследование. В образцах почек контрольной группы наблюдали нормальную гистоархитектонику: в корковом веществе располагались почечные тельца, проксимальные и дистальные канальцы нефрона, в мозговом веществе — остальные отделы (рис. 1). Аналогичную гистологическую картину обнаружили в микропрепаратах группы VI при моноведении аскорбиновой кислоты (см. рис. 1). В группах II и III (РОД 2 Гр и РОД 8 Гр) отмечали следующие изменения: расширение капсулы Боумена, вакуолизацию, атрофию некоторых канальцев нефрона, периваскулярный и парагломерулярный отёк, дистрофические изменения, признаки слабого воспаления и фокального фиброза, особенно в группе РОД 8 Гр (см. рис. 1).

При предлучевом введении аскорбиновой кислоты в группах IV и V наблюдали снижение степени патоморфологических изменений (см. рис. 1).

Величина поражения клубочков (тромботическая микроангиопатия, коллапс), канальцев нефрона и интерстициального компонента представлена в табл. 1.

Иммуногистохимическое исследование. В контексте исследования механизмов регуляции клеточного цикла, ключевым фактором которого является синтез ДНК, выполнена оценка пролиферативной активности по выработке Ki-67 в виде специфического ядерного окрашивания в почечных тельцах (эндотелиоциты, подоциты, мезангиоциты), эпителиоцитах канальцев нефронов и собирательных трубочек (рис. 2).

В микропрепаратах почек групп II и III обнаружили выраженное уменьшение количества Ki-67-позитивных эпителиоцитов в проксимальных и дистальных отделах канальцев нефронов (см. рис. 2) и незначительное — в клетках почечного тельца, преимущественно в эндотелии, по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (рис. 3, a, b). В то же время доля Ki-67-позитивных нефроцитов в петле Генле и собирательных трубочках практически не отличалась от контрольных значений (см. рис. 3, c).

В группах предлучевого введения аскорбиновой кислоты наблюдали незначительное увеличение количества (в процентах) Ki-67-позитивных клеток изучаемых структур почки относительно групп монооблучения (РОД 2 Гр и РОД 8 Гр; $p < 0,05$) (см. рис. 2, 3, a, b). При этом при сравнении количества Ki-67-позитивных клеток в канальцах петли Генле и собирательных трубочках между группами предлучевого введения аскорбиновой кислоты и монооблучения статистически значимых различий не наблюдали ($p < 0,05$) (см. рис. 3, c).

Между группами моноведения аскорбиновой кислоты и контрольной не выявили статистических различий распределения Ki-67-позитивных клеток в почечных тельцах, канальцах нефрона и собирательных трубочках ($p < 0,05$) (см. рис. 2, 3).

При иммуногистохимической оценке терминальной стадии апоптоза выявили каспаза-3-позитивные клетки в клубочках и почечных тельцах (эндотелиоциты, подоциты, мезангиоциты), эпителиоцитах канальцев нефронов и собирательных трубочках (рис. 4), распределение которых варьировало в зависимости группы и локализации (см. рис. 4).

В микропрепаратах почек групп II и III обнаружили выраженное увеличение количества каспаза-3-позитивных эпителиоцитов в проксимальных и дистальных отделах канальцев нефронов (см. рис. 4), а также эндотелия сосудистых клубочков по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (см. рис. 3, a, b). Подоциты наружной капсулы Боумена были негативными. Доля каспаза-3-позитивных нефроцитов петли Генле и собирательных трубочек была повышена в основном в образцах группы III (РОД 8 Гр) (см. рис. 3, c).

В группах предлучевого введения аскорбиновой кислоты наблюдали статистическое снижение количества (в процентах) каспаза-3-позитивных клеток изучаемых структур почки относительно групп монооблучения (РОД 2 Гр и РОД 8 Гр) ($p < 0,05$) (рис. 4, 5, *a, b*). При этом при сравнении количества каспаза-3-позитивных клеток в канальцах петли Генле и собирательных трубочках между группами предлучевого введения аскорбиновой кислоты и монооблучения наблюдали статистически значимые различия при $p < 0,05$ (рис. 5, *c*).

В группе VI (монотерапия аскорбиновой кислотой) изменения в экспрессии каспазы-3 не были статистически значимы по сравнению с контрольной группой ($p < 0,05$) (см. рис. 4, 5, *a, b*).

Таким образом, по результатам иммуногистохимического анализа оценки пролиферации и апоптоза (распределение Ki-67- и каспаза-3-позитивных клеток в клубочках, эпителиоцитах, проксимальных и дистальных канальцах нефронов после воздействия электронами) выявлена активация терминальной стадии клеточной гибели, особенно в РОД 8 Гр. Это явление демонстрирует прямую зависимость от дозы облучения. Напротив, предлучевое введение аскорбиновой кислоты статистически значимо снижает интенсивность апоптоза.

ОБСУЖДЕНИЕ

Проведённое исследование посвящено иммуногистохимической оценке пролиферации и апоптоза клеток сосудистых клубочков, эпителиоцитов проксимальных и дистальных канальцев нефронов на фоне введения аскорбиновой кислоты в модели радиационной нефропатии, индуцированной воздействием электронами в РОД 2 Гр и РОД 8 Гр.

Воздействие электронами индуцирует высвобождение реактивных форм кислорода, чрезмерное накопление которых приводит к ингибированию оксидативного стресса, влияющего на клеточную мембрану, органеллы клетки и др. [15, 16]. Такое повреждение способно изменять внутриклеточные сигнальные каскады, активируя гены, связанные с сигналами апоптоза. Реактивные формы кислорода могут влиять и на ДНК, вызывая мутации генетического материала, снижая пролиферацию и увеличивая апоптоз клеток [17].

Благодаря последним исследованиям известно, что радиационно-индуцированное клеточное старение играет значимую роль в прогрессировании заболеваний различных органов [6]. В частности, радиационное воздействие на эндотелий капилляров микроциркуляторного русла головного мозга демонстрирует связь между однократным облучением и развитием нейродегенеративных изменений нервной ткани [18].

Патогенетические механизмы радиационно-индуцированного нефрита обусловлены вовлечением всех компонентов почки, включая гломерулярный, тубулярный и стромально-сосудистый [19].

Белок Ki-67 является маркером клеточной пролиферации [20]. Следует отметить, что он не вырабатывается в фазе G₀, которая характерна для большинства атипичных клеток, находящихся в гипоксических условиях. Интересно, что именно эта фаза клеточного цикла ассоциируется с повышенной устойчивостью к радиационному воздействию. Следовательно, низкая экспрессия Ki-67 в неопластических клетках может свидетельствовать не только об их гипоксическом состоянии, но и о потенциальной радиорезистентности, что важно при оценке эффективности лучевой терапии [21, 22]. В нашем исследовании воздействие электронами в РОД 2 Гр и РОД

8 Гр вызывало незначительное снижение уровня белка Ki-67 (в процентах) по сравнению с группой контроля, что может быть связано с фактором времени, однако эта гипотеза является предметом дальнейших исследований.

Апоптотический каскад запускается в ответ на цитотоксический стресс и играет ключевую роль в патогенезе почечной дисфункции. Он регулируется как внешними (через «рецепторы смерти»), так и внутренними (митохондриальными) механизмами [23]. Каспаза-3 — маркер терминальной стадии апоптоза.

Обнаруженное в настоящем исследовании увеличение количества каспаза-3-позитивных клеток в структурах почки на фоне снижения белка Ki-67 после однократного облучения электронами указывает на смещение баланса между клеточной пролиферацией и апоптозом в сторону последнего. Согласно литературным данным, уменьшение клеточного пула происходит за счёт модуляции GSK3-, ERK- и Ras/Raf/MEK-1 сигнальных путей и деактивации Bcl-2 и индукции белка p53 [24, 25]. Некоторые авторы также наблюдали нарушения пролиферативно-апоптотического соотношения, используя, однако, при этом другие виды облучения. В сравнительном аспекте апоптоз менее выражен после воздействия корпускулярного бета-излучения на структуры почки.

Механизмы радиопротекторного действия аскорбиновой кислоты вызывают интерес, поскольку она способна уменьшать негативное воздействие излучения на ткани. Так, исследования *in vivo* на фибросаркомах мышей показали, что аскорбиновая кислота при введении в дозе 4,5 мг/г⁻¹ массы тела усиливает радиотерапевтический эффект, уменьшая рост опухоли (TCD50). Известно, что аскорбиновая кислота проявляет свои протективные свойства по отношению к окружающей интактной ткани. Например, повышаются значения ED50 (эффективная доза) при острых кожных реакциях и LD50 (полулетальная доза) при поражении костного мозга [26].

Наиболее эффективно радиопротекторные свойства аскорбиновая кислота оказывает на ткани при низкой дозе облучения [27]. Кроме того, было показано, что аскорбиновая кислота модулирует систему антиоксидантной защиты в коже мышей, подвергшихся воздействию фракционированного гамма-излучения. Предлучевое введение аскорбиновой кислоты приводило к значительному увеличению активности супероксиддисмутазы, глутатионпероксидазы и содержания глутатиона, а также подавлению перекисного окисления липидов [28].

Введение высоких доз аскорбиновой кислоты опосредованно обладает противоопухолевым действием, а именно подавляет васкулогенез, необходимый для роста опухоли [29].

В ряде других исследований показано, что аскорбиновая кислота подавляет маркеры оксидативного стресса, а также экспрессию клеточных сигнальных путей, моделируя апоптотический каскад, способствует восстановлению повреждённой ДНК, уменьшая тем самым радиационно-индуцированное повреждение [30–32]. Предлучевое введение аскорбиновой кислоты привело к снижению степени выраженности патоморфологических изменений почечных структур по сравнению с образцами после воздействия электронами РОД 2 Гр и РОД 8 Гр.

Отсутствие аналогичных исследований, направленных на поиск протективных свойств аскорбиновой кислоты после облучения и электронов в частности, не позволяет провести сравнительный анализ. Однако известно, что натуральные антиоксиданты обладают протективными свойствами. Например, предлучевое использование экстракта водорослей *Amphora* при гамма-облучении почки приводило к снижению воспалительных реакций, а также улучшению функционального состояния органа [33].

Таким образом, полученные результаты раскрывают молекулярные механизмы регуляции пролиферации и апоптоза клеток гломерулярного, тубулярного и стромально-сосудистого компонента почек в модели радиационной нефропатии, вызванной воздействием электронами РОД 2 Гр и РОД 8 Гр. Предлучевое введение аскорбиновой кислоты, согласно полученным морфологическим и иммуногистохимическим данным, не исключает их протективных свойств. Полученные результаты исследования подчёркивают важность понимания специфических эффектов аскорбиновой кислоты для оптимизации её использования в качестве радиопротектора в клинических и доклинических исследованиях.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Локальное облучение электронами в РОД 2 Гр и РОД 8 Гр приводит к увеличению каспаза-3-позитивных клеток сосудистых клубочков и эпителия в проксимальных и дистальных канальцах нефронов, что свидетельствует об активации терминальной фазы апоптоза. Предлучевое введение аскорбиновой кислоты снижает степень выраженности радиационно-индуцированного повреждения структур почек, а также воздействие электронов на пролиферацию и апоптоз клеток сосудистых клубочков, эпителиоцитов канальцев нефронов, усиливая эффективность антиоксидантной защиты.

ДОПОЛНИТЕЛЬНАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Источник финансирования. Авторы заявляют об отсутствии внешнего финансирования при проведении исследования.

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. Все авторы подтверждают соответствие своего авторства международным критериям ICMJE (все авторы внесли существенный вклад в разработку концепции, проведение исследования и подготовку статьи, прочли и одобрили финальную версию перед публикацией). Наибольший вклад распределён следующим образом: Г.А. Демяшкин — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, внесение окончательных правок; Ж.Э. Урусханова — обзор литературы, подготовка и написание текста, внесение окончательных правок; С.Н. Корякин — концепция и дизайн исследования, сбор и обработка материалов, написание текста; М.А. Паршенков, Г.М. Родионова — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание и редактирование текста; Т.К. Дубовая — сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, обзор литературы, написание и редактирование текста; В.И. Щекин, Ю.В. Ивченко, О.В. Ионова — обзор литературы, сбор и анализ литературных источников, сбор и обработка материалов, анализ полученных данных, написание текста.

ADDITIONAL INFORMATION

Funding source. This study was not supported by any external sources of funding.

Competing interests. The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contribution. All authors made a substantial contribution to the conception of the work, acquisition, analysis, interpretation of data for the work, drafting and revising the work, final approval of the version to be published and agree to be accountable for all aspects of the work. G.A. Demyashkin — concept and design of the study, collection and

processing of materials, analysis of the data obtained, making final edits; Z.E. Urusphanova — literature review, preparation and writing of the text, making final edits; S.N. Koryakin — concept and design of the study, collection and processing of materials, writing the text; M.A. Parshenkov, G.M. Rodionova — literature review, collection and analysis of literary sources, collection and processing of materials, analysis of the data obtained, writing and editing the text; T.K. Dubovaya — collection and processing of materials, analysis of the data obtained, literature review, writing and editing the text; V.I. Shchekin, Yu.V. Ivchenko, O.V. Ionova — literature review, collection and analysis of literary sources, collection and processing of materials, analysis of the data obtained, writing the text.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Pinto R., Ardoino L., Villani P., Marino C. In vivo studies on radiofrequency (100 kHz-300 GHz) electromagnetic field exposure and cancer: A systematic review // *Int J Environ Res Public Health*. 2023. Vol. 20, N 3. P. 2071. EDN: UWBDFH doi: 10.3390/ijerph20032071
2. Wild C.P., Espina C., Bauld L., et al. Cancer prevention Europe // *Mol Oncol*. 2019. Vol. 13, N 3. P. 528–534. doi: 10.1002/1878-0261.12455
3. Wei J., Wang B., Wang H., et al. Radiation-induced normal tissue damage: Oxidative stress and epigenetic mechanisms // *Oxid Med Cell Longev*. 2019. Vol. 2019. P. 3010342. EDN: CJOKXL doi: 10.1155/2019/3010342
4. Le V.H., Kha Q.H., Minh T.N., et al. Development and validation of CT-based radiomics signature for overall survival prediction in multi-organ cancer // *J Digit Imaging*. 2023. Vol. 36, N 3. P. 911–922. EDN: CUARJO doi: 10.1007/s10278-023-00778-0
5. Dawson L., Kavanagh B., Paulino A., et al. Radiation-associated kidney injury // *Int J Radiation Oncol Biol Phys*. 2010. Vol. 76, N 3. P. 108–115. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.02.089
6. Aratani S., Tagawa M., Nagasaka S., et al. Radiation-induced premature cellular senescence involved in glomerular diseases in rats // *Sci Rep*. 2018. Vol. 8, N 1. P. 16812. doi: 10.1038/s41598-018-34893-8
7. Scholz M., Kraft-Weyrather W., Ritter S., Kraft G. Cell cycle delays induced by heavy ion irradiation of synchronous mammalian cells // *Int J Radiation Biol*. 1994. Vol. 66, N 1. P. 59–75. EDN: XYSSVT doi: 10.1080/09553009414550951
8. Mavragani I.V., Nikitaki Z., Kalospyros S.A., Georgakilas A.G. Ionizing radiation and complex DNA damage: From prediction to detection challenges and biological significance // *Cancers (Basel)*. 2019. Vol. 11, N 11. P. 1789. EDN: GIFYCB doi: 10.3390/cancers11111789
9. Carante M.P., Ballarini F. Radiation damage in biomolecules and cells // *Int J Mol Sci*. 2020. Vol. 21, N 21. P. 8188. EDN: CXOGB doi: 10.3390/ijms21218188
10. Sia J., Szmyd R., Hau E., Gee H.E. Molecular mechanisms of radiation-induced cancer cell death: A primer // *Front Cell Developmental Biol*. 2020. N 8. P. 41. EDN: IHCCVI doi: 10.3389/fcell.2020.00041
11. Ashrafizadeh M., Farhood B., Elejo Musa A., et al. Damage-associated molecular patterns in tumor radiotherapy // *Int Immunopharmacol*. 2020. N 86. P. 106761. EDN: UNXGZM doi: 10.1016/j.intimp.2020.106761
12. Nano M., Mondo J.A., Harwood J., et al. Cell survival following direct executioner-caspase activation // *Proc Natl Acad Sci USA*. 2023. Vol. 120, N 4. P. e2216531120. EDN: QFKEAX doi: 10.1073/pnas.2216531120

13. Демяшкин Г.А., Корякин С.Н., Степанова Ю.Ю. и др. Морфологическая характеристика почек крыс после прицельного облучения электронами в дозах 2, 4 и 6 Гр // *Ветеринарный врач*. 2021. № 5. P. 9–16. EDN: YIAPCK doi: 10.33632/1998-698X.2021-5-9-16
14. Бунятян Н.Д., Васильев А.Н., Верстакова О.Л., и др. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / отв. ред. А.Н. Миронов. Москва: Гриф и К, 2012. 944 с.
15. Yumusak N., Sadic M., Yucel G., et al. Apoptosis and cell proliferation in short-term and long-term effects of radioiodine-131-induced kidney damage: An experimental and immunohistochemical study // *Nucl Med Commun*. 2018. Vol. 39, N 2. P. 131–139. EDN: YFTKAP doi: 10.1097/MNM.0000000000000788
16. Колина И.Б., Бобкова И.Н. Поражение почек при злокачественных образованиях // *Клиницист*. 2014. № 2. С. 7–16. EDN: TIINVP
17. Zhao W., Zhuang P., Chen Y., et al. "Double-edged sword" effect of reactive oxygen species (ROS) in tumor development and carcinogenesis // *Physiol Res*. 2023. Vol. 72, N 3. P. 301–307. EDN: XLCYPX doi: 10.33549/physiolres.935007
18. McRobb L.S., McKay M.J., Gamble J.R., et al. Ionizing radiation reduces ADAM10 expression in brain microvascular endothelial cells undergoing stress-induced senescence // *Aging (Albany NY)*. 2017. Vol. 9, N 4. P. 1248–1268. EDN: YEVGSZ doi: 10.18632/aging.101225
19. Fujino S., Sun J., Nakayama S., et al. A combination of iohexol treatment and ionizing radiation exposure enhances kidney injury in contrast-induced nephropathy by increasing DNA damage // *Radiat Res*. 2022. Vol. 197, N 4. P. 384–395. EDN: YNXLII doi: 10.1667/RADE-21-00178.1
20. Finkelman B.S., Zhang H., Hicks D.G., Turner B.M. The evolution of Ki-67 and breast carcinoma: Past observations, present directions, and future considerations // *Cancers (Basel)*. 2023. Vol. 15, N 3. P. 808. EDN: RKJHIR doi: 10.3390/cancers15030808
21. Chrabańska M., Rynkiewicz M., Kiczmer P., Drozdowska B. Immunohistochemical expression of CD44, MMP-2, MMP-9, and Ki-67 as the prognostic markers in non-clear cell renal cell carcinomas: A prospective cohort study // *J Clin Med*. 2022. Vol. 11, N 17. P. 5196. EDN: YDLFYK doi: 10.3390/jcm11175196
22. Li Z., Li F., Pan C., et al. Tumor cell proliferation (Ki-67) expression and its prognostic significance in histological subtypes of lung adenocarcinoma // *Lung Cancer*. 2021. N 154. P. 69–75. EDN: CIWVOU doi: 10.1016/j.lungcan.2021.02.009
23. Kim D.H., Park J.S., Choi H.I., et al. The critical role of FXR is associated with the regulation of autophagy and apoptosis in the progression of AKI to CKD // *Cell Death Disease*. 2021. Vol. 12, N 4. P. 320. EDN: MEBYNA doi: 10.1038/s41419-021-03620-z
24. Li G., Wang S., Fan Z. Oxidative stress in intestinal ischemia-reperfusion // *Front Med (Lausanne)*. 2022. N 8. P. 750731. EDN: TCFEIW doi: 10.3389/fmed.2021.750731
25. Wang Q., Zhou Y., Wang X., Evers B.M. Glycogen synthase kinase-3 is a negative regulator of extracellular signal-regulated kinase // *Oncogene*. 2006. Vol. 25, N 1. P. 43–50. doi: 10.1038/sj.onc.1209004
26. Okunieff P., Suit H.D. Toxicity, radiation sensitivity modification, and combined drug effects of ascorbic acid with misonidazole in vivo on FSaII murine fibrosarcomas // *J Natl Cancer Inst*. 1987. Vol. 79, N 2. P. 377–381. doi: 10.1093/JNCI/79.2.377
27. González E., Cruces M.P., Pimentel E., Sánchez P. Evidence that the radioprotector effect of ascorbic acid depends on the radiation dose rate // *Environ Toxicol Pharmacol*. 2018. Vol. 62. P. 210–214. doi: 10.1016/j.etap.2018.07.015

28. Jagetia G.C., Rajanikant G.K., Rao S.K., Baliga M.S. Alteration in the glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation by ascorbic acid in the skin of mice exposed to fractionated gamma radiation // *Clin Chim Acta*. 2003. Vol. 332, N 1-2. P. 111–121. doi: 10.1016/S0009-8981(03)00132-3
29. Mikirova N., Ichim T.E., Riordan N.H. Anti-angiogenic effect of high doses of ascorbic acid // *J Transl Med*. 2008. Vol. 6. P. 50. doi: 10.1186/1479-5876-6-50
30. Morel C., Carlson S.M., White F.M., Davis R.J. Mcl-1 integrates the opposing actions of signaling pathways that mediate survival and apoptosis // *Mol Cell Biol*. 2009. Vol. 29, N 14. P. 3845–3852. doi: 10.1128/MCB.00279-09
31. Allum A.J., Mussallem J.T., Froning C.E., et al. Ascorbic acid 2-glucoside pretreatment protects cells from ionizing radiation, UVC, and short wavelength of UVB // *Genes (Basel)*. 2020. Vol. 11, N 3. P. 238. doi: 10.3390/genes11030238
32. Petruk G., del Giudice R., Rigano M.M., Monti D.M. Antioxidants from plants protect against skin photoaging // *Oxidat Med Cell Longev*. 2018. Vol. 2018. P. 1454936. EDN: VJFAYU doi: 10.1155/2018/1454936
33. El-Sonbaty S.M., Moawed F.S., Elbakry M.M. Amphora algae with low-level ionizing radiation exposure ameliorate D-galactosamine-induced inflammatory impairment in rat kidney // *Environ Toxicol*. 2021. Vol. 36, N 4. P. 451–459. EDN: RANHHY doi: 10.1002/tox.23050

REFERENCES

1. Pinto R, Ardoino L, Villani P, Marino C. In vivo studies on radiofrequency (100 kHz–300 GHz) electromagnetic field exposure and cancer: A systematic review. *Int J Environ Res Public Health*. 2023;20(3):2071. EDN: UWBDHF doi: 10.3390/ijerph20032071
2. Wild CP, Espina C, Bauld L, et al. Cancer prevention Europe. *Mol Oncol*. 2019;13(3):528–534. doi: 10.1002/1878-0261.12455
3. Wei J, Wang B, Wang H, et al. Radiation-induced normal tissue damage: Oxidative stress and epigenetic mechanisms. *Oxid Med Cell Longev*. 2019;2019:3010342. EDN: CJOKXL doi: 10.1155/2019/3010342
4. Le VH, Kha QH, Minh TN, et al. Development and validation of CT-based radiomics signature for overall survival prediction in multi-organ cancer. *J Digit Imaging*. 2023;36(3):911–922. EDN: CUARJO doi: 10.1007/s10278-023-00778-0
5. Dawson L, Kavanagh B, Paulino A, et al. Radiation-associated kidney injury. *Int J Radiation Oncol Biol Physics*. 2010;76(3):108–115. doi: 10.1016/j.ijrobp.2009.02.089
6. Aratani S, Tagawa M, Nagasaka S, et al. Radiation-induced premature cellular senescence involved in glomerular diseases in rats. *Sci Rep*. 2018;8(1):16812. doi: 10.1038/s41598-018-34893-8
7. Scholz M, Kraft-Weyrather W, Ritter S, Kraft G. Cell cycle delays induced by heavy ion irradiation of synchronous mammalian cells. *Int J Radiation Biol*. 1994;66(1):59–75. EDN: XYSSVT doi: 10.1080/09553009414550951
8. Mavragani IV, Nikitaki Z, Kalospyros SA, Georgakilas AG. Ionizing radiation and complex DNA damage: From prediction to detection challenges and biological significance. *Cancers (Basel)*. 2019;11(11):1789. EDN: GIFYCB doi: 10.3390/cancers11111789
9. Carante MP, Ballarini F. Radiation damage in biomolecules and cells. *Int J Mol Sci*. 2020;21(21):8188. EDN: CXOGB doi: 10.3390/ijms21218188

10. Sia J, Szmyd R, Hau E, Gee HE. Molecular mechanisms of radiation-induced cancer cell death: A primer. *Front Cell Developmental Biol.* 2020;(8):41. EDN: IHCCVI doi: 10.3389/fcell.2020.00041
11. Ashrafizadeh M, Farhood B, Elejo Musa A, et al. Damage-associated molecular patterns in tumor radiotherapy. *Int Immunopharmacol.* 2020;(86):106761. EDN: UNXGZM doi: 10.1016/j.intimp.2020.106761
12. Nano M, Mondo JA, Harwood J, et al. Cell survival following direct executioner-caspase activation. *Proc Natl Acad Sci USA.* 2023;120(4):e2216531120. EDN: QFKEAX doi: 10.1073/pnas.2216531120
13. Demyashkin GA, Koryakin SN, Stepanova YY, et al. Morphological characteristics of kidneys in rats after targeted irradiation with electrons in a dose of 2, 4 and 6 Gy. *Veterinary vrach.* 2021;(5)9–16. EDN: YIAPCK doi: 10.33632/1998-698X.2021-5-9-16
14. Bunyatyan ND, Vasiliev AN, Verstakova OL, et al. *Manual on conducting preclinical studies of medicines.* Part I. Ed. by A.N. Mironov. Moscow: Grif i K; 2012. 944 p. (In Russ).
15. Yumusak N, Sadic M, Yucel G, et al. Apoptosis and cell proliferation in short-term and long-term effects of radioiodine-131-induced kidney damage: An experimental and immunohistochemical study. *Nucl Med Commun.* 2018;39(2):131–139. EDN: YFTKAP doi: 10.1097/MNM.0000000000000788
16. Kolina IB, Bobkova IN. Renal damage with malignant neoplasms. *Clinician.* 2014;(2):7–16. EDN: TIINVP
17. Zhao W, Zhuang P, Chen Y, et al. "Double-edged sword" effect of reactive oxygen species (ROS) in tumor development and carcinogenesis. *Physiol Res.* 2023;72(3):301–307. EDN: XLCYPX doi: 10.33549/physiolres.935007
18. McRobb LS, McKay MJ, Gamble JR, et al. Ionizing radiation reduces ADAM10 expression in brain microvascular endothelial cells undergoing stress-induced senescence. *Aging (Albany NY).* 2017;9(4):1248–1268. EDN: YEVGSZ doi: 10.18632/aging.101225
19. Fujino S, Sun J, Nakayama S, et al. A combination of iohexol treatment and ionizing radiation exposure enhances kidney injury in contrast-induced nephropathy by increasing DNA damage. *Radiat Res.* 2022;197(4):384–395. EDN: YNXLII doi: 10.1667/RADE-21-00178.1
20. Finkelman BS, Zhang H, Hicks DG, Turner BM. The evolution of Ki-67 and breast carcinoma: Past observations, present directions, and future considerations. *Cancers (Basel).* 2023;15(3):808. EDN: RKJHIR doi: 10.3390/cancers15030808
21. Chrabańska M, Rynkiewicz M, Kiczmer P, Drozdowska B. Immunohistochemical expression of CD44, MMP-2, MMP-9, and Ki-67 as the prognostic markers in non-clear cell renal cell carcinomas: A prospective cohort study. *J Clin Med.* 2022;11(17):5196. EDN: YDLFYK doi: 10.3390/jcm11175196
22. Li Z, Li F, Pan C, et al. Tumor cell proliferation (Ki-67) expression and its prognostic significance in histological subtypes of lung adenocarcinoma. *Lung Cancer.* 2021;(154):69–75. EDN: CIWVOU doi: 10.1016/j.lungcan.2021.02.009
23. Kim DH, Park JS, Choi HI, et al. The critical role of FXR is associated with the regulation of autophagy and apoptosis in the progression of AKI to CKD. *Cell Death Disease.* 2021;12(4):320. EDN: MEBYNA doi: 10.1038/s41419-021-03620-z
24. Li G, Wang S, Fan Z. Oxidative stress in intestinal ischemia-reperfusion. *Front Med (Lausanne).* 2022;(8):750731. EDN: TCFEIW doi: 10.3389/fmed.2021.750731
25. Wang Q, Zhou Y, Wang X, Evers BM. Glycogen synthase kinase-3 is a negative regulator of extracellular signal-regulated kinase. *Oncogene.* 2006;25(1):43–50. doi: 10.1038/sj.onc.1209004

26. Okunieff P, Suit HD. Toxicity, radiation sensitivity modification, and combined drug effects of ascorbic acid with misonidazole in vivo on FSaII murine fibrosarcomas. *J Natl Cancer Inst.* 1987;79(2):377–381. doi: 10.1093/JNCI/79.2.377
27. González E, Cruces MP, Pimentel E, Sánchez P. Evidence that the radioprotector effect of ascorbic acid depends on the radiation dose rate. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2018;62:210–214. doi: 10.1016/j.etap.2018.07.015
28. Jagetia GC, Rajanikant GK, Rao SK, Baliga MS. Alteration in the glutathione, glutathione peroxidase, superoxide dismutase and lipid peroxidation by ascorbic acid in the skin of mice exposed to fractionated gamma radiation. *Clin Chim Acta.* 2003;332(1-2):111–121. doi: 10.1016/S0009-8981(03)00132-3
29. Mikirova N, Ichim TE, Riordan NH. Anti-angiogenic effect of high doses of ascorbic acid. *J Transl Med.* 2008;6:50. doi: 10.1186/1479-5876-6-50
30. Morel C, Carlson SM, White FM, Davis RJ. Mcl-1 integrates the opposing actions of signaling pathways that mediate survival and apoptosis. *Mol Cell Biol.* 2009;29(14):3845–3852. doi: 10.1128/MCB.00279-09
31. Allum AJ, Mussallem JT, Froning CE, et al. Ascorbic acid 2-glucoside pretreatment protects cells from ionizing radiation, UVC, and short wavelength of UVB. *Genes (Basel).* 2020;11(3):238. doi: 10.3390/genes11030238
32. Petruk G, del Giudice R, Rigano MM, Monti DM. Antioxidants from plants protect against skin photoaging. *Oxidat Med Cell Longev.* 2018;2018:1454936. EDN: VJFAYU doi: 10.1155/2018/1454936
33. El-Sonbaty SM, Moawed FS, Elbakry MM. Amphora algae with low-level ionizing radiation exposure ameliorate D-galactosamine-induced inflammatory impairment in rat kidney. *Environ Toxicol.* 2021;36(4):451–459. EDN: RANHHY doi: 10.1002/tox.23050

ОБ АВТОРАХ	AUTHORS' INFO
<p>* Демьяшкин Григорий Александрович, д-р мед. наук; адрес: Россия, 119992, Москва, ул. Трубецкая, д. 8, стр. 2; ORCID: 0000-0001-8447-2600; eLibrary SPIN: 5157-0177; e-mail: dr.dga@mail.ru</p>	<p>* Grigory A. Demyashkin, MD, Dr. Sci. (Med.); address: 8-2 Trubetskaya street, 119992 Moscow, Russia; ORCID: 0000-0001-8447-2600; eLibrary SPIN: 5157-0177; e-mail: dr.dga@mail.ru</p>
<p>Урусханова Жанна Эйсевна; ORCID: 0009-0009-2291-3680; e-mail: jey.149@yandex.ru</p>	<p>Zhanna E. Uruskhanova; ORCID: 0009-0009-2291-3680; e-mail: jey.149@yandex.ru</p>
<p>Корякин Сергей Николаевич, канд. биол. наук; ORCID: 0000-0003-0128-4538; eLibrary SPIN: 8153-5789; e-mail: korsernic@mail.ru</p>	<p>Sergey N. Koryakin, Cand. Sci. (Biol.); ORCID: 0000-0003-0128-4538; eLibrary SPIN: 8153-5789; e-mail: korsernic@mail.ru</p>
<p>Паршенков Михаил Алексеевич; ORCID: 0009-0004-7170-8783; e-mail: misjakj@gmail.com</p>	<p>Mikhail A. Parshenkov; ORCID: 0009-0004-7170-8783; e-mail: misjakj@gmail.com</p>
<p>Дубовая Татьяна Клеониковна, д-р мед. наук, профессор; ORCID: 0000-0001-7936-180X; eLibrary SPIN: 4254-6082;</p>	<p>Tatiana K. Dubovaya, MD, Dr. Sci. (Med.), Professor; ORCID: 0000-0001-7936-180X; eLibrary SPIN: 4254-6082;</p>

e-mail: gusvbr@mail.ru	e-mail: gusvbr@mail.ru
Родионова Галина Михайловна , канд. фарм. наук, доцент; ORCID: 0000-0002-0536-9590; eLibrary SPIN: 5657-9984; e-mail: rodionovagalinam@mail.ru	Galina M. Rodionova , Cand. Sci. (Pharm.), Assistant Professor; ORCID: 0000-0002-0536-9590; eLibrary SPIN: 5657-9984; e-mail: rodionovagalinam@mail.ru
Щекин Владимир Иванович ; ORCID: 0000-0003-3763-7454; eLibrary SPIN: 3664-8044; e-mail: dr.shchekin@mail.ru	Vladimir I. Shchekin ; ORCID: 0000-0003-3763-7454; eLibrary SPIN: 3664-8044; e-mail: dr.shchekin@mail.ru
Ивченко Юлия Валерьевна ; ORCID: 0000-0003-1336-7277; e-mail: ivchenko_yu_v@student.sechenov.ru	Yuliya V. Ivchenko ; ORCID: 0000-0003-1336-7277; e-mail: ivchenko_yu_v@student.sechenov.ru
Ионова Ольга Владиславовна ; ORCID: 0009-0007-9137-6597; e-mail: olgaionova99@mail.ru	Olga V. Ionova ; ORCID: 0009-0007-9137-6597; e-mail: olgaionova99@mail.ru
* Автор, ответственный за переписку / Corresponding author	

Accepted for publication

Таблица 1. Оценка патоморфологических изменений в контрольной и опытных группах, в баллах

Table 1. Evaluation of pathomorphologic changes in control and experimental groups, in points

Группа Group	<i>n</i>	Воспаление* Inflammation*	Атрофия* Atrophy*	Вакуолизация* Vacuolization*	Дистрофия канальцев* Dystrophy of the tubules*	Некроз* Necrosis*
Контроль Control	15	0	0	1,0±0,5	0	0
Облучение (РОД) 2 Гр Radiation exposure 2 Gy	15	1,0±0,5 ^a	1,0±0,5 ^a	1,5±0,5 ^a	1,5±0,5 ^a	1,0±0,5 ^a
Облучение (РОД) 8 Гр Radiation exposure 8 Gy	15	1,5±0,5 ^a	2,5±0,5 ^a	2,5±0,5 ^a	2,5±0,5 ^a	2,5±0,5 ^a
Облучение (РОД) 2 Гр + аскорбиновая кислота Radiation exposure 2 Gy + ascorbic acid	15	1,0±0,5 ^b	1,0±0,5 ^b	1,0±0,5 ^b	1,0±0,5 ^b	1,0±0,5 ^b
Облучение (РОД) 8 Гр + аскорбиновая кислота Radiation exposure 8 Gy + ascorbic acid	15	1,0±0,5 ^b	1,0±0,5 ^b	1,5±0,5 ^b	1,5±0,5 ^b	1,5±0,5 ^b
Аскорбиновая кислота Ascorbic acid	15	1,0±0,5	0	0	0	0

Примечание. * Характеристика гистологических признаков почек экспериментальных животных контрольной и опытных групп; в баллах, M±SD. Статистически значимые различия по сравнению с контрольной группой обозначены в таблице как «Облучение» (a) и «Облучение + аскорбиновая кислота» (b); *p* < 0,05.

Note. * Characteristics of histological features of kidneys of experimental animals of control and experimental groups; in points, M±SD. Statistically significant differences compared to the control group are labeled in the table as "Irradiation" (a) and "Irradiation + ascorbic acid" (b); *p* < 0.05.

Accepted for publication

РИСУНКИ

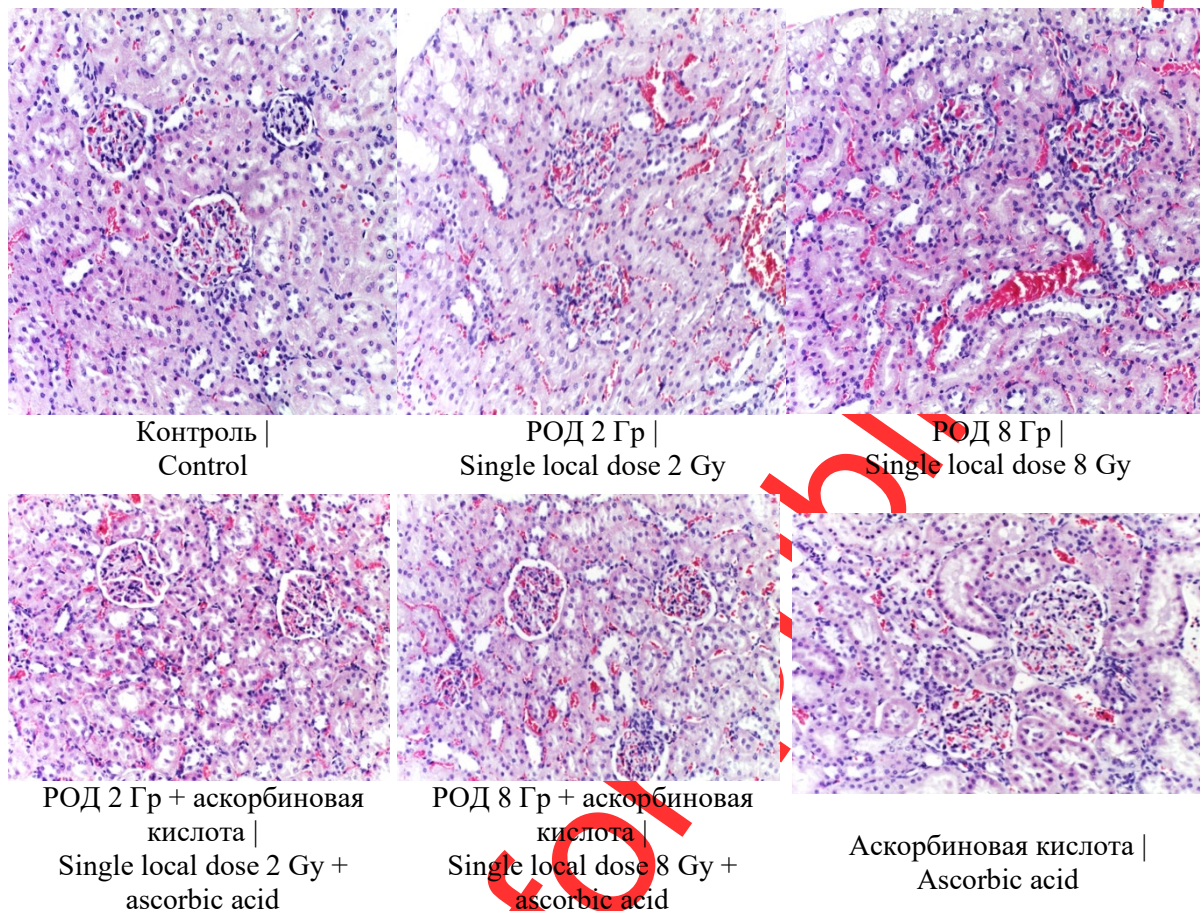


Рис. 1. Почки лабораторных крыс Wistar контрольной и опытных групп. Окрашивание гематоксилином и эозином, $\times 200$.

Fig. 1. Kidneys Wistar lab rats of control and experimental groups. Hematoxylin and eosin staining, $\times 200$.

Accepted

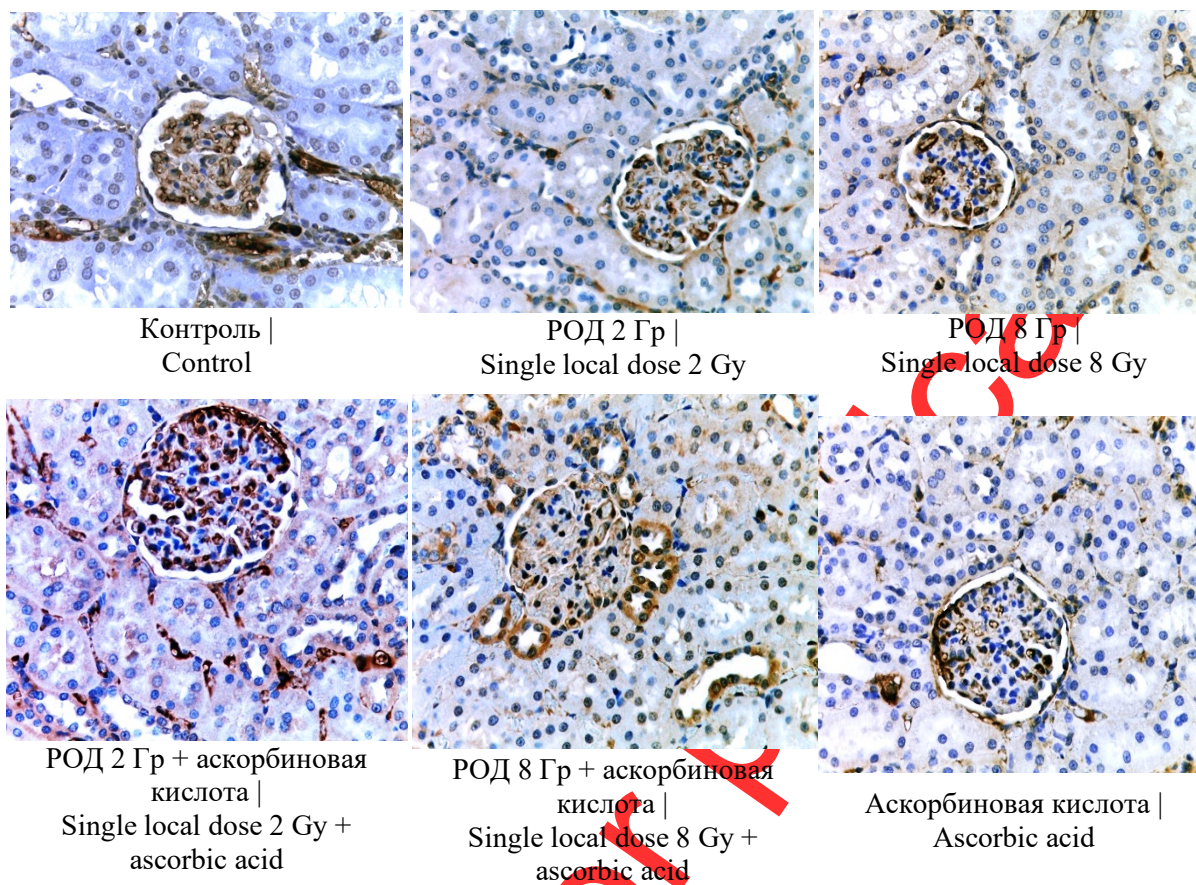
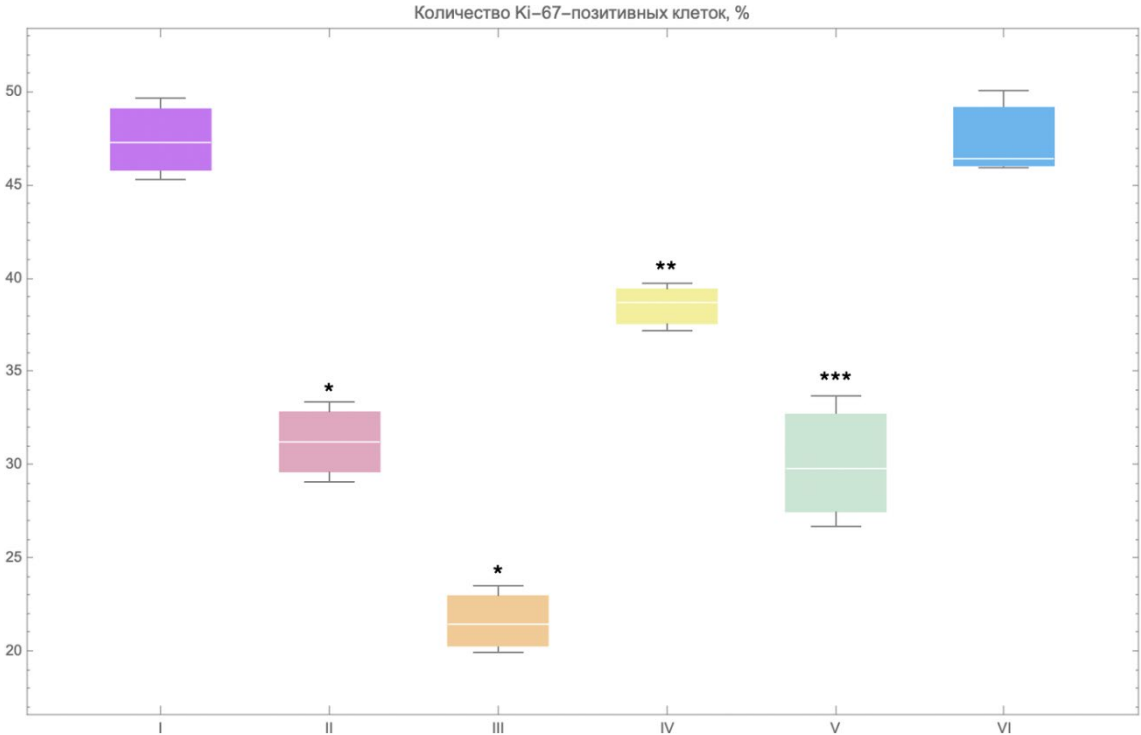
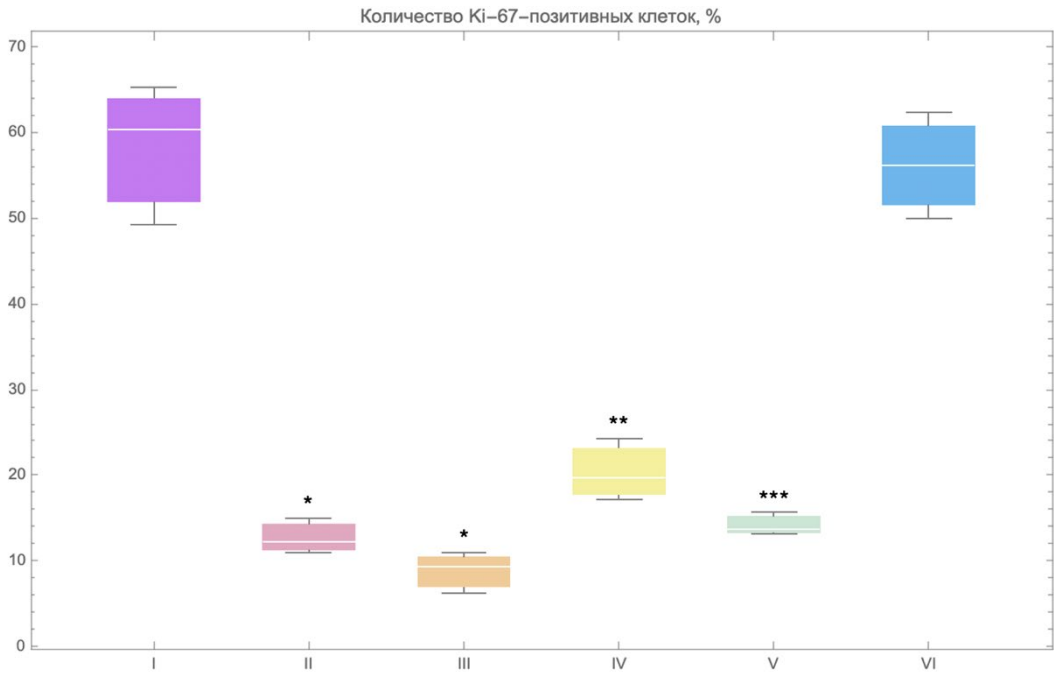


Рис. 2. Почки лабораторных крыс Wistar контрольной и опытных групп. Иммуногистохимическое исследование с антителами к Ki-67, докрасивание гематоксилином; $\times 400$.

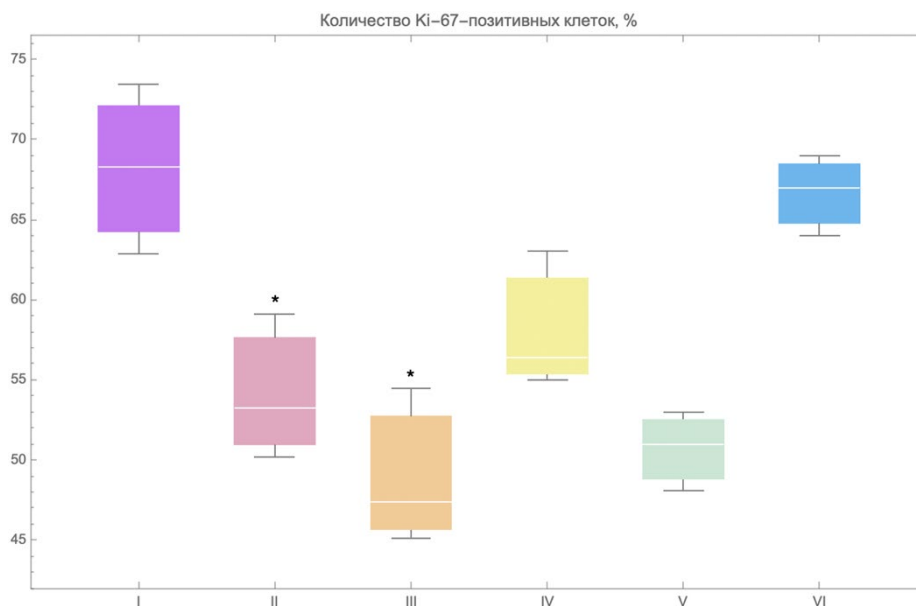
Fig. 2. Kidneys Wistar lab rats of control and experimental groups. Immunohistochemical study with antibodies to Ki-67, staining with haematoxylin; $\times 400$.



a



b



c

Рис. 3. Гистограмма. Почки лабораторных крыс Wistar контрольной и опытных групп. Группы пронумерованы согласно дизайну исследования. * Сравнение с контрольной группой ($p < 0,05$). ** Сравнение групп IV и II (РОД 2 Гр + аскорбиновая кислота и РОД 2 Гр; $p < 0,01$). *** Сравнение групп V и III (РОД 8 Гр + аскорбиновая кислота и РОД 8 Гр; $p < 0,01$). Доля Ki-67-позитивных клеток: *a* — в почечном тельце; *b* — в проксимальных и дистальных канальцах нефронов; *c* — в канальцах петли Генле и собирательных трубочках.

Fig. 3. Histogram. Kidneys Wistar lab rats of control and experimental groups. Groups are numbered according to the study design. * Comparison with control group ($p < 0.05$). ** Comparison of group IV with group II (Single local dose 2 Gy + ascorbic acid and Single local dose 2 Gy; $p < 0.01$). *** Comparison of group V with group III (Single local dose 8 Gy + ascorbic acid and Single local dose 8 Gy; $p < 0.01$). Proportion of Ki-67-positive cells: *a* — in the renal calf; *b* — in proximal and distal tubules of nephrons; *c* — in the tubules of the loop of Henle and collecting tubules.

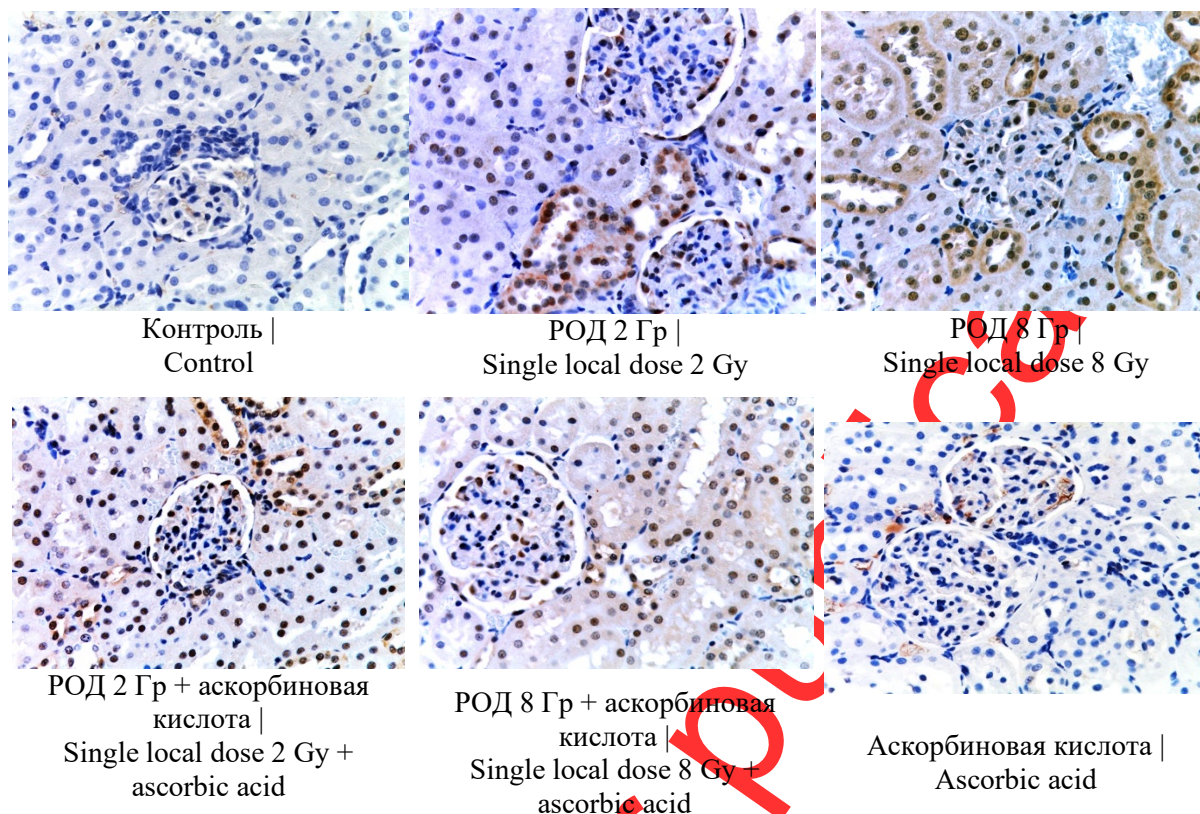
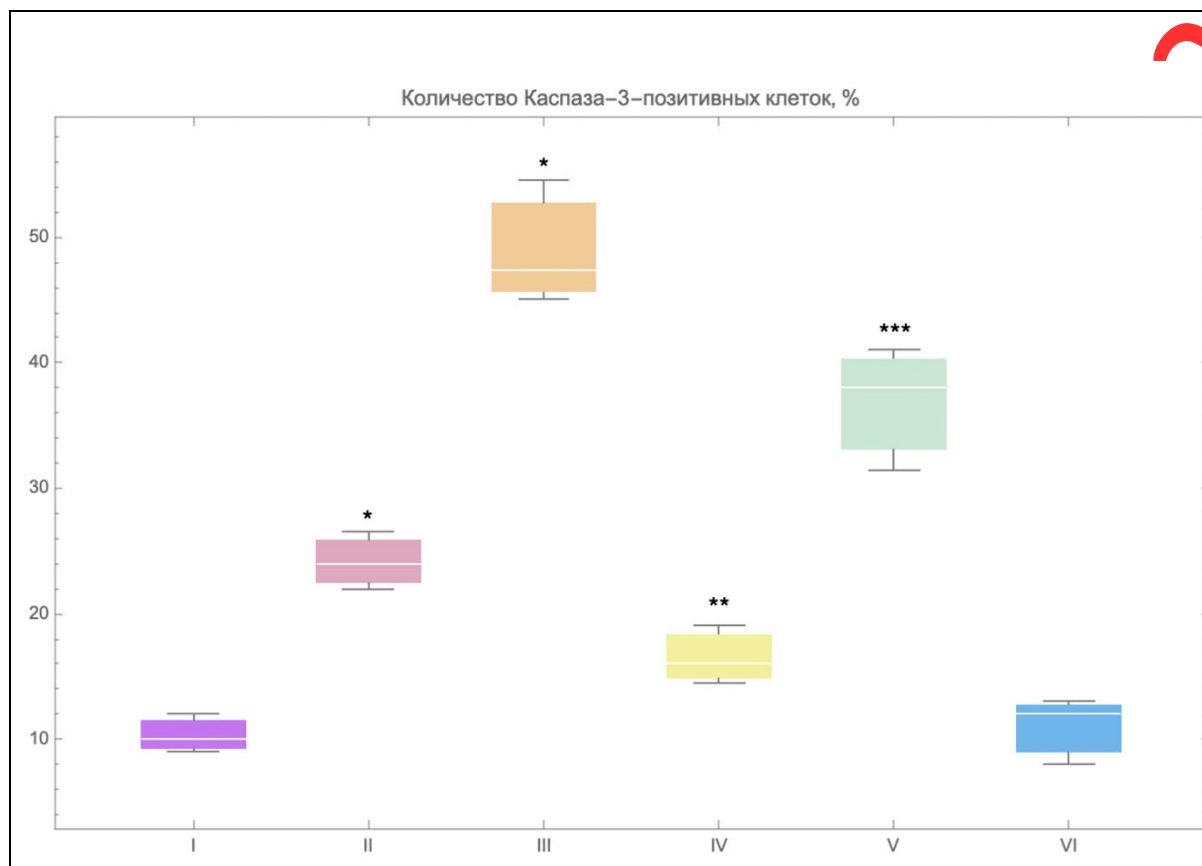


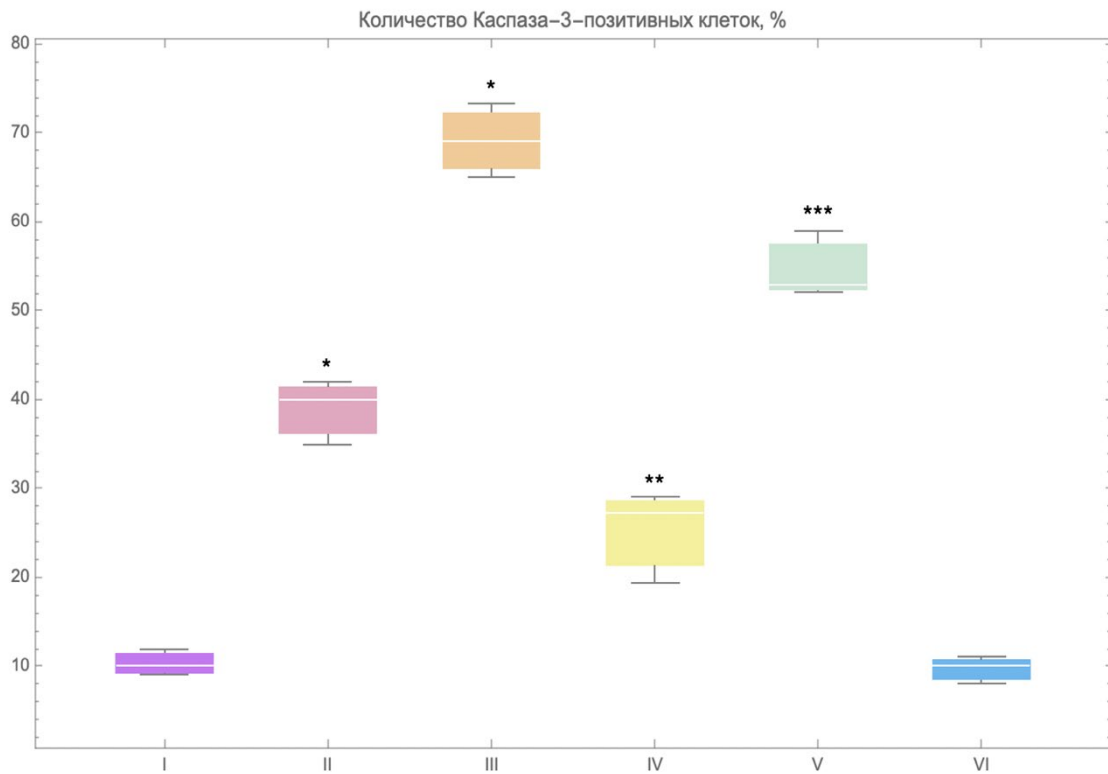
Рис. 4. Почки лабораторных крыс Wistar контрольной и опытных групп. Иммуногистохимическое исследование с антителами к каспазе-3, докрасивание гематоксилином; $\times 400$.

Fig. 4. Kidneys Wistar lab rats of control and experimental groups. Immunohistochemical study with antibodies to caspase-3, staining with haematoxylin; $\times 400$.

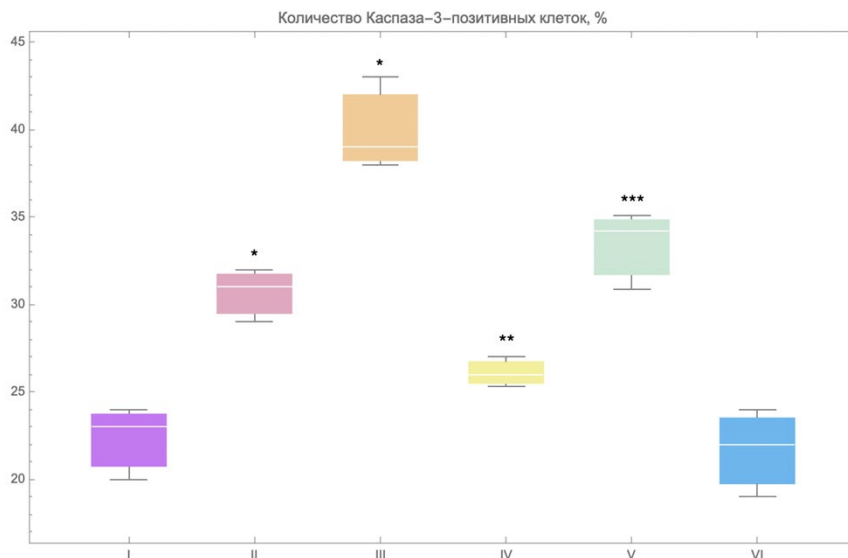


a

Accepted for



b



c

Рис. 5. Гистограмма. Почки лабораторных крыс Wistar контрольной и опытных групп. Группы пронумерованы согласно дизайну исследования. * Сравнение с контрольной группой ($p < 0,05$). ** Сравнение групп IV и II (РОД 2 Гр + аскорбиновая кислота и РОД 2 Гр; $p < 0,01$). *** Сравнение групп V и III (РОД 8 Гр + аскорбиновая кислота и РОД 8 Гр;

$p < 0,01$). Доля каспаза-3-позитивных клеток: a — в почечном тельце; b — в проксимальных и дистальных канальцах нефронов; c — в канальцах петли Генле и собирательных трубочках ($p < 0,001$).

Fig. 5. Histogram. Kidneys Wistar lab rats of control and experimental groups. Groups are numbered according to the study design. * Comparison with control group ($p < 0.05$). ** Comparison of group IV with group II (Single local dose 2 Gy + ascorbic acid and Single local dose 2 Gy; $p < 0.01$). *** Comparison of group V with group III (Single local dose 8 Gy + ascorbic acid and Single local dose 8 Gy; $p < 0.01$). Proportion of caspase-3-positive cells: a — in the renal calf; b — in proximal and distal tubules of nephrons; c — in the tubules of the loop of Henle and collecting tubules ($p < 0.001$).

Accepted for publication