

## ВЛИЯНИЕ ГИДРОКАРБОНАТНОЙ УГЛЕКИСЛО-ХЛОРИДНО-НАТРИЕВОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ НА ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ АУТОИММУННОМ НЕФРИТЕ

Джиоев И.Г.<sup>1</sup>, Гуцаева Э.А.<sup>1</sup>, Ремизов О.В.<sup>1</sup>, Березова Д.Т.<sup>1</sup>, Батагова Ф.Э.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Министерства здравоохранения Российской Федерации, Владикавказ, e-mail: inal44@mail.ru

Целью работы было выяснение влияния приема гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды Северной Осетии «Хилак» на диурез и основные процессы мочеобразования у белых лабораторных крыс линии Вистар с экспериментальным аутоиммунным нефритом Хеймана, который создавали однократным внутривнутрибрюшинным и подкожным ведением смеси по 0,1 мл/100 г гомогената коркового вещества почек и полного адьюванта Фрейнда в подмышечные и паховые области. В течение первого месяца после создания модели нефрита отмечалось (вследствие снижения канальцевой реабсорбции воды) повышение спонтанного диуреза; в конце второго месяца, наоборот, диурез снизился, но уже из-за уменьшения клубочковой фильтрации, очевидно, обусловленного замедлением объемной скорости почечного кровотока и выявленными морфологическими клубочково-канальцевыми изменениями в почках в виде инфильтрации, кровоизлияний и дистрофии. Содержание белка в моче и креатинина в плазме крови постоянно росло. Прием минеральной воды «Хилак» при экспериментальном аутоиммунном нефрите не оказывает влияния на выявленные изменения, характеризующие работу почек, поэтому, скорее всего, ее прием, так же как, возможно и других минеральных вод с аналогичным составом, нецелесообразен при аутоиммунных нефритах.

Ключевые слова: минеральная вода, экспериментальный аутоиммунный нефрит, спонтанный диурез, клубочковая фильтрация, канальцевая реабсорбция, протеинурия, скорость почечного кровотока, морфология почек.

## EFFECT OF HYDROCARBONATE CARBONATE-CHLORIDE-SODIUM MINERAL WATER ON KIDNEYS FUNCTIONS AT EXPERIMENTAL AUTOIMMUNE NEPHRITIS

Dzhioev I.G.<sup>1</sup>, Gutsaeva E.A.<sup>1</sup>, Remizov O.V.<sup>1</sup>, Berezova D.T.<sup>1</sup>, Batagova F.E.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North Ossetian State Medical Academy, Vladikavkaz, e-mail: inal44@mail.ru

The aim of the work was to elucidate the influence of the intake of the bicarbonate carbonic-chloride-sodium mineral water of North Ossetia «Khilak» on diuresis and the main processes of urine formation in white laboratory rats of the Wistar line with experimental autoimmune Heiman's nephritis, which was created by a single intraperitoneal and subcutaneous mixture in the axillary and 0.1 ml / 100 g of homogenate of renal cortex and complete adjuvant of Freund. During the first month after the creation of the nephritis model, due to a decrease in tubular reabsorption of water, an increase in spontaneous diuresis was noted, which, on the contrary, decreased at the end of the second month, but already due to a decrease in glomerular filtration, apparently due to a slowdown in the volumetric rate of renal blood flow and revealed morphological glomerular-tubular changes in the kidneys in the form of infiltration, hemorrhage and dystrophy. The content of protein in urine and creatinine in blood plasma constantly increased. The intake of the Khilak mineral water for experimental autoimmune nephritis does not affect the revealed changes characterizing the kidney function, therefore, most likely, its intake, as well as other mineral waters with a similar composition, is inappropriate for autoimmune nephritis.

Keywords: mineral water, experimental autoimmune nephritis, spontaneous diuresis, glomerular filtration, tubular reabsorption, proteinuria, renal blood flow rate, renal morphology.

Использование новых компьютерных технологий в диагностике и лечении больных, в том числе и на расстоянии, конечно, является важным достижением науки, которая будет и в дальнейшем развиваться, достигая новых величин, и, возможно, они когда-то станут такими, как их описывают писатели-фантасты. Но это не означает, что полностью исчезнут применяемые сейчас в лечении и профилактике заболеваний природные факторы, среди

которых минеральные воды в качестве средств питья и бальнеотерапии продолжают оставаться востребованными, так они не вызывают осложнений, мягко нормализуют многие патологические состояния и экономически доступны почти всем. В Северо-Кавказском регионе России особенно много различных минеральных источников, вокруг которых были построены не только курорты, но и города, а у населения с давних времен появилась традиция ездить на лечение и применять в качестве питья и ванн минеральные воды. Особенно это удобно, если минеральные источники находятся в регионе проживания: исключены длительные поездки и адаптация организма [1, 2, 3]. Поэтому прием минеральных вод при лечении заболеваний остается актуальным и целесообразным, тем более у самого источника, если они в своем составе имеют органические и летучие соединения.

В Республике Северная Осетия – Алания также есть много различных минеральных источников, часть из которых уже имеют всеобщее признание и используются в качестве и лечебных, и лечебно-столовых, и столовых, некоторые применяются при бальнеотерапии, а другие находятся в стадии изучения, хотя давно используются населением при лечении различных заболеваний. Одной из таких вод является гидрокарбонатная углекисло-хлоридно-натриевая минеральная вода «Хилак» с общей минерализацией 2,1–2,3 г/л.

Целью работы являлось выяснение влияния приема гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды «Хилак» на диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с экспериментальным аутоиммунным нефритом Хеймана.

**Материалы и методы исследований.** Исследования проводили на 56 половозрелых крысах линии Вистар (7–9 месяцев, вес 170–210 г,  $184 \pm 16$ ), которых разделили следующим образом: 12 интактных крыс и 36 крыс с аутоиммунным нефритом Хеймана, созданным путем однократного введения смеси равных частей гомогената коркового вещества почек крыс и полного адьюванта Фрейнда, который является стимулятором неспецифического иммунного ответа, способен адсорбировать на своей поверхности антиген и длительное время депонировать его, увеличивая продолжительность влияния на иммунную систему. Для получения гомогената корковое вещество почек тщательно растирали с физиологическим раствором в соотношении: на каждые 100,0 мг ткани 1,0 мл жидкости. Гомогенат и адьювант, перемешанные до получения однородной мелкодисперсной взвеси, вводили крысам в пяти местах (внутрибрюшинно и четыре инъекции подкожно в подмышечных и паховых областях, везде по 0,1 мл/100 г) [4, 5]. Поскольку каждой крысе, которой создавали модель нефрита, в среднем вводили около 1,0 мл иммунной смеси, то для получения количества смеси, требуемого 36 животным, пришлось изъять почки у 8 крыс, поэтому указано, что исследования проводили на 56 крысах, хотя опыты ставили на 48.

Минеральную воду вводили крысам через зонд в желудок в объеме 1,0% их веса дважды в сутки (в первой и во второй половине дня). Как мы отмечали ранее, при изучении данной минеральной воды и воды Тиб-2 применение такой дозировки было обусловлено тем, что именно в таком объеме минеральная вода, по сравнению с водопроводной, оказывала наиболее эффективное действие на функции почек [6], а при определении продолжительности приема воды «Хилак» оказалось, что наиболее положительный результат дает прием в течение 12 дней [7], поэтому при аутоиммунном нефрите мы ограничили этим же сроком. К тому же больным, как правило, рекомендуют применять минеральную воду 2–3 недели, а потом делать такой же перерыв.

После введения крысам иммунной смеси необходимо время для запуска и развития аутоиммунного процесса, поэтому мы оставили крыс на 17 дней, а на 18-й у всех 36 собрали спонтанно выделяющуюся мочу, после чего у 6 крыс в состоянии обезболивания и сна (0,1 мл/100г золетила в/б) определили скорость почечного кровотока, затем отбирали кровь для определения в плазме содержания креатинина и общего белка и изымали почки для морфологических исследований. Оставшихся 30 крыс разделили на две группы (контрольную и опытную), по 15 в каждой. Животные контрольной группы получали водопроводную воду дважды в день через зонд в желудок в объеме 1% их веса в течение 12 дней, а опытной группы – минеральную воду. На 13-й день, который пришелся на конец первого месяца с момента иммунизации, у всех крыс собрали мочу за 6 ч и после завершения опытов у 5 крыс из каждой группы определили скорость почечного кровотока. Оставшиеся в каждой группе по 10 крыс опять в течение 18 дней не подвергались никаким воздействиям, а затем 12 дней крысам в контрольной группе вводили водопроводную воду, в опытной – минеральную с последующим сбором мочи в конце второго месяца.

Мочу для исследований собирали у крыс в течение 6 ч, а затем в ней и в плазме крови с помощью спектрофотометра Unico 2800 (США) определяли содержание эндогенного креатинина и общего белка [8], а диурез, скорость клубочковой фильтрации и объем канальцевой реабсорбции воды рассчитывали. Объемную скорость кровотока определяли флоуметром Transonic NT 313 (США). Морфологическую характеристику почек изучали с помощью световой микроскопии.

Полученные результаты статистически обрабатывались с определением степени достоверности средних величин по t-критерию Стьюдента и методом Манна–Уитни.

**Результаты исследования и их обсуждение.** Двухнедельный прием минеральной воды увеличил на следующий день шестичасовой спонтанный диурез с  $0,82 \pm 0,07$  мл/100 г (интактные крысы) до  $1,12 \pm 0,09$  мл/100 г ( $p < 0,01$ ), что было обусловлено торможением

канальцевой реабсорбции воды ( $p < 0,002$ ), так как клубочковая фильтрация лишь только немного ускорилась и не могла вызвать диуретический эффект (табл. 1).

Таблица 1

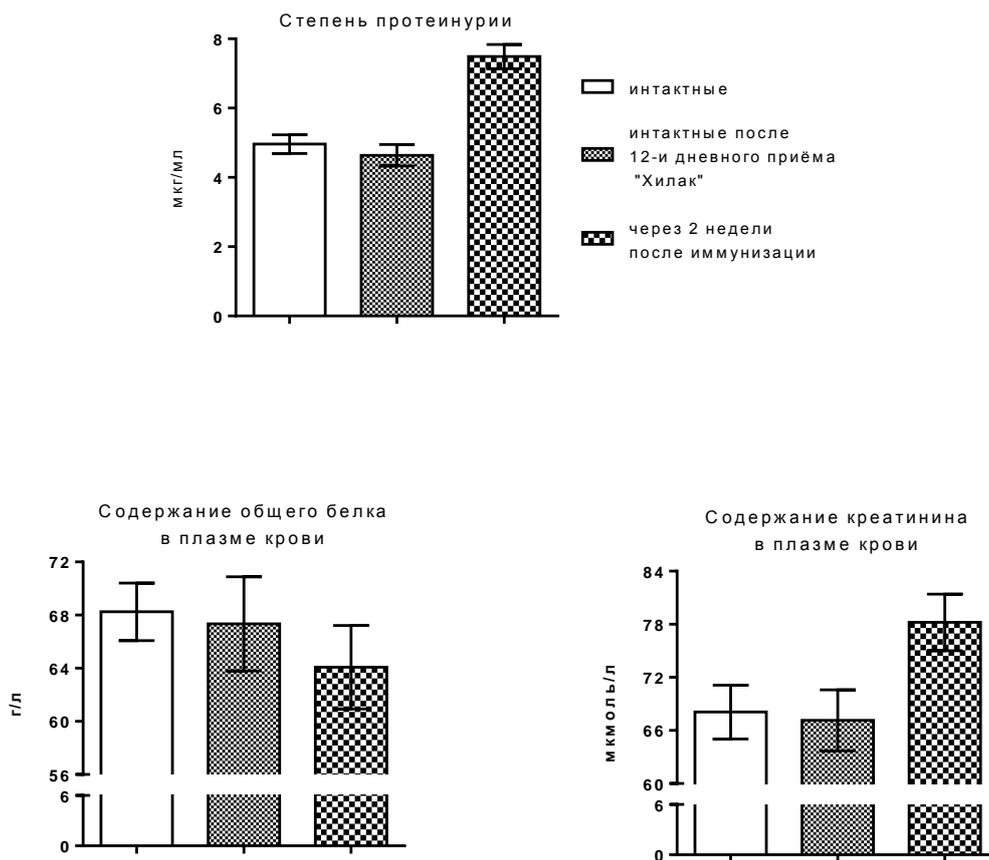
Спонтанный диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды у интактных крыс после иммунизации и приема минеральной воды

Условия опытов	Диурез (мл/6ч/100г)	Клубочковая фильтрация (мл/6ч/100г)	Канальцевая реабсорбция (%)
Интактные крысы ( $M \pm m$ )	$0,82 \pm 0,07$	$82,54 \pm 5,32$	$99,01 \pm 0,06$
После 12-дневного приема минеральной воды ( $M \pm m, p$ )	$1,12 \pm 0,09$ <0,01	$88,49 \pm 6,25$	$98,73 \pm 0,09$ <0,002
Через 2 недели после иммунизации ( $M \pm m, p$ )	$1,16 \pm 0,08$ <0,01	$64,85 \pm 5,06$ <0,002	$98,21 \pm 0,14$ <0,001

Через 18 дней после введения аутоиммунной смеси в большинстве приготовленных из почек препаратов отмечались расширение полости капсул Боумэна–Шумлянского, вокруг которых имелись скопления лимфоцитов, в волокнистой соединительной ткани отмечался слабовыраженный отек и в отдельных канальцах присутствовали белковые отложения с дистрофическими изменениями нефроцитов. Капиллярная сеть также в большинстве образцов была расширена. При этом в мозговом веществе почек не отмечалось особых изменений.

Спонтанный диурез у иммунизированных крыс спустя 18 дней статистически значимо ( $p < 0,01$ ) повысился до  $1,16 \pm 0,08$  мл/100 г, несмотря на то, что скорость клубочковой фильтрации снизилась на 22,5% ( $p < 0,002$ ), но, так как канальцевая реабсорбция воды ослабла ( $p < 0,001$ ), то это и перекрыло сниженную фильтрацию (табл. 1).

Как правило, при поражении почек повышается содержание белка в моче – возникает протеинурия [9-11]. Прием минеральной воды не оказал влияния на содержание белка в моче, в то время как у крыс с аутоиммунным нефритом степень протеинурии в 1,52 раза превышала норму, равную у интактных крыс  $4,96 \pm 0,27$  мкг/мл (рис.), но при этом в плазме крови содержание общего белка оставалось в пределах нормы ( $68,25 \pm 2,17$  г/л – контроль,  $64,08 \pm 3,44$  г/л – с аутоиммунным нефритом). После иммунизации содержание в плазме крови эндогенного креатинина статистически значимо повысилось ( $p < 0,05$ ), а после приема минеральной воды, так же как и общего белка, не изменились (рис.).



*Степень протеинурии, содержание общего белка и креатинина в плазме крови у крыс интактных, получавших минеральную воду и с аутоиммунным нефритом*

Для выяснения причин изменения клубочковой фильтрации после иммунизации мы определяли объем почечного кровотока как одного из факторов, определяющего скорость фильтрации в клубочках. У интактных крыс скорость почечного кровотока составляла  $10,95 \pm 0,62$  мл/мин, у аутоиммунных –  $8,74 \pm 0,50$  мл/мин ( $p < 0,05$ ), а после приема минеральной воды –  $11,33 \pm 0,71$  мл/мин. Следовательно, скорость почечного кровотока соответствовала клубочковой фильтрации – отмечались снижение у крыс с нефритом Хеймана и отсутствие особых изменений после приема минеральной воды.

Спустя 1 месяц после иммунизации морфологические изменения в почках стали более гетерогенными во всех слоях, в том числе и сосудистой системы, которая наряду с участками полнокровных и расширенных сосудов местами имела суженные участки. Почти во всех исследуемых препаратах отмечалась разнокалиберность клубочков, часть которых были увеличенными, а другие, наоборот, небольшими. Но независимо от их размеров почти вокруг всех имелись инфильтраты, состоящие из лимфоцитов и лейкоцитов, при этом отмечались мелкие кровоизлияния, разрушение щеточной каемки и эпителия, заполнение просветов трубочек белковыми массами разной плотности. Следовательно, отмеченные морфологические изменения соответствуют изменениям при нефрите Хеймана с

локализацией главного патогенного антигена в щеточной каемке проксимальных канальцев почек [12]. Гистологическая характеристика почек иммунизированных крыс, получавших минеральную воду, была такой же.

В отношении водовыделительной функции почек и исследуемых показателей можно отметить следующее. Через 1 месяц после введения аутоиммунной смеси у крыс, получавших водопроводную воду, содержание креатинина в плазме крови и степень протеинурии стали больше ( $86,47 \pm 5,28$  мкмоль/л и  $11,90 \pm 0,85$  мкг/мл), превышая данные интактных крыс в 1,3 раза ( $p < 0,01$ ) и в 2,4 раза ( $p < 0,001$ ) соответственно. Уровень общего белка в плазме крови снизился до  $60,33 \pm 2,40$  г/л, что уже статистически значимо ( $p < 0,05$ ) отличалось от нормы. Введение крысам минеральной воды в течение 12 дней особо не повлияло на содержание белка в моче ( $10,76 \pm 0,94$  мкг/мл), креатинина ( $84,85 \pm 4,66$  мкмоль/л) и общего белка ( $62,05 \pm 4,25$  г/л) в плазме крови.

Водовыделительная функция почек и основные процессы мочеобразования в конце месяца у крыс, получавших водопроводную воду, во многом были такими же, как и в двухнедельных опытах, т.е. спонтанный диурез оставался повышенным, а скорость клубочковой фильтрации и объем канальцевой реабсорбции воды – сниженными (табл. 2).

Таблица 2

Спонтанный диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды у крыс через 1 и 2 месяца после иммунизации и приема минеральной воды

Условия опытов	Диурез (мл/6 ч/100 г)	Клубочковая фильтрация (мл/6 ч/100 г)	Канальцевая реабсорбция (%)
Интактные крысы ( $M \pm m$ )	$0,82 \pm 0,07$	$82,54 \pm 5,32$	$99,01 \pm 0,06$
Через 1 месяц после иммунизации и 12-дневного приема водопроводной воды ( $M \pm m$ , $P_{\text{интакт.}}$ )	$1,07 \pm 0,08$ <0,05	$59,74 \pm 4,85$ <0,01	$98,20 \pm 0,13$ <0,001
Через 1 месяц после иммунизации и 12-дневного приема минеральной воды ( $M \pm m$ , $P_{\text{интакт.}}$ , $P_{\text{водопровод.}}$ )	$1,09 \pm 0,09$ <0,05 *	$63,08 \pm 5,43$ <0,02 *	$98,36 \pm 0,17$ <0,001 *
Через 2 месяца после иммунизации и 12-дневного приема водопроводной воды ( $M \pm m$ , $P_{\text{интакт.}}$ )	$0,58 \pm 0,06$ <0,02	$54,72 \pm 4,16$ <0,001	$98,94 \pm 0,31$ *
Через 2 месяца после иммунизации и 12-дневного приема минеральной воды ( $M \pm m$ , $P_{\text{интакт.}}$ , $P_{\text{водопровод.}}$ )	$0,65 \pm 0,05$ <0,05 *	$60,24 \pm 5,60$ <0,01 *	$98,92 \pm 0,23$ * *
* – отсутствие достоверных отличий			

Основным стимулятором диуретического проявления аутоиммунного поражения почек в этом случае также выступали канальцы с нарушением всасывания воды в них. Очевидно, что это было связано с отмеченными дистрофическими изменениями и разрушением щеточной каемки, что уменьшает поверхность клеточных мембран и ослабляет их резорбтивную

функцию [13]. Снижение клубочковой фильтрации, скорее всего, было обусловлено как ослаблением скорости почечного кровотока, которая от контрольного уровня снизилась на 24,6% ( $8,26 \pm 0,52$  мл/мин,  $p < 0,01$ ), так и наличием облитерации капсул Боумэна–Шумлянскогo и инфильтрации их лейко- и лимфоцитами, скоплениями эритроцитов, что, несомненно, может снижать способность мезангиальных клеток к сокращениям и приведет к ослаблению скорости фильтрации в клубочках нефронов [14].

12-дневный прием минеральной воды не отразился на диурезе и основных процессах мочеобразования (табл. 2), в том числе и на скорости почечного кровотока, которая была  $8,35 \pm 0,72$  мл/мин, что на 23,7% меньше нормы ( $p < 0,002$ ).

В конце второго месяца морфологические изменения, отмеченные ранее, уже приобрели дистрофический характер у крыс обеих групп. Одновременно ухудшились показатели функции почек. Так, у контрольных крыс степень протеинурии стала превышать норму в 3,6 раза ( $17,85 \pm 1,44$  мкг/мл), уровень креатинина в плазме крови достиг  $94,12 \pm 0,73$  мкмоль/л, а общий белок –  $57,46 \pm 0,62$  г/л. Спонтанный диурез, который еще месяц назад превышал норму, резко (в 1,84 раза) снизился до  $0,58 \pm 0,06$  мл/100 г и стал статистически значимо ( $p < 0,05$ ) меньше исходного уровня интактных крыс. И в этом случае его снижение было уже обусловлено уменьшением скорости клубочковой фильтрации, которая, хоть и была с самого начала иммунизации сниженной, но к концу второго месяца стала еще меньше (табл. 2). Снизилась и скорость почечного кровотока до  $7,72 \pm 0,59$  мл/мин ( $p < 0,001$ ), что, возможно, и стало причиной ослабления фильтрации в гломерулах. Обратное всасывание воды в канальцах почек уже не играло особой роли в изменении диуреза (табл. 2).

Введение минеральной воды в течение 12 дней перед окончанием второго месяца практически не отразилось на всех исследуемых показателях водовыделительной функции почек (табл. 2). Объемная скорость кровотока в почечной артерии была такой же, как у крыс, получавших водопроводную воду ( $8,29 \pm 0,64$  мл/мин). Также особо не отличались степень протеинурии ( $18,21 \pm 1,66$  мкг/мл), содержание в плазме крови креатинина ( $92,05 \pm 7,31$  мкмоль/л) и общего белка ( $58,08 \pm 4,89$  г/л). Следовательно, 12-дневный прием минеральной не оказал влияния на исследуемые показатели почек, измененные созданным аутоиммунным нефритом Хеймана.

**Выводы.** Однократное введение крысам линии Вистар смеси, способной вызывать у крыс аутоиммунный нефрит Хеймана, способствует гистологическим клубочково-канальцевым изменениям в почках с явлениями инфильтрации, кровоизлияний и дистрофии. Количество спонтанной выделяющейся мочи в течение первого месяца повышается вследствие торможения обратного всасывания воды, а еще спустя 1 месяц, наоборот, повышается, это вызвано ослаблением клубочковой фильтрации из-за уменьшения объемной

скорости почечного кровотока. Содержание белка в моче и креатинина в плазме крови постоянно повышалось.

Ежедневный прием минеральной воды «Хилак» в течение 12 дней не оказывает влияния на выявленные изменения диуреза и скорость почечного кровотока, протеинурию и содержание креатинина в плазме крови, поэтому, скорее всего, ее прием, так же как, возможно, и других минеральных вод с составом, аналогичным воде «Хилак», нецелесообразен при аутоиммунных нефритах.

### Список литературы

1. Поволоцкая Н.П., Слепых В.В., Ачабаева А.А., Гайдамака И.И. Федеральный курорт Нальчик: рациональное использование ландшафтно-климатических ресурсов в курортно-рекреационной практике // Курортная медицина. 2020. № 3. С. 35-42.
2. Амиянц В.Ю., Ботвинева Л.А., Ефименко Н.В., Поволоцкая Н.П. Ориентиры и риски в отражении реакций организма на перемены высоты и ландшафта в сопоставлении влияния условий низкогорья и высокогорья северного Кавказа на ограниченном интервале времени // Курортная медицина. 2019. № 2. С. 21-32.
3. Сидорина Н.Г., Клопотова Н.Г. Перспективы создания препаратов с использованием гидроминеральных лечебных ресурсов Сибири // Курортная медицина. 2017. № 1. С. 26-31.
4. Альбини Б., Брентьерс Я.Р., Андрее Д.А. Иммунопатология почек: Пер. с англ. М.: Медицина, 1982. 263 с.
5. Джигоев И.Г., Клочков Д.А., Кабоева Б.Н., Батагова Ф.Э. Водовыделительная функция и чувствительность почек к антидиуретическому гормону у крыс с аутоиммунным нефритом // Фундаментальные исследования. 2014. № 10-6. С. 1098-1102.
6. Пронина Н.Н., Логунова Л.В., Джигоев И.Г., Дзгоева Ф.У. Действие на функцию почек минеральной воды «Тиб-2» // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. 1986. № 2. С. 48-51.
7. Джигоев И.Г., Гуцаева Э.А., Ремизов О.В., Хестанова Е.А., Черткоева М.Г. Диурез и основные процессы мочеобразования при однократном и курсовом приеме гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды // Современные проблемы науки и образования. 2020. № 2. [Электронный ресурс]. URL: <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29622> (дата обращения: 12.01.2021).
8. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований). М.: МЕДпресс-информ, 2017. 720 с.

9. Томилина Н.А. Хроническая болезнь почек. Избранные главы нефрологии. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. 546 с.
10. Гуранова Н.Н., Усанова А.А. Нефрология. Изд.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. 432 с.
11. Girndt M. Diagnosis and treatment of chronic kidney disease. *Internist (Berl)*. 2017. Vol.58. № 3. P. 243-256. DOI: 10.1007/s00108-017-0195-2.
12. Tsukada Y., Ono K., Maezawa A., Yano S., Naruse T. A major pathogenic antigen of Heymann nephritis is present exclusively in the renal proximal tubule brush border-studies with a monoclonal antibody against pronase-digested tubular antigen. *Clin Exp Immunol* 1994. Vol. 96. № 2. P. 303-310.
13. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А. Гистология, эмбриология, цитология. М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. 790 с.
14. Гайтон А.К., Холл Д.Э. Медицинская физиология. М.: Логосфера, 2018. 1328 с.