

УДК 616-003.821:616.61.001.6

ВЛИЯНИЕ МИЛДРОНАТА И АЦИЗОЛА НА ОСНОВНЫЕ ПРОЦЕССЫ МОЧЕОБРАЗОВАНИЯ И ЭКСКРЕЦИЮ ЭЛЕКТРОЛИТОВ У СИРИЙСКИХ ЗОЛОТИСТЫХ ХОМЯКОВ С МОДЕЛЬЮ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ АМИЛОИДНОЙ НЕФРОПАТИИ

Кисиева З.А., Брин В.Б., Козырев К.М.

ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия Минздрава России», РСО-Алания, г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40, e-mail: z. kisiewa @ mail.ru

Установлено, что одновременное интрагастральное введение ацизола и подкожное введение милдроната опытным животным с имеющейся амилоидной нефропатией, воспроизведенной однократным введением нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда, способствует восстановлению диуреза за счет повышения скорости клубочковой фильтрации, несмотря на увеличение процессов канальцевой реабсорбции воды относительно показателей группы животных с моделью амилоидоза. Экспериментальная терапия способствовала повышению натрийуреза, снижению калий- и кальцийуреза, а также резкому уменьшению протеинурии. Таким образом, результаты проведенного эксперимента позволяют сделать вывод, что одномоментное введение смеси ацизола и милдроната способствует нормализации процессов мочеобразования и морфологических характеристик нефрона в виде снижения количества амилоида в клубочках и в базальных мембранах канальцев.

Ключевые слова: амилоидоз, ацизол, милдронат, функции почек, протеинурия.

INFLUENCE OF MILDRONATA AND ACIZOLA ON BASIC PROCESSES OF UROPOIESIS AND EXCRETION OF ELECTROLYTES IN SYRIAN GOLDEN HAMSTERS WITH EXPERIMENTAL MODEL OF AMYLOID NEPHROPATHY

Kisieva Z.A., Brin V.B., Kozyrev K.M.

SEE HPE NOSMA of RF Ministry of Social Development, Russia (362019, Vladikavkaz, Pushkinskaya st., 40), e-mail: z. kisiewa @ mail.ru

It was determined that simultaneous intragastral injection of acizol and subcutaneous injection of mildronate to experimental animals with existing amyloid nephropathy, caused by a single dose introduction of a native sheep plasma with a complete adjuvant of Freund, contribute to the restoration of diuresis caused by the increase of glomerular filtration rate, despite the increase of a tubular water reabsorption processes concerning the findings of animal with amyloidosis model. An experimental therapy contributed to the increase of natriuresis, decrease of potassium and potassium uresis and to the sharp decrease of proteinuria. Thus, the results of the experiment carried allow us to make a conclusion that simultaneus injection of an acizol and mildronate mixture contribute to normal processes of a urine formation and morphological characteristics of a nephron during decrease of amyloid amount in glomerula and in basal membranes tubules.

Key words: amyloidosis, acizol, mildronat, renal functions, proteinuria.

Введение. Заболеваемость амилоидозом составляет 8 случаев на миллион населения в год (Comenzo R.L., 2007). Чаще всего поражаются сердце и почки, однако у многих пациентов выявляются нарушения функций двух и более органов, так как в большинстве своем амилоидоз носит системный характер поражения органов мишеней, и без лечения большинство пациентов погибают в течение года.

Известны несколько способов лечения этой патологии, таких как метод аутологичной трансплантации, применяемый в гематологии, использование которого в свою очередь ограничено плохим соматическим статусом большинства пациентов, и даже при соблюдении правил отбора больных для проведения вышепредложенного метода, смертность достигает

20% (Sanchorawala et.al., 2004). Использование таких препаратов, как талидомид, леналидомид и бортезомиб, в лечении амилоидоза не привело к значительному улучшению результатов терапии (Dispenzieri et. al., 2003, 2007; Sanchorawala et. al., 2007; Wechalekar et al., 2008). Это объясняется в первую очередь их высокой токсичностью, а снижение дозы вело к снижению эффективности. Известны также исследования с применением мелаксена [2; 3], минеральной воды и янтарной кислоты [1; 4].

Таким образом, несмотря на многообразие применяемых препаратов и методов, используемых для лечения амилоидоза, разработка наиболее эффективных и экономически выгодных методов лечения все еще остается одной из актуальнейших задач в медицине.

Цель исследования

Изучение влияния одномоментного введения смеси милдроната и ацизола на морфо-функциональные показатели почек у сирийских золотистых хомяков с моделью экспериментальной амилоидной нефропатии.

Материалы и методы исследования

Работа проводилась на золотистых сирийских хомяках массой 100-120 г. Для опыта были выбраны половозрелые самцы с экспериментальным амилоидозом.

Сравнительный анализ исследованных показателей был проведен в 2 группах животных:

- животные с экспериментальной амилоидной нефропатией,
- животные с моделью экспериментальной амилоидной нефропатии, подвергнутые введению ацизола внутривентрикулярно в дозе 30 мг/кг вместе с введением милдроната подкожно из расчета 10%-5 мг/кг массы тела животного.

Животные в течение эксперимента находились на стандартном пищевом рационе и имели свободный доступ к воде и пище в течение суток. Световой режим - естественный.

Модель амилоидоза воспроизводилась однократным введением нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда из расчета 0,2 мл в 5 точек инъекций. Ацизол внутривентрикулярно и милдронат подкожно вводили через 2 месяца создания амилоидоза. По истечении 30 и 60 дней экспериментальной терапии исследовались функциональные и морфологические характеристики почек. Для изучения функций почек в условиях

спонтанного диуреза животные на 30 и 60-й день эксперимента помещались в обменные клетки, где в течение 6 часов у них собиралась моча. Определялись:

- объем диуреза;
- скорость клубочковой фильтрации по клиренсу эндогенного креатинина, и рассчитывалась канальцевая реабсорбция воды;
- содержание калия и натрия, методом пламенной фотометрии, с помощью пламенного фотометра ФПА-2;
- концентрация кальция на спектрометре СФ-26, с использованием набора «Кальций» ООО «Агат-Мед» (г. Москва, Россия).
- концентрация общего белка определялась спектрофотометрически (СФ-26), с помощью реактива Фоллина.

Показатели электролито- и водовыделительной функций почек.

Таблица 1.

	Стат. показатель	Диурез, мл/час/100	СКФ, м/час/100	Реаб-Сорбция, %	Ек	ENa	ЕСа	Фз Са, мкмоль/час/100	Фз Na, мкмоль/час/100	Фз К, мкмоль/час/100	R Са	R Na	Белок, мг/мл
Фон	M ± m	0,15	21,02	99,30	6,37	11,18	0,49	32,10	2705,32	91,19	99,49	99,58	0,88
		±0,005	±0,739	±0,024	±0,194	±0,585	±0,053	±1,251	±99,12	±4,24	±0,140	±0,018	±0,02
Амилоидная	M ± m	0,11	11,66	99,05	7,33	5,85	0,73	14,15	1548,73	65,62	94,84	99,62	3,20
		± 0,004	± 1,400	± 0,030	± 0,324	± 0,417	± 0,078	± 0,841	± 62,89	± 4,02	± 0,477	± 0,030	± 0,07
	p	*)	*)	*)	*)	*)	*)	*)	*)	*)	*)		*)
30 дней лечения милдронат и ацизолом	M ± m	0,14	24,28	99,42	9,74	8,43	0,83	39,83	3142,60	122,55	97,93	99,73	2,62
		± 0,006	± 1,323	± 0,011	± 0,550	± 0,639	±0,094	± 2,119	±173,211	± 7,404	±0,230	± 0,230	± 0,107
	p		*) ; **)	*) ; **)	*) ; **)	*) ; **)	*) ; **)		*) ; **)	*) ; **)	*) ; **)		*) ; **)
60 дней лечения милдронат и ацизолом	M ± m	0,18	33,27	99,47	7,01	15,51	0,48	70,30	4147,53	123,55	99,30	99,62	1,61
		± 0,007	± 1,701	± 0,012	±0,471	± 0,773	±0,058	± 4,146	±197,404	± 3,320	±0,091	± 0,011	± 0,071
	p	*) ; **)	*) ; **)	*) ; **)		*) ; **)		*) ; **)	*) ; **)	*) ; **)			*) ; **)

*) $p \leq 0,05$ достоверное увеличение относительно фона;

**) $p \leq 0,05$ достоверное увеличение относительно амилоидных животных.

Концентрация электролитов в крови.

Таблица 2.

	Стат. показатель	Концентрация Са в плазме крови	Концентрация Na в плазме крови	Концентрация К в плазме крови
Фон	$M \pm m$	$2,29 \pm 0,019$	$135,45 \pm 0,450$	$4,55 \pm 0,121$
Амилоидная группа	$M \pm m$	$1,87 \pm 0,080$	$139,76 \pm 1,109$	$5,88 \pm 0,161$
	p	*)	*)	*)
30 дней лечения	$M \pm m$	$2,55 \pm 0,105$	$136,22 \pm 1,516$	$5,32 \pm 0,159$
	p	*) ; **)		*) ; **)
60 дней лечения	$M \pm m$	$3,26 \pm 0,116$	$131,51 \pm 1,587$	$5,95 \pm 0,124$
	p	*) ; **)		*) ; **)

По истечении времени эксперимента (60 дней) животных забивали с использованием тиопентала натрия с целью исследования гистологического строения тканей. Для морфологических исследований образцы тканей почек фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, после чего подвергали заливке в парафин с последующим приготовлением срезов толщиной 7-8 микрон. Срезы окрашивались гематоксилином, эозином, конго красным. Изучение срезов проводилось в проходящем свете при помощи микроскопа Микмед-1 под увеличением 80x200x800 (рис. 1, 2).

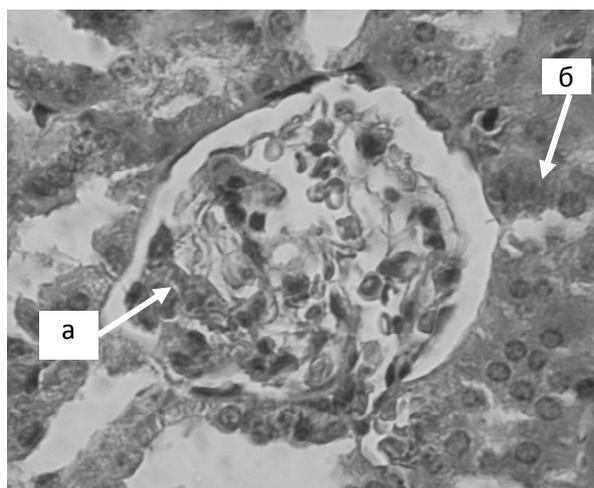


Рис. 1. Морфологические изменения в почках, через 60 дней после однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда. Окраска конго красным, увеличение 80x200x400. Конгофилия сосудистых клубочков (а) и базальных мембран канальцев (б).

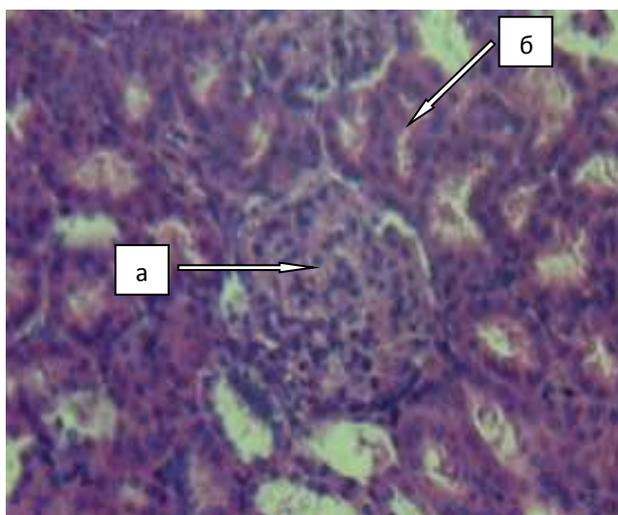


Рис. 2. Влияние смеси милдронат и ацизола на морфологические изменения при амилоидозе почек на фоне однократного введения почек равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы с полным адьювантом Фрейнда. Окраска конго красным, увеличение 80x200x400. Снижение количества конгофильного белка в сосудистых клубочках (а) и базальных мембранах канальцев (б).

Результаты и их обсуждение. Анализ результатов исследования у золотистых сирийских хомячков с экспериментальным амилоидозом почек, моделированным однократным введением равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда, с последующим внутрижелудочным введением ацизола и подкожным введением милдроната, показал достоверное корригирующее действие препаратов на показатели процессов мочеобразования, водо- и электровыделительную функцию почек. Так, у животных с моделью экспериментального амилоидоза относительно интактных животных отмечались:

снижение объема диуреза, обусловленное уменьшением скорости клубочковой фильтрации, несмотря на снижение величины канальцевой реабсорбции; выраженная протеинурия; а также достоверное повышение калий- и кальцийуреза, что было обусловлено снижением реабсорбции этих катионов, несмотря на уменьшение их фильтрационного заряда. Отмечено значительное снижение экскреции натрия, и нарастание протеинурии, более чем в 2 раза. Как указано ранее, вышеперечисленные показатели свидетельствуют о развитии нефропатического типа экспериментального амилоидоза у животных. В качестве корригирующих средств нами были выбраны милдронат 10%-5мг/кг массы тела животного, вводимый подкожно, и ацизол 30 мг/кг массы животного, вводимый интрагастрально.

При этом на 30-й день введения вышеуказанных препаратов имело место увеличение объема диуреза относительно показателя амилоидных животных, обусловленное ускорением клубочковой фильтрации с одновременным повышением величины канальцевой реабсорбции, повышением калий- и кальцийуреза, значительным нарастанием экскреции натрия, а также наблюдалось значительное снижение потери белка. В конце второго месяца, наблюдалось более выраженное восстановление объема диуреза, обусловленное повышением скорости клубочковой фильтрации более чем в 2,5 раза, несмотря на нарастание величины канальцевой реабсорбции. Снижение потерь белка было почти в 2 раза относительно показателя амилоидных животных. Имело место также достоверное повышение натрийуреза, снижение калий- и кальцийуреза, что было обусловлено снижением реабсорбции этих катионов, несмотря на уменьшение фильтрационного заряда калия, и увеличением фильтрационного заряда натрия и кальция. Перечисленные показатели приближались к показателям интактных животных. Таким образом, полученные данные свидетельствуют об эффективном корригирующем влиянии смеси милдроната и ацизола на показатели основных процессов мочеобразования и экскрецию электролитов у животных с имеющейся моделью амилоидной нефропатии.

При гистологическом исследовании почек животных группы № 2 была выявлена активная регенерация капилляров и эндотелия клубочков почек. Количество амилоида в клубочках и в базальных мембранах канальцев было существенно меньше.

В миокарде под влиянием милдроната и ацизола выявлены положительные гистоструктурные характеристики в виде уменьшения отложения амилоида в кардиомиоцитах, стенках кровеносных и лимфатических сосудов микроциркуляторного

русла. Выявлено снижение дисциркуляторных процессов в виде уменьшения гиперемии, плазматического пропитывания, отека пространств межклеточного вещества.

В печени - уменьшение конгофилии стенок центральных вен печеночных долек, уменьшение очагов паренхиматозной и жировой дистрофии гепатоцитов. Частичное восстановление органоспецифической цитоархитектоники в форме пролиферации гепатоцитов с крупными гиперхроматическими ядрами. Имеются участки активного формирования характерных печеночных балок с регенерацией внутридольковых печеночных протоков.

Таким образом, результаты проведенного эксперимента позволяют сделать вывод, что введение 10%-ного милдроната в дозе 5 мг/кг массы тела животного внутривенно и ацизола из расчета 30 мг/кг подкожно, при амилоидозе, сформировавшемся спустя 2 месяца от момента однократного введения равнодолевой смеси нативной овечьей плазмы и полного адьюванта Фрейнда из расчета 0,2 мл в 5 точек инъекций, является эффективным способом коррекции гистоструктурных и функциональных показателей почек.

Список литературы

1. Брин В.Б., Габуева А.А., Козырев К.М. Влияние янтарной кислоты и сульфидной минеральной воды «Редант-4» отдельно и в их сочетании на функционально-структурное состояние почек при моделировании генерализованного амилоидоза нефропатического типа. // Кубанский научный медицинский вестник. - 2010. - № 7 (121). – С. 33-37.
2. Брин В.Б., Козырев К.М., Пухова И.У. Функционально-морфологическая характеристика экспериментальной модели амилоидной нефропатии // Вестник новых медицинских технологий. – 2008. – Т. XV, № 3. - С. 34-35.
3. Габуева А.А., Брин В.Б., Козырев К.М. Влияние сульфидной минеральной воды «Редант-4Р» на функцион. состояние почек при нефропатическом типе генерализованного амилоидоза // Владикавказский медико-биологический вестник. - 2009-2010. - Т. IX. - С. 101-104.
4. Dammacco F. Amyloidosis: clinical picture, immunological and biomolecular features, treatment prospects // Ann. Ital. Med. Int. - 1991. - Vol. 6 (1 Pt 2). - P. 107-116.
5. Закс Т.В., Брин В.Б., Беликова А.Т., Козырев К.М. Патогистологическая характеристика экспериментального амилоидоза у золотистых сирийских хомяков. Влияние мелаксена // Вестник новых медицинских технологий. - 2012. - Т. 19. - № 3. - С. 151-154.

6. Закс Т.В., Брин В.Б., Козырев К.М., Соколовский Н.В. Патофизиологическая и гистоструктурная оценка модели кардиопатического типа экспериментального амилоидоза. Влияние мелаксена // Вестник новых медицинских технологий. - 2012. - № 4. - С. 149-152.
 7. Заалишвили Т.В., Брин В.Б., Козырев К.М. Способы моделирования амилоидоза экспериментальных животных // Успехи современного естествознания. – 2005. – № 2. – С. 78-79.
 8. Закс Т.В., Брин В.Б., Беликова А.Т., Козырев К.М. Патогистологическая характеристика экспериментального амилоидоза у золотистых сирийских хомяков. Влияние мелаксена // Вестник новых медицинских технологий [Тула]. - 2012. - Т. XIX, № 3. - С. 151-154.
- Coe J.E., Ross M.J. Amyloidosis and female protein in the Syrian hamster. Concurrent regulation by sex hormones // J. Exp. Med. - 1990. - Apr. 1. -Vol. 171, N4. - P. 1257-1267.

Рецензенты:

Джигоев И.Г., д.м.н., профессор, заведующий Центральной научно-исследовательской лабораторией ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Владикавказ.

Каде А.Х., д.м.н., профессор, заведующий кафедрой общей и клинической патофизиологии Кубанского государственного медицинского университета, лауреат премии Правительства Российской Федерации, г. Краснодар.