

**ВЛИЯНИЕ СУЛЬФИДНОЙ МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ «РЕДАНТ-4Р» НА СТРУКТУРНО-
ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК ПРИ НЕФРОПАТИЧЕСКОМ ТИПЕ ГЕНЕРАЛИЗО-
ВАННОГО АМИЛОИДОЗА**

А.А. ГАБУЕВА, Г.С. ДЗАДЗИЕВ, Н.Г. ДЗАДЗИЕВА, К.М. КОЗЫРЕВ,
Л.Р. ДЗУКАЕВА

*ГБОУ ВПО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России,
г. Владикавказ, ул. Пушкинская, 40*

Аннотация. Однократное введение старым крысам равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда в дозе по 0,2 мл в пять точек инъекций вызывает развитие нефропатического типа генерализованного амилоидоза; выраженную протеинурию, снижение показателей электролито- и водовыделительной функций почек. Целесообразность проведения экспериментов на старых крысах авторами объясняется возрастным понижением метаболических процессов в детерминированном брадитрофичном организме этих животных. Впервые установлено, что сочетанное введение нативного яичного альбумина в смеси с адьювантом Фрейнда и сульфидной минеральной воды приводит к неполному восстановлению показателей электролито- и водовыделительной функции почек, а также к снижению уровня протеинурии. Прием минеральной воды «Редант-4Р» редантского месторождения Республики Северная Осетия-Алания оказывает определенное профилаксирующее влияние на развитие нефропатической формы генерализованного амилоидоза, тяжелого общепатологического процесса нередко заканчивающегося фатальным исходом. Авторы подчеркивают идею о том, что, обладая химической инертностью и иммунологической толерантностью фибриллярные белки амилоида мало поддаются патогенетическому лечению. Однако, по мнению авторов возможна частичная приостановка процесса усиленного отложения амилоида в почках в эксперименте, воздействуя на отдельные механизмы амилоидогенеза, что и было продемонстрировано в данной работе.

Ключевые слова: амилоидоз, профилактика и лечение, сульфидная вода.

**SULFIDE MINERAL WATER «REDANT-4P» EFFECT ON STRUCTURE AND FUNCTIONAL STATE
OF KIDNEYS AT THE NEPHROPATHIC TYPE OF GENERALIZED AMYLOIDOSIS**

A.A. GABUEVA, G.S. DZADZIEV, N.G. DZADZIEVA, K.M. KOZYREV, L.R. DZUKAEVA

State Educational Institution of Higher Professional Education "North Ossetian State Medical Academy," the Ministry of Health of Russia, Vladikavkaz, Pushkin Street, 40

Abstract. One time introducing of equally proportioned native egg albumin mixture and full adjuvant of Freind in the doses of 0,2 ml into five points of injections to the old rats causes the development of nephropathic type of the generalized amyloidosis; expressed proteinuria; decreasing of electrolyte- and water discharging functions of kidneys indices. The fact of carrying out of the experiments on the old rats is explained by the authors with the decreasing of the metabolic processes in determinate braditrophic organisms of these animals. For the first time it was determined that combined introducing of native egg albumin with mixture of adjuvant of Freind and sulfide mineral water results in half full restoration of electrolyte and water discharging functions of kidneys as well as to the decreasing level of proteinuria. The use of mineral water «Redant-4P» of the Redunt original spring in the Republic of North Ossetia-Alania makes definite preventive influence on the development of nephropathic form of the generalized amyloidosis, heavy general pathologic process often resulting to the fatality. The authors underline the idea that possessing chemical inactivity and immunologic tolerance the fibrillar proteins amyloid are little amenable patho-genetic treatment. According to the authors it is possible partial suspension of the process of enhanced deposition of amyloid in the kidneys in the experiment, acting on individual mechanisms amyloidogenesis, and that has been demonstrated in this paper.

Key words: amyloidosis, prevention and therapy, sulfide water.

Несмотря на более чем столетнюю историю изучения, проблема амилоидоза продолжает привлекать внимание исследователей, что связано с распространенностью и тяжестью клинических проявлений со склонностью к развитию почечной недостаточности. Сложность патогенеза, многообразие висцеральных проявлений, трудность диагностики, малая эффективность терапии достаточно убедительно свидетельствуют об актуальности проблемы амилоидоза в целом, что, в конечном итоге, является веским аргументом необходимости комплексного изучения процесса [1, 2, 4, 5, 10].

Откладываясь в тканях, амилоид накапливается в больших количествах и вытесняет специализированные элементы органа, что приводит к атрофии, склерозу и функциональной недостаточности органов [7, 9].

В вопросах изучения этиологии и патогенеза амилоидоза важная роль отводится его экспериментальному моделированию. Для получения возможности изучения патогенеза, профилактики и лечения амилоидоза за последние годы разработано множество различных способов его экспериментального воспроизведения у животных [3]. Большинство исследователей основывается на введении животным биологических или химических агентов раздельно, и в различных их сочетаниях [6, 8]. Существует способ получения амилоидоза у хомяков путем их заражения кожным лейшманиозом. Описано также развитие системного амилоидоза при заражении животных различными возбудителями хронических инфекций: *Mycobacterium butiricum*. Получены модели экспериментального генерализованного амилоидоза методом подкожного введения белым мышам нативного яичного альбумина, а также методом подкожного введения золотистым сирийским хомякам нативной свиной плазмы [3].

Нами осуществлена попытка моделирования амилоидоза на крысах – животных, совмещающих достаточный размер и доступность. В связи с особенностями иммунологической реактивности и обмена веществ у крыс в настоящем исследовании нами использовались особи старого возраста, ткани которых находятся в состоянии естественной гипотрофии. Целесообразной является и разработка более легких способов воспроизведения генерализованного амилоидоза у крыс, в частности методом однократного введения нативного яичного альбумина в сочетании с полным адьювантом Фрейнда с анализом степени вовлечения почек в патологический процесс.

В ходе настоящего эксперимента нами осуществлена попытка использовать для профилактики развития амилоидоза минеральную воду Северной Осетии «Редант-4Р», так как исследования, показавшие, что данная минеральная вода обладает выраженным противовоспалительным действием, улучшает микроциркуляцию и потребление кислорода тканями, дали возможность предположить, что ее применение может оказывать тормозящее действие на процессы синтеза и отложения амилоида. По данным Пятигорского НИИКФ минеральная вода Р-4 Редантского месторождения является сульфидной водой средней минерализации, хлоридно-сульфидно-кальциевого состава с повышенным содержанием ионов магния, нейтральной реакцией среды, холодная, содержание общего сероводорода – 158 мг/л, свободного сероводорода – 108 мг/л.

Цель исследования – создать модель экспериментального нефропатического типа генерализованного амилоидоза у старых крыс с применением для этой цели равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда; изучить его структурно-функциональные характеристики и оценить влияние профилактического применения сульфидной минеральной воды.

Материалы и методы исследования. Объектом исследования служили старые крысы (возраст 18-24 мес., масса тела 350-400 гр.). Эксперименты проводились в 3-х группах животных:

1-я группа – контрольная (10 интактных крыс);

2-я группа – амилоидная (10 крыс, с однократным введением равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда в дозе по 0,2 мл в пять точек инъекций (подкожно в подмышечные и паховые области слева и справа и внутрибрюшинно);

3-я группа – амилоидная – леченая (10 крыс, получавших на фоне введения амилоидогена минеральную воду внутривенно через зонд из расчета 10 мл/кг ежедневно с первых суток моделирования).

4-я группа – контроль с водопроводной водой (10 крыс, получавших на фоне введения амилоидогена водопроводную воду из расчета 10 мл/кг ежедневно с первых суток моделирования).

По истечении времени эксперимента (1 мес.) животные забивались под наркозом. Морфологическому исследованию на предмет выявления амилоидоза подвергаются внутренние органы. Образцы тканей фиксируются в 10% нейтральном формалине, с последующим приготовлением парафиновых срезов толщиной 5–6 микрон. Срезы окрашивались гематоксилином и эозином, конго красным. Изучение срезов проводилось в проходящем свете при помощи микроскопа Микмед-1 под увеличением $\times 80$, $\times 200$, $\times 400$.

Результаты и их обсуждение. Анализ данных показал, что при моделировании амилоидной нефропатии методом однократного введения амилоидогена через 1 мес. эксперимента снижение канальцевой реабсорбции воды обусловило достоверное относительно интактного фона увеличение диуреза. Через 2 мес. диурез снизился ниже фоновых значений, что было обусловлено резким уменьшением скорости клубочковой фильтрации, несмотря на падение канальцевой реабсорбции воды.

Применение воды «Редант-4Р» на фоне однократного введения амилоидогена, вызвало снижение диуреза относительно амилоидной группы животных в течение 1 мес. эксперимента. Скорость клубочковой фильтрации при этом оставалась достоверно ниже фона. Через 2 мес. отмечался рост спонтанного диуреза относительно групп с изолированным введением амилоидогена и контролем с водопроводной водой, хотя диурез оставался всё же достоверно ниже фоновых значений. Частичное восстановление диуреза происходило за счет прироста клубочковой фильтрации, несмотря на увеличение канальцевой реабсорбции.

Изучение ионоуретической функции в условиях спонтанного диуреза выявило резкое повышение экскреции натрия на протяжении 1 мес. эксперимента, и ее уменьшение ниже фоновых значений по истечении 2 мес. По истечении 2 мес. профилактического применения минеральной воды происходило достоверное увеличение натриуреза относительно группы животных с амилоидной нефропатией и контролем с водопроводной водой, но данные оставались ниже фоновых. Экскреция калия повышалась на протяжении обоих мес. В леченой минеральной водой группе спустя 2 мес. эксперимента экскреция калия с мочой имела тен-

денцию к снижению по сравнению с моделью амилоидоза. Достоверных отличий экскреции катиона от контрольной группы с водопроводной водой выявлено не было.

Экскреция кальция под влиянием амилоидогена повышалась на протяжении 2 месяцев эксперимента.

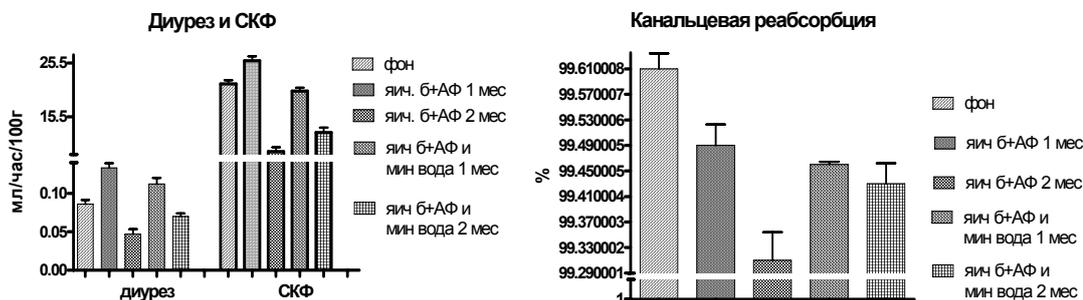


Рис. 1. Изменения спонтанного диуреза и основных процессов мочеобразования у крыс при воспроизведении экспериментального амилоидоза (яичный белок) и введении минеральной воды «Редант-4Р»

При профилактическом применении минеральной воды экскреция кальция через 1 мес. имела тенденцию к снижению, а через 2 месяца – была достоверно ниже модели нефропатии и контроля с водопроводной водой.

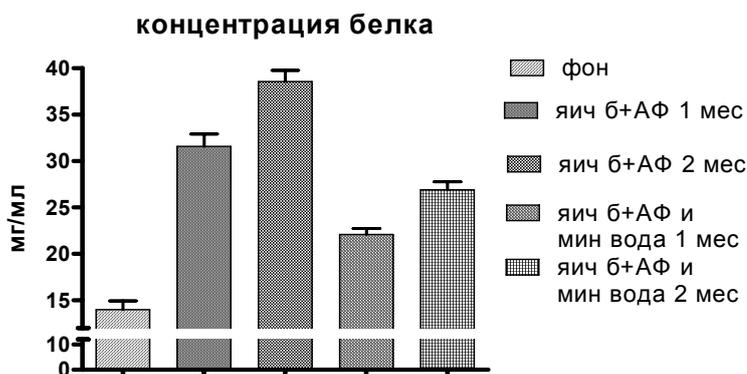


Рис. 2. Уменьшение величины протеинурии под влиянием минеральной воды «Редант-4Р» при экспериментальном амилоидозе

При однократном введении амилоидогена через 1 и 2 мес. эксперимента степень протеинурии была достоверно выше фона. Особенно по истечении 2 мес. на фоне применения минеральной воды – достоверно снижалась на протяжении эксперимента, но оставалась выше фоновых значений (рис.2).

В группе животных, получавших ежедневно внутрижелудочно минеральную воду «Редант-4Р» на фоне однократного введения нативного амилоидогена (рис.1), в течение первого месяца снижение скорости клубочковой фильтрации вызывало уменьшение объема спонтанного диуреза относительно амилоидной группы животных при имеющейся тенденции к снижению канальцевой реабсорбции. Через 2 мес. эксперимента отмечался рост спонтанного диуреза относительно группы с изолированным введением амилоидогена, хотя диурез оставался всё же достоверно ниже фоновых значений. Рост диуреза происходил за счет прироста скорости клубочковой фильтрации, несмотря на увеличение канальцевой реабсорбции воды.

Профилактическое применение сероводородной минеральной воды «Редант-4Р», выявило снижение экскреции натрия через 1 мес. эксперимента по сравнению с группой №2, а по истечении 2 мес. отмечалось увеличение натриуреза, но данные были ниже фоновых значений. Экскреция калия по истечении 1 мес. эксперимента достоверно не отличалась от данных амилоидной группы, а после 2 мес. уменьшалась относительно той же группы животных. Снижение кальция по сравнению с группой животных с изолированным введением амилоидогена отмечалось спустя 1 мес. эксперимента, через 2 мес. экскреция катиона приблизилась к значению таковой в амилоидной группе животных.

Применение минеральной воды «Редант-4Р» выявило значительное снижение содержания белка в моче через 1 и 2 мес. по сравнению с опытными животными (рис. 2).

Таким образом, проведенные исследования демонстрируют, что однократное введение старым крысам равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда вызывает выраженную протеинурию, изменение показателей электролито- и водовыделительной функций почек, что свиде-

тельствует о развитии нефропатической формы амилоидоза. Профилактическое применение сульфидной минеральной воды «Редант-4Р» на фоне введения амилоидогена способствует уменьшению изменений водовыделительной функции почек, вследствие уменьшения выраженности изменений канальцевой реабсорбции воды и скорости клубочковой фильтрации. Это приводит к значительному снижению протеинурии и частичному восстановлению показателей ионovýделительной функции почек. Прием минеральной воды оказывает определенное профилактирующее влияние на развитие нефропатической формы амилоидоза.

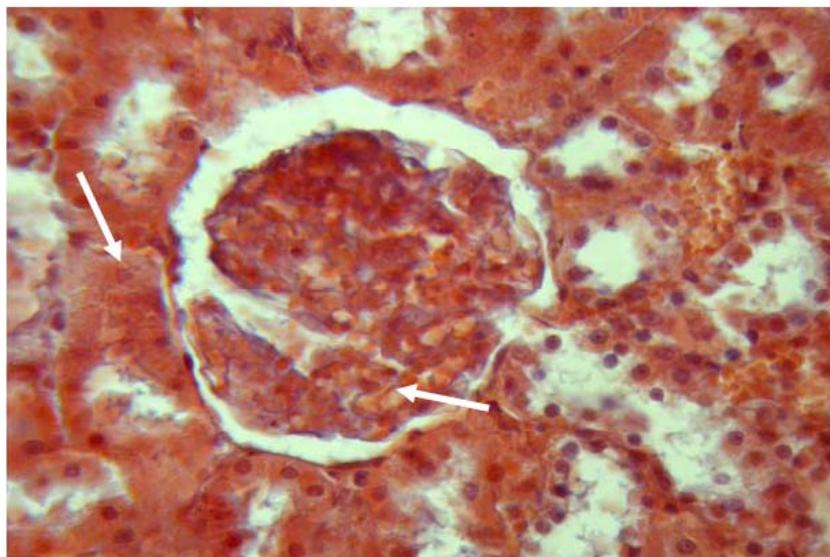


Рис. 3. Конгофилия стромально-сосудистых структур почки (стрелки), вызванная однократным подкожным введением равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда. Окраска конго красным ($\times 400$)

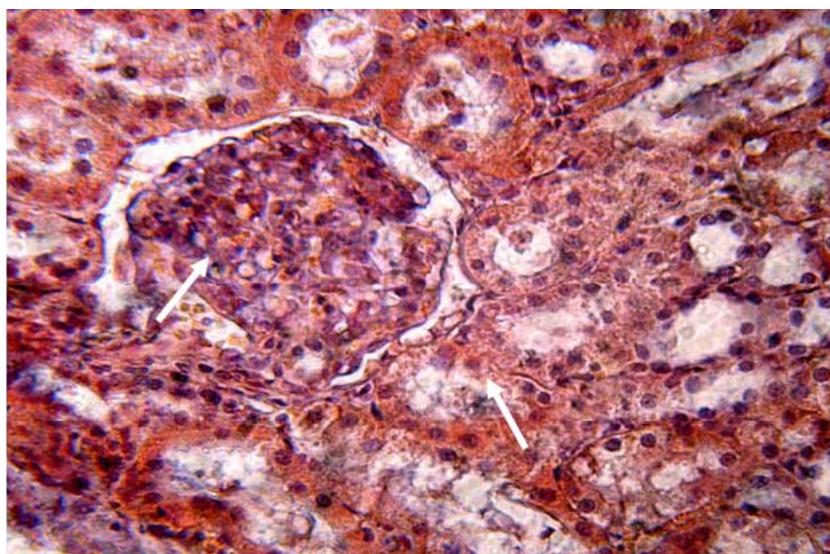


Рис. 4. Снижение признаков дистрофии и некроза. Уменьшение плазматического пропитывания стенок капилляров клубочка и стромального отека (стрелки). Окраска конго красным ($\times 400$)

Микроскопически при окраске гематоксилином и эозином отмечались отек, фибриноидное набухание и очаговый некроз базальных мембран, мальпигиевых клубочков и их капсул, с серозно-фибринозным экссудатом в просвете капсул. Наблюдались полнокровие, очаговые кровоизлияния, ярко выраженное плазматическое пропитывание сосудов системы микроциркуляции. Выявлялись дистрофия и очаговый некроз эпителия преимущественно проксимальных, и в меньшей степени, дистальных канальцев, разрыхление их базальной мембраны.

При окраске срезов красным конго (рис.3) отмечалась выраженная конгофилия медуллярных и кортикальных стромально-сосудистых структур почек, в большей степени проявлявшаяся в мальпигиевых клубочках, капсуле Шумлянско-Боумана, базальных мембранах канальцев, гистоструктурах почечной лохан-

ки и чашечек. Выявлялась слабая эндотелиальная реакция капилляров клубочков и сосудов микроциркуляторного русла стромы почки, особенно коркового слоя.

Под влиянием сульфидной воды выявлено снижение признаков конгофилии кортикальных и медуллярных сосудов, уменьшение отложения конгофильных субстанций в канальцах и клубочках почек, снижение признаков паренхиматозной дистрофии канальцев. В корковом и мозговом слоях отмечалось существенное снижение гиперемии, отека и плазматического пропитывания стенок кортикальных и медуллярных сосудов, компенсаторная пролиферация эндотелия капилляров и мезангиоцитов клубочка.

Выявлено уменьшение плазматического пропитывания стенок капилляров клубочка и интеркапиллярного отека, очаговая периваскулярная лимфогистиоцитарная реакция элементов коркового и мозгового вещества почки на фоне слабой эндотелиальной реакции капилляров клубочков и сосудов микроциркуляторного русла стромы почки, преимущественно коркового слоя.

Выводы. Однократное подкожное введение старым крысам равнодолевой смеси нативного яичного альбумина и полного адьюванта Фрейнда из расчета по 0,2 мл в 5 точек инъекций является эффективным способом моделирования экспериментального генерализованного амилоидоза и его нефропатического вида, что сопровождается выраженной протеинурией, изменением показателей электролитно- и водовыделительной функций почек. Профилактическое применение сульфидной минеральной воды «Редант-4Р» на фоне подкожного введения предложенного амилоидогена, способствует уменьшению изменений водовыделительной функции почек, вследствие уменьшения выраженности изменений канальцевой реабсорбции воды и скорости клубочковой фильтрации, способствующая значительному снижению протеинурии и степени выраженности гистоструктурных признаков амилоидоза. Морфологически введение амилоидогена сопровождается отложением амилоидположительных структур в параплазматической субстанции, стенках артериол, сосудистых клубочках, базальной мембране канальцевого эпителия, чашечно-лоханочной системе.

Литература

1. *Беликова, А.Т.* Влияние галавита на функционально-морфологическое состояние почек, перекисное окисление липидов и антиоксидантную систему при нефропатическом типе генерализованного амилоидоза / А.Т. Беликова, В.Б. Брин, Т.В. Закс, К.М. Козырев //Кубанский научный медицинский вестник.– 2012.– №3.– С. 30–36.
2. *Габуева, А.А.* Влияние сульфидной минеральной воды «Редант-4Р» на функциональное состояние почек при нефропатическом типе генерализованного амилоидоза / В.Б. Габуева, В.Б. Брин, К.М. Козырев // Владикавказский медико-биологический вестник.– 2009-2010.– Т.IX.– С.101–104.
3. *Габуева, А.А.* Функционально-морфологическая характеристика и экспериментальная профилактика развития модели генерализованного амилоидоза у крыс. Автореф. дисс. канд. мед. наук / А.А. Габуева.– Владикавказ, 2011.– 22 с.
4. *Кисиева, З.А.* Патоморфологическая характеристика новой модели экспериментального амилоидоза нефропатического типа у золотистых сирийских хомяков / З.А. Кисиева, Т.В. Закс, К.М. Козырев //Вестник новых медицинских технологий.– 2013.– Т. XX.– № 1.– С. 109–113.
5. *Козырев, К.М.* Морфобиохимические особенности β -амилоидозов мозга у долгожителей / К.М. Козырев, С.П. Сяткин, Т.Т. Березов // Вестн. РАМН.– 2002.– № 7.– С. 3–9.
6. *Пухова, И.У.* Влияние янтарной кислоты на функциональное состояние почек при нефропатическом типе генерализованного амилоидоза / И.У. Пухова, В.Б. Брин, К.М. Козырев //Вестник МАНЕБ.– 2008.– Т.14.– №3.– С.34–37.
7. Acceleration of murine AA amyloidosis by oral administration of amyloid fibrils extracted from different species / D. Cui [et al.]// Pathol. Int.– 2002.– Vol. 52.– N 1.– P.40–45.
8. *Goettea, A.* Atrial amyloidosis and atrial fibrillation: a gender-dependent “arrhythmogenic substrate”? / A. Goettea, C. Roecken // European Heart Journal.– 2004.– 25.– P. 1185–1186.
9. *Roecken, C.* Pathology, diagnosis and pathogenesis of AA amyloidosis / C. Roecken, A. Shakespeare // Virchows Arch.– 2002.– 440.– P. 111–122
10. Proteolysis of serum amyloid A and AA amyloid proteins by cysteine proteases: cathepsin B generates AA amyloid proteins and cathepsin L may prevent their formation / C. Roecken [et al.] //Ann.Rheum.Dis.– 2005.– 64.– P. 808–815