

UDK: 615.322:615.015.8:616.61

КОМПЛЕКСНОЕ ИЗУЧЕНИЕ НЕФРОЛИТИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА КОМПОЗИЦИИ "НЕФРОБИОЛИК"

С.С. Белокуров, А.И. Неймарк, А.С. Кальницкий, Б.А. Неймарк, И.П. Бобров, Н.А. Ноздрачев

Алтайский государственный медицинский университет, Барнаул, Россия

Аннотация

Уратный нефролитиаз – распространенная форма мочекаменной болезни, склонная к возникновению рецидивов, в связи с чем создание новых фармакологических средств для метафилактики указанной патологии является актуальной научной задачей. При этом повышенное внимание традиционно уделяется биогенным средствам, сочетающим в себе высокую эффективность с низкой частотой возникновения побочных эффектов. В ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России была разработана «Нефробиолик» с потенциальным антилитогенным действием, для подтверждения которого необходимо провести экспериментальную апробацию.

Ключевые слова: уратный нефролитиаз, композиции природного происхождения, крысы Вистар

Abstract

Urate nephrolithiasis is a common form of urolithiasis prone to recurrence. Therefore, the development of new pharmacological agents for the prevention of this pathology is a pressing scientific challenge. Traditionally, increased attention has been paid to biogenic agents that combine high efficacy with a low incidence of side effects. The Federal State Budgetary Educational Institution of Higher Education, Altai State Medical University, Ministry of Health of the Russian Federation, has developed "Nefrobiolik," a natural composition with a potential antilithogenic effect. Experimental testing is required to confirm this effect.

Keywords: urate nephrolithiasis, natural-origin compositions, Wistar rats

Abstrakt

Uratli nefrolitiaz - bu takrorlanishga moyil bo'lgan urolitiyozning keng tarqalgan shakli. Shu sababli, ushbu patologiyani oldini olish uchun yangi farmakologik vositalarni ishlab chiqish dolzarb ilmiy vazifadir. An'anaga ko'ra, yuqori samaradorlikni va nojo'ya ta'sirlarning kam uchraydigan holatlarini birlashtirgan biogen agentlarga ko'proq e'tibor qaratildi. Rossiya Federatsiyasi Sog'liqni saqlash vazirligi, Oltoy davlat tibbiyot universiteti Federal davlat byudjeti oliy ta'lim muassasasi potentsial antilithogen ta'sirga ega bo'lgan tabiiy kompozitsion "Nefrobiolik" ni ishlab chiqdi. Ushbu ta'sirni tasdiqlash uchun eksperimental sinov talab qilinadi.

Kalit so'zlar: urat nefrolitiaz, tabiiy kompozitsiyalar, Wistar kalamushlari

Введение. Уратный нефролитиаз – распространенная форма мочекаменной болезни, характеризующаяся накоплением мочекислых кристаллов в почках [1]. При этом среди наиболее значимых причин развития данной патологии выделяют дисметаболические состояния, приводящие к

накоплению литогенного вещества и созданию условий для его кристаллизации в почках [2].

Стоит отметить, что, несмотря на имеющиеся возможности консервативного лечения указанной формы мочекаменной болезни цитратными смесями [3], применение дан-

ного способа требует постоянного контроля за уровнем pH мочи вследствие существования вероятности кристаллизации иных камнеобразующих веществ, в частности, фосфатов, на поверхности уратных депозитов [4].

Учитывая вышесказанное, а также развитие значительного числа рецидивов нефролитиаза после удаления камней [5], актуальным направлением научных исследований представляется поиск новых фармакологически активных субстанций, эффективных для предотвращения роста мочекаменного камнеобразования в почках.

В качестве одного из активно используемых направлений для разработки новых антилитогенных средств можно выделить создание композиций природного происхождения, сочетающих в себе высокую фармакологическую активность, а также низкую частоту развития неблагоприятных реакций [5]. Так, в ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России была создана композиция «Нефробиолик» природного происхождения, потенциально обладающие антилитогенным действием. Для подтверждения наличия указанной фармакологической активности, а также для выявления композиции-лидера, необходимо провести апробацию исследуемых композиций на фоне экспериментального уратного нефролитиаза.

Таблица 1 – Состав композиции «Нефробиолик»

№	Компонент	Применение
1	Экстракт корня подсолнечника	Литолитическое, нефропротекторное
2	Экстракт листьев брусники	Диуретическое, противовоспалительное
3	Экстракт ортосифона тычиночного (почечный чай)	Диуретическое, литолитическое, противовоспалительное, бактериостатическое
4	Экстракт золототысячника	Противовоспалительное, противомикробное
5	Экстракт плодов филлантуса	Антиоксидантное, диуретическое, витаминное
6	Экстракт плодов брусники	Противовоспалительное, противомикробное, витаминное

Цель исследования. Апробация природной композиций «Нефробиолик» в условиях экспериментального уратного нефролитиаза.

Материалы и методы. Эксперимент был проведен на 50 самцах крыс сток Вистар. Животных получали из вивария ИЦиГ СО РАН (Новосибирск, РФ). Лабораторных крыс содержали в одноместных метаболических клетках при естественном освещении, а также свободном доступе к питьевой воде и питанию. Животных разделяли на 3 равные экспериментальные группы. Выделяли группу интактного контроля, группу контроля заболевания, а также 1 подопытную группу. Животных всех групп, за исключением интактного контроля, подвергали моделированию уратного нефролитиаза по традиционной методике, включающей внутрижелудочное введение мочевины и оксониевой кислоты (1000 мг/кг+500 мг/кг) в течение 3 недель [6]. Крысам подопытной группы ежедневно внутрижелудочно вводили композицию «Нефробиолик» соответственно в дозе 101 мг/кг с 11 по 21 день моделирования уратного нефролитиаза. Состав композиции представлен в таблице 1.

7	Экстракт плодов клюквы	Диуретическое, противовоспалительное
8	Экстракт пажитника сенного	Противовоспалительное
9	Экстракт хвои пихты сибирской	Противовоспалительное, противомикробное, витаминное
10	Экстракт листьев толокнянки	Противовоспалительное, противомикробное, витаминное
11	Экстракт корней солодки	Противовоспалительное, противомикробное,
12	Экстракт прополиса	Противовоспалительное, противомикробное,

На биохимическом анализаторе DIRUI CS-T240 осуществляли измерение концентрации мочевой кислоты и креатинина в моче с целью определения их почечной экскреции, а также активности лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и γ -глутамилтранспептидазы (ГГТП) с последующим расчетом их соотношения ($K_{ЛДГ/ГГТП}$) [7]. После окончания моделирования заболевания и введения исследуемых композиций животных подвергали эвтаназии с некропсией почек, которые направлялись на патоморфологическое исследование для определения микроскопической картины почечной ткани, а также числа и площади сформированных депозитов. Пробоподготовка осуществлялась аналогично таковой в проведенном ранее эксперименте [8].

Статистическую обработку данных осуществляли с использованием программы Statistica 12.0. Для представления данных биохимических исследований использовали медиану и квартили ($Me (Q_1; Q_3)$), морфологических – среднее и стандартную ошибку среднего ($M \pm m$). Статистическую значимость межгрупповых различий в выборках определяли непараметрическим критерием Манна-Уитни. Для определения статистической значимости

влияния лечения на развитие нефролитиаза использовали точный критерий Фишера. Различия считали имеющими статистическую значимость при $p < 0,05$ [9].

Результаты. По итогам проведенных биохимических исследований было выявлено, что активность ЛДГ в группах крыс, подвергнутых моделированию уратного нефролитиаза, имела отчетливую тенденцию к росту (Таблица 2). Так, в контроле заболевания и в подопытной группе к концу эксперимента величина исследуемого показателя была статистически значимо выше, чем в интактном контроле в 5,3 раза. В подопытной группе увеличение активности ЛДГ относительно здоровых крыс составило 4,7 и 4 раза соответственно (Таблица 2). На этом фоне наблюдали тенденцию к снижению активности ГГТП в моче крыс, наиболее выраженную в группе контроля заболевания (Таблица 2). Так, к завершению трёхнедельного моделирования исследуемой патологии у нелеченых крыс с уратным нефролитиазом активность указанного фермента была статистически значимо ниже, чем в интактном контроле в 2,6 раза, в то время как в подопытной группе статистически значимо не отличались от показателя здоровых крыс (Таблица 2).

	Активность лактатдегидрогеназы	Активность γ -глутамилтранспептидазы
--	--------------------------------	---

	(Ед / мг креатинина в сутки)		(Ед / мг креатинина в сутки)	
	Исходный уровень	21 день	Исходный уровень	21 день
Группа интактного контроля	0,07 (0,04;0,09)	0,03 (0,02;0,07)	0,47 (0,32;0,59)	0,39 (0,24;0,43)
Группа контроля заболевания	0,08 (0,04;0,11)	0,16 (0,14;0,36)*	0,44 (0,29;0,55)	0,15 (0,06;0,23)*
Подопытная группа-1	0,07 (0,05;0,14)	0,12 (0,09;0,15)*	0,53 (0,44;0,77)	0,42 (0,30;0,55)

Примечание: данные представлены медианой и квартилями (Me (Q1; Q3)).

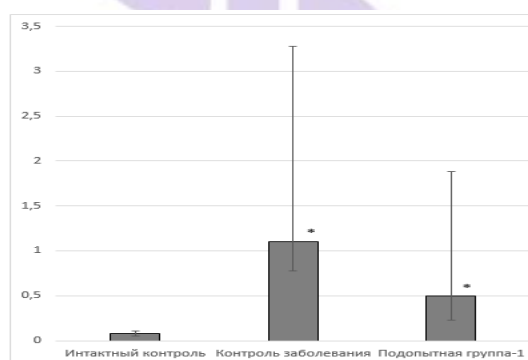
* – статистически значимо относительно интактного контроля

Значения КЛДГ/ГТТП на исходном уровне в группе интактного контроля, Рисунок – 1. Соотношение показателя КЛДГ/ГТТП в исследуемых группах.

К концу эксперимента в группе интактного контроля значение составило 0,08 (0,05;0,11) (Рисунок 1). На этом фоне в контроле заболевания показатель КЛДГ/ГТТП существенно вырос, составив 1,10 (0,78;3,28),

группе контроля заболевания и подопытных группах-1,2 и 3 составили 0,13 (0,10;0,18), 0,21 (0,14;0,26), 0,13 (0,11;0,18), 0,22 (0,13;0,34) и 0,14 (0,06;0,32) соответственно, статистически значимо не отличаясь между собой.

интактного контроля в 6,3 и 10,5 раза соответственно (Рисунок 1). При этом в подопытной группе-3 КЛДГ/ГТТП составил 0,26 (0,19;0,53), будучи статистически значимо выше, чем в интактном контроле в 3,3 раза,



будучи статистически значимо выше, чем у здоровых животных в 13,8 раза (Рисунок 1). В подопытных группах-1 и 2 значения КЛДГ/ГТТП составили 0,50 (0,23;1,88) и 0,84 (0,32;2,70) соответственно, статистически значимо увеличиваясь относительно интактно-контролем (в таблицах и рисунках не представлено).

но статистически значимо уступая показателю контроля заболевания в 4,2 раза (Рисунок 1). На этом фоне уровень диуреза, а также экскреции мочевой кислоты и креатинина не имели существенных различий с нелеченым

По результатам патоморфологических исследований, почки интактных животных имели нормальную гистологическую структуру без формирования депозитов. На этом фоне в контроле заболевания явления нефролитиаза отмечали в 6 из 9 (67%) случаев, в то время как в подопытной группе – всего в 1 из 10 (10%) случаев, что статистически значимо отличалось от контроля.

Стоит отметить, что в контроле заболевания преобладали крупные депозиты камней. Депозиты располагались в кистозно-расширенных почечных канальцах,

среди клеточного детрита и воспалительного инфильтрата, состоящего из лейкоцитов и макрофагов (Рисунок 2а). Эпителий таких кистозно-расширенных канальцев выглядел уплощенным, ядра клеток уменьшены в размерах. Явления воспаления и фиброза в строме были умеренно выраженными. В подопытной группе депозиты были небольшого размера, различной формы, синеватого цвета и располагались в корковом слое и почечном сосочке (Рисунок 2б). Явления воспаления и фиброза в строме были слабо выраженными.

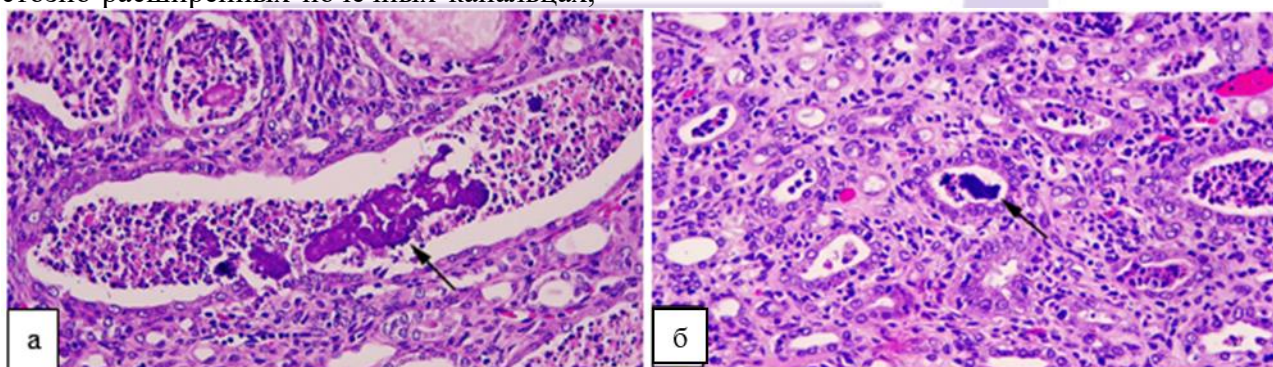


Рисунок – 2. Микрофотография почечных срезов (увеличение x400)

Количество депозитов в поле зрения при увеличении x 400 в контроле заболевания и подопытной группе составило $2,6 \pm 0,4$ и $1,2 \pm 0,2$ соответственно. Площадь депозитов у нелеченых крыс составила $1012,4 \pm 140,4$ мкм², в подопытной группе $546,1 \pm 162,5$ мкм² соответственно.

Обсуждение. Таким образом, в результате проведенного исследования показано, что при введении всех задействованных композиций природного происхождения наблюдается облегчение течения моделируемого заболевания, что проявилось уменьшением доли случаев развития нефролитиаза. Кроме того, существенно снижались проявления воспалительной реакции. Стоит отметить, что наибольший терапевтический эффект наблюдался при введении композиции природного происхождения «Нефробиолик». Дополнительным

Список литературы:

1. Sakhaee K. Epidemiology and clinical pathophysiology of uric acid kidney stones. *J. Nephrol.* 2014;27:241–245. DOI: 10.1007/s40620-013-0034-z

свидетельством более высокой фармакологической активности композиции природного происхождения может выступать статистически значимое снижение значения отношения активности ЛДГ к ГГТП в сравнении с контролем заболевания. Ранее нами было показано, что моделирование уратного нефролитиаза способствует увеличению указанного показателя [7,10].

Закключение. Выявлено, что все исследуемые композиции природного происхождения облегчают течение экспериментального уратного нефролитиаза. Наибольший терапевтический эффект выявлен при использовании природной композиции «Нефробиолик», что обосновывает перспективу ее использования в практической медицине.

- C
A
R
J
I
S
2. Spatola L, Ferraro P.M, Gambaro G., Badalamenti S, Dauriz M. Metabolic syndrome and uric acid nephrolithiasis: insulin resistance in focus. *Metabolism*. 2018;83:225-233. DOI: 10.1016/j.metabol.2018.02.008
 3. Каприн А.Д., Костин А.А., Иваненко К.В., Попов С.В. Современные исследования эффективности цитратной терапии уратного нефролитиаза в России. *Медицинский совет*. 2017;11:176-180. DOI: 10.21518/2079-701X-2017-11-176-180. EDN: YUATCT
 4. Яровой С.К., Максудов Р.Р. Медикаментозная терапия поражений почек, обусловленных нарушениями обмена пуринов. *Лечащий врач*. 2013;(8):6. EDN: TABXMT
 5. Чабан Н.Г., Путин А.Ю., Рапопорт Л.М., Буслаева Т.М. Фитопрепараты для лечения и профилактики уратного нефролитиаза. *Тонкие химические технологии*. 2017;12(6):39-45. EDN: YMANFD
 6. Перфильев В.Ю., Зверев Я.Ф., Жариков А.Ю. Условия развития уратного нефролитиаза и подходы к его моделированию. *Нефрология*. 2017;21(4):48-54. DOI: 10.24884/1561-6274-2017-21-4-48-54. EDN: ZBHASD
 7. Жариков А.Ю., Кальницкий А.С., Жарикова Г.В., Мазко О.Н., Макарова О.Г. Особенности соотношения активности лактатдегидрогеназы и γ -глутамилтрансферазы в моче как специфический диагностический признак уратного нефролитиаза (экспериментальное наблюдение). *Технологии живых систем*. 2021;18(4):44-49. DOI: 10.18127/j20700997-202104-04. EDN: BEONTW
 8. Кальницкий А.С., Жариков А.Ю., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П. Молекулярные особенности нефропатии, ассоциированной с нарушением уратного обмена. *Молекулярная медицина*. 2021;19(5):46-50. DOI: 10.29296/24999490-2021-05-07. EDN: FIAKCI
 9. Хафазиянова Р.Х., Бурыкин И.М., Алеева Г.Н. Математическая статистика в экспериментальной и клинической фармакологии. – Казань, 2006: 374. EDN: OUVWTC
 10. Кальницкий А.С., Жарикова Г.В., Жариков А.Ю., Мазко О.Н., Макарова О.Г., Бобров И.П. Новая экспериментальная модель смешанного уратно-оксалатного нефролитиаза. *Бюллетень медицинской науки*. 2022;(2):43-51. DOI: 10.31684/25418475_2022_2_43. EDN: IGOGEP