

## ВЛИЯНИЕ РАСТИТЕЛЬНОГО СРЕДСТВА НА ТЕЧЕНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТА

Мондодоев А. Г.<sup>1,2</sup>, Бутуханова И. С.<sup>2</sup>, Юндунова О. В.<sup>2</sup>, Мархаева Л. Э.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН г. Улан-Удэ, e-mail: amonbsc@mail.ru;

<sup>2</sup>ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет», Медицинский институт, г. Улан-Удэ

В статье приведены данные о влиянии растительного средства, представляющего собой комплекс сухих, водно-спиртовых экстрактов; горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.), десмодиума канадского (*Desmodium canadense* (L.) D.S.), толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva-ursi* L.), ортосифона тычиночного (*Orthosiphon stamineus* Benth.) на функциональное состояние почек, липидный спектр крови, активность свободнорадикальных процессов, выраженности иммунных нарушений у лабораторных животных при экспериментальном гломерулонефрите. Введение крысам антигенного комплекса приводит к развитию гломерулонефрита у животных, сопровождающегося характерным для заболевания симптомокомплексом. Установлено, что курсовое интрагастральное введение растительного средства крысам с нефритом Хеймана сопровождается увеличением диуреза, скорости клубочковой фильтрации, снижением уровня азотистых метаболитов в сыворотке крови и белка в моче, нормализацией липопротеидного состава крови, индекса атерогенности, ингибированием свободнорадикальных процессов и снижением выраженности иммунных нарушений.

Ключевые слова: «нефрофит», нефрит Хеймана, иммунные нарушения, дислипидемия, свободнорадикальные процессы.

## INFLUENCE OF THE PLANT REMEDY ON THE COURSE OF EXPERIMENTAL GLOMERULONEPHRITIS

Mondodoev A. G.<sup>1,2</sup>, Butukhanova I. S.<sup>2</sup>, Yundunova O. V.<sup>2</sup>, Markhaeva L. E.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, e-mail: amonbsc@mail.ru;

<sup>2</sup>Buryat State University, Medical Institute, Ulan-Ude

The data on the influence of the plant remedy on the functional state of kidneys, lipid blood spectrum, on activity of free radical processes and intensity of immune disorders in laboratory animals with experimental glomerulonephritis are given in the article. The plant remedy is a complex of dry and aqueous alcoholic extracts derived from *Polygonum aviculare* L., *Desmodium canadense* (L.) D.S., *Arctostaphylos uva-ursi* L., *Orthosiphon stamineus* Benth. The introduction of antigen complex to rats results in the development of glomerulonephritis in animals accompanied by the manifestation of the set of symptoms characteristic of the disease. The course intragastrical introduction of the plant remedy to rats with Heymann nephritis increases diuresis, glomerular filtration rate; decreases the level of nitrogen metabolites in the blood serum and the albumin in the urine; normalizes lipoprotein blood composition and atherogenic index; inhibits free radical processes and decreases the intensity of immune disorders.

Keywords: "nephrophyt", Heymann nephritis, immune disorders, dyslipidemia, free radical processes.

Заболевания почек иммунной этиологии являются одной из ведущих причин развития хронической почечной недостаточности (ХПН), результатом которой является инвалидизация и смертность. В патогенезе гломерулонефрита ведущее значение придается иммунным повреждениям [5]. Нарушения липидного обмена, часто наблюдаемые у больных хроническим гломерулонефритом с нефротическим синдромом, характеризуются увеличением содержания в крови триацилглицеридов, общего холестерина, липопротеидов низкой плотности, неэстерифицированных жирных кислот, увеличением коэффициента атерогенности. Экспериментальными работами Bernard D. B. [9] была доказана повреждающая роль дислипидемии в развитии и прогрессировании поражений почек. С

липидогенными воздействиями на ткань почек тесно связаны свободнорадикальные процессы, в частности – перекисное окисление липидов (ПОЛ). Внимание к этим процессам в нефрологии обусловлено их взаимосвязью с воспалением и деструкцией цитомембран. В настоящее время выбор препаратов, применяемых при ХПН, ограничен, поэтому поиск новых нефропротекторных средств является актуальным.

**Целью** настоящей работы явилось исследование влияния «нефрофита» на функциональное состояние почек, липидный состав крови, активность свободнорадикальных процессов и выраженность иммунных нарушений в острой фазе экспериментального нефрита Хеймана.

**Материалы и методы.** Эксперименты проведены на крысах обоего пола линии Wistar массой 180–200 г. Животных содержали в стандартных условиях вивария при одинаковом уходе и питании, световом и температурном режиме, со свободным доступом к пище и воде. Содержание животных соответствовало правилам лабораторной практики и приказу Министерства здравоохранения и социального развития РФ от 23 августа 2010 г. № 708н «Об утверждении Правил лабораторной практики». Экспериментальные исследования проводились в соответствии с Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и иных научных целей. Нефрит Хеймана вызывали по методике J. Reynolds и C. Pusey в модификации Мухина И. В. [3]. Животным опытной группы интрагастрально вводили водный раствор «нефрофита», в экспериментально-терапевтической дозе 150 мг/кг массы, в объеме 10 мл/кг, 1 раз в сутки с момента последнего введения взвеси коркового слоя почек с полным адьювантом Фрейнда в течение 3-х недель. «Нефрофит» состоит из сухих водно-спиртовых экстрактов; горца птичьего (*Polygonum aviculare L.*), десмодиума канадского (*Desmodium canadense (L.) D.S.*), толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylos uva-ursi L.*), ортосифона тычиночного (*Orthosiphon stamineus Benth.*). Крысы контрольной группы получали эквивалентное количество воды дистиллированной по аналогичной схеме. С целью оценки функционального состояния почек измеряли диурез и скорость клубочковой фильтрации, проводили общий анализ мочи. В сыворотке крови определяли концентрацию креатинина, мочевины общепринятыми методами, липидный спектр на биохимическом анализаторе «DIANA» с использованием готовых наборов фирмы «Cormau» (Польша). Активность свободнорадикальных процессов (СРП) определяли по концентрации ТБК-активных продуктов спектрофотометрически при 523 нм по степени образования окрашенного комплекса с тиобарбитуровой кислотой в сыворотке крови [6] и в гомогенате почек [4]. О состоянии эндогенной антиоксидантной системы судили по содержанию восстановленного глутатиона [8], а также активности каталазы [1] в сыворотке крови. Для оценки изменений в

системе иммунитета крыс определяли количество циркулирующих иммунных комплексов (ЦИК) по Настаушевой в модификации Труновой [7]; содержание иммуноглобулинов в крови – по Манчини [11]; количество антителообразующих клеток в селезенке – по А. J. Cunningham [10]; фагоцитарную активность нейтрофилов [2]. Полученные в ходе экспериментов данные статистически обработаны общепринятыми методами для малой выборки с определением средней величины (M) и средней арифметической ошибки (m). Достоверность результатов (P) оценивалась с применением критерия U – критерия Манна – Уитни. Различие считали значимым при вероятности 95 % ( $P \leq 0,05$ ).

**Результаты и их обсуждение.** Установлено, что через 3 недели от момента последнего введения антигенного комплекса у животных контрольной группы происходили нарушения функций почек, характеризовавшиеся повышением концентрации креатинина и мочевины крови от уровня у интактных животных на 31 и 100 % соответственно. Снижением диуреза на 33 %, повышением концентрации белка в моче в 5,4 раза, увеличением количества лейкоцитов и эритроцитов в моче. Снижением скорости клубочковой фильтрации в 5,3 раза. Данные представлены в таблице 1.

Таблица 1

Влияние «нефрофита» на показатели функционального состояния почек крыс в остром периоде экспериментального гломерулонефрита

| Биохимические показатели | Группы животных (n = 8) |              |                      |
|--------------------------|-------------------------|--------------|----------------------|
|                          | Интактная               | Контрольная  | Опытная («нефрофит») |
| Креатинин, мкмоль/ л     | 72,1 ± 5,34             | 94,2 ± 6,45  | 82,8 ± 4,86          |
| Мочевина, ммоль/л        | 5,50 ± 0,36             | 11,08 ± 0,86 | 7,09 ± 0,45*         |
| СКФ, мл/ 100г/ час       | 2,70 ± 0,16             | 0,44 ± 0,03  | 0,96 ± 0,056*        |
| Белок в моче, г/л        | 1,02 ± 0,09             | 5,08 ± 0,41  | 3,00 ± 0,21*         |
| Диурез, мл/100г/час      | 0,51 ± 0,04             | 0,34 ± 0,02  | 0,93 ± 0,05*         |

Примечание: \* – здесь и далее различие достоверно по сравнению с контрольной группой при  $P \leq 0,05$ .

Курсовое введение «нефрофита» крысам опытной группы приводило к улучшению показателей функционального состояния почек, заключавшееся в снижении концентрации креатинина и мочевины в сыворотке крови на 12 и 49 % соответственно по сравнению с аналогичными показателями в контрольной группе, увеличением диуреза в 2,7 раза и скорости клубочковой фильтрации на 118 %, снижением протеинурии на 39 %, количества лейкоцитов и эритроцитов в моче в 2 и 5,3 раза соответственно.

Также, в острую фазу нефрита происходили сдвиги в липидном составе крови животных; увеличивалась концентрация триглицеридов (ТГ), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) и липопротеидов очень низкой плотности (ЛПОНП) в 4,9; 0,85 и 2,4 раза соответственно. Снижалось содержание липидов высокой плотности (ЛПВП) в 1,9 раза, отмечалась тенденция к увеличению общего холестерина (ОХ). Коэффициент атерогенности, в итоге, был выше в 3,5 раза, чем у животных интактной группы (табл. 2).

Таблица 2

Влияние «нефрофита» на липидный состав крови крыс в остром периоде экспериментального гломерулонефрита

| Показатели липидного состава крови | Группы животных |             |                    |
|------------------------------------|-----------------|-------------|--------------------|
|                                    | Интактная       | Контрольная | Опытная «нефрофит» |
| ТГ                                 | 0,49 ± 0,03     | 1,96 ± 0,11 | 1,37 ± 0,09*       |
| ЛПНП                               | 1,1 ± 0,07      | 1,2 ± 0,09  | 0,68 ± 0,04*       |
| ЛПОНП                              | 0,2 ± 0,01      | 0,48 ± 0,03 | 0,24 ± 0,01*       |
| ЛПВП                               | 1,08 ± 0,07     | 0,56 ± 0,04 | 0,86 ± 0,05*       |
| Коэффициент атерогенности          | 1,2 ± 0,08      | 4,2 ± 0,12  | 2,2 ± 0,10*        |

Под влиянием испытуемого средства у животных опытной группы происходила нормализация липидного состава крови. Снижалось содержание (ТГ) и (ЛПНП) на 30 % и 43 % соответственно, а (ЛПОНП) более чем в 2 раза. Повышалось содержание (ЛПВП) на 55 %, в результате чего коэффициент атерогенности был ниже, чем в контрольной группе, в 1,9 раза.

Введение антигенного комплекса крысам приводило к активации процессов свободнорадикального окисления, увеличивалось содержание МДА в сыворотке крови и гомогенате почек в 4,9 и 2,0 раза соответственно, также наблюдали незначительное снижение активности каталазы и повышение уровня восстановленного глутатиона в сыворотке крови, которое можно объяснить компенсаторной реакцией организма животных в ответ на активацию СРП. Установлено, что под влиянием испытуемого средства у животных опытной группы менее выражены свободнорадикальные реакции, на что указывает значительное снижение содержания МДА в сыворотке крови и гомогенате коркового слоя почек в 2,9 и 2,1 раза соответственно. Кроме того, введение «нефрофита» способствует повышению возможностей эндогенной антиокислительной системы крыс опытной группы, что подтверждает увеличение содержания восстановленного глутатиона на

46 % и повышение активности каталазы в сыворотке крови на 50,6 % по сравнению с контролем (табл. 3).

Таблица 3

Влияние «нефрофита» на уровень МДА и показатели состояния эндогенной антиокислительной системы у крыс в остром периоде экспериментального гломерулонефрита

| Показатели                                  | Группы животных |              |                    |
|---|-----------------|--------------|--------------------|
|   | Интактная       | Контрольная  | Опытная «нефрофит» |
| МДА в сыв. крови мкмоль/л                   | 1,08 ± 0,04     | 5,30 ± 0,20  | 1,80 ± 0,11*       |
| МДА в гомог. почек нмоль/г ткани            | 2,10 ± 0,02     | 4,20 ± 0,16  | 2,04 ± 0,12*       |
| Восстановлен. глутатион в сыв. кр. мкмоль/л | 0,82 ± 0,03     | 1,00 ± 0,02  | 1,46 ± 0,15*       |
| Каталаза в сыв. кр. мкат/мл                 | 20,60 ± 0,60    | 16,40 ± 0,67 | 24,70 ± 0,70*      |

Введение комплекса (адьювант Фрейнда + гомогенат коркового слоя почек) белым крысам сопровождается развитием значимых нарушений в системе иммунитета животных, которое характеризуется повышением количества как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на  $10^6$  спленоцитов на 41,5 % и 54,8 %. Под влиянием антигенного комплекса наблюдали увеличение содержания иммуноглобулинов М, G, А в 6,6; 1,4 и 1,8 раза соответственно, а также количества ЦИК более чем в 3 раза по сравнению с аналогичными данными крыс интактной группы. Курсовое введение «нефрофита» на фоне модели заболевания оказывало выраженное иммуномодулирующее действие, нормализуя показатели гуморального и клеточного звеньев иммунного ответа организма (табл. 4).

Влияние «нефрофита» на показатели иммунной системы белых крыс  
в остром периоде экспериментального гломерулонефрита

| Показатели                               |     | Группы животных |               |                    |
|--|-----|-----------------|---------------|--------------------|
|  |     | Интактная       | Контрольная   | Опытная «нефрофит» |
| Абсолютное число АОК на селезенку        |     | 78009 ± 4367    | 110376 ± 4763 | 81831 ± 4452*      |
| Число АОК на 10 <sup>6</sup> спленоцитов |     | 447± 23         | 692 ± 24      | 521 ± 22*          |
| Иммуноглобулины, мг/%                    | IgM | 37,6±2,23       | 247,4±19,6    | 161,6±12,43*       |
|  | IgG | 296,4±14,87     | 406,2±11,65   | 328,1±14,45*       |
|  | IgA | 51,5±3,67       | 93,2±6,45     | 72,2±5,45*         |
| ЦИК, ед. ОП                              |     | 9,3±0,16        | 30,1±2,23     | 18,4±1,67*         |
| Фагоцитарный показатель, %               |     | 32,5±1,26       | 42,4±2,18     | 51,3±2,27*         |

При исследовании влияния испытуемого средства на процессы антителообразования показано, что при введении полиэкстракта крысам снижается количество АОК на селезенку на 26,1 %, число АОК на 10<sup>6</sup>спленоцитов – на 24,7 % по отношению к контролю. Также под влиянием испытуемого средства у животных опытной группы наблюдали снижение содержания IgM, IgG и IgA соответственно на 34,7; 19,2 и 22,5 % и уменьшение количества циркулирующих иммунных комплексов в крови – в 1,6 раза по сравнению с аналогичными показателями у крыс контрольной группы. Установлено также, что испытуемое средство способствует повышению фагоцитарной активности нейтрофилов в среднем на 21,0 % по сравнению с показателями в контроле

**Заключение.** Таким образом, курсовое внутрижелудочное введение «нефрофита» животным опытной группы в экспериментально-терапевтической дозе 150 мг/кг, при повреждении почек иммунной этиологии оказывает выраженное нефрозащитное влияние, сопровождается нормализацией показателей функционального состояния почек, липидного состава крови, снижением интенсивности свободнорадикальных процессов, выраженности иммунных нарушений, повышением активности эндогенной антиоксидантной системы. Указанные свойства «нефрофита» обеспечены комплексом биологически активных веществ, содержащихся в его составе.

## Список литературы

1. Королюк М. А. Методы определения активности каталазы /М. А. Королюк, Л. И. Иванова, И. Г. Майорова и др. // Лаб. дело. – 1988. – № 1. – С.16-19.
2. Меньшиков В. В. (ред.). Лабораторные методы исследования в клинике (Справочник). – М., 1987. – 368 с.
3. Мухин И. В. Коррекция дислипидопротеидемии посредством системной энзимотерапии при экспериментальном гломерулонефрите // Пат. физиол. и эксп. терапия. – 2002. – № 4. – С. 27–28.
4. Стальная И. Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И. Д. Стальная, Т. Д. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С.66-68.
5. Тареева И. Е. (ред.). Нефрология. – М., 2000. – 688 с.
6. Темирбулатов Р. А., Селезнев Е. И. Метод повышения интенсивности свободнорадикального окисления липидсодержащих компонентов крови и его диагностическое значение / Р. А. Темирбулатов, Е. И. Селезнев // Лабор. дело. – 1981. – № 4. – С.209-211.
7. Трунова А. Н. Адаптация фотометрического метода оценки уровня циркулирующих иммунных комплексов для нефелометра // Иммунология. – 1996. – № 4. – С. 19-20.
8. Anderson M. E. Glutathione: Biochemical and Medical Aspects // Pt. A. – N.Y., 1989. – P. 333-405.
9. Bernard D. B. Extrarenal complications of the nephrotic syndrome // Kidney Int. – 1988. – Vol. 33, no. 6. – P. 1184-1202.
10. Cunningham A. J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells // Nature. – 1965. – Vol. 207. – N5001. – P.1106-1107.
11. Mancini G., Carbonara A. O., Hermans J. F. Immunological quantitation of antigens by single radial immunodiffusion //Immunochemistry. – 1965. – 2. № 3. – P. 235-254.