

Влияние природных цеолитов на функции почек крыс в условиях острой почечной недостаточности

А.Д. Герасев, С.Н. Луканина,
Г.А. Святаш, Р.И. Айзман

Influence of natural zeolites on the renal function in rats with acute renal failure

A.D. Gerasev, S.N. Lukanina, G.A. Svyatash, R.I. Aizman

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, природные цеолиты, показатели плазмы крови, функции почек.

Изучалось влияние природных цеолитов, используемых в качестве пищевой добавки, на гомеостатические показатели крови и функции почек крыс с экспериментальной острой почечной недостаточностью (ОПН).

Изучение функций почек проводили путем анализа фоновых проб мочи и оценки почечной реакции на 5% водную нагрузку. Под эфирным наркозом из нижней полой вены забирали пробы крови объемом 5 мл для анализа показателей плазмы крови. В пробах мочи и плазмы определяли концентрацию креатинина по цветной реакции Яффе, концентрацию мочевины по цветной реакции с использованием парадиметиламинобензальдегида, концентрацию натрия и калия – методом пламенной фотометрии, осмолярность – методом криоскопии. Парциальные функции почек рассчитывали по общепринятым формулам.

При ОПН у животных увеличивалось содержание креатинина и мочевины в плазме крови соответственно с $2,1 \pm 0,1$ до $8,1 \pm 1,1$ мг/% и с $39,2 \pm 4,4$ до $322,8 \pm 65,0$ мг/%. Существенно снижалась при этом скорость клубочковой фильтрации и уровень относительной реабсорбции жидкости.

После трехдневного приема цеолитов у животных с ОПН в плазме крови происходило достоверное снижение концентрации креатинина и мочевины по сравнению с крысами, находящимися на стандартной диете. Цеолитовая диета также способствовала нормализации гидроуретической функции почек, что проявилось в повышении скорости клубочковой фильтрации и уровня относительной реабсорбции жидкости.

Effect of natural zeolites as a food supplement on renal function and plasma in rats with acute renal failure has been studied. Renal function was determined using urine collected from rats placed in metabolic cages in basal conditions and following intragastric intake of 5% water load. Samples of blood were collected in anesthetized animals by puncture of v. cava inferior. The parameters of urine and plasma such as concentration of creatinine, urea, sodium, potassium and osmolality were measured.

In rats with acute renal failure (ARF) creatinine and urea concentration in plasma increased from $2,1 \pm 0,1$ to $8,1 \pm 1,1$ mg% and from $39,2 \pm 4,4$ to $322,8 \pm 65,0$ mg% respectively. GFR and tubular fluid reabsorption decreased significantly. In 3 days following zeolites intake there was significant decrease of creatinine and urea concentration in plasma of ARF rats compare to ARF animals on regular diet. Zeolites diet also affected the renal processes that reflected in increase of GFR and tubular fluid reabsorption as well elevation of diuresis.

Thus, zeolites as diet supplement can be used to normalize renal function and water-salt homeostasis in rats with experimental model of acute renal failure.

Введение

В последнее время все большую актуальность приобретают вопросы диагностики и лечения острой почечной недостаточности (ОПН). Это связано со значительным возросшей частотой возникновения ОПН, тяжестью течения, высокой летальностью и неблагоприятными

исходами [8, 10, 17, 19, 20]. По данным R.J. Anderson, R.W. Schrier [18], за последние 2 года на 1 млн человек приходится 173 случая ОПН, а в возрасте старше 65 лет – 500 случаев ОПН. Причиной госпитализации 7–23% больных является ОПН [8]. Хотя в клинической практике для лечения почечной недостаточности широко применяются различные методы и лекарственные препараты

Таблица 1

Показатели плазмы крови у крыс с острой почечной недостаточностью (M ± m)

Группы животных	Р Na, ммоль/л	Р К, ммоль/л	Рос m, ммоль/л	Рсг, мг%	Рур, мг%
1 гр. (контроль)	148,8 ± 0,8	3,4 ± 0,2	293,8 ± 3,9	2,1 ± 0,1	39,2 ± 4,4
2 гр. (ОПН)	146,8 ± 3,8	4,1 ± 0,3 ^Δ	304,3 ± 9,7	8,1 ± 1,1 ^Δ	322,8 ± 65,0 ^Δ
3 гр. (ОПН + цеолит)	136,3 ± 4,0 ^Δ	3,1 ± 0,2*	299,0 ± 7,9	3,9 ± 0,9*	109,5 ± 29,3* ^Δ

Здесь и в последующих таблицах:

^Δ – достоверные отличия по сравнению с контролем;

* – достоверные отличия между экспериментальными группами

[4, 8, 11], тем не менее проблема разработки и использования новых протекторов занимает важное место в экспериментальной и клинической нефрологии. Эти обстоятельства послужили основой для выяснения возможности использования природных цеолитов, обладающих выраженными сорбционными и ионообменными свойствами [5], в качестве сорбента при ОПН.

Целью настоящей работы явилось изучение влияния природных цеолитов, используемых в качестве пищевой добавки, на гомеостатические показатели крови и функции почек крыс с экспериментальной моделью ОПН.

Материалы и методы экспериментальных работ

Исследование проводили на взрослых крысах линии Вистар обоого пола массой 200–250 граммов. Все животные были разделены на 3 группы: контрольную (группа 1, n = 6) и экспериментальную (n = 11), которая в свою очередь подразделялась еще на две: группа 2 (n = 6) и группа 3 (n = 5). Во 2 и 3 группах моделировали состояние острой почечной недостаточности [21]. Для этого в течение 24 часов перед началом эксперимента все животные подвергались дегидратации. Затем в бедренные мышцы обеих конечностей крыс вводили 50% раствор глицерина из расчета 10 мл на 1 кг массы тела. В корм животных третьей группы добавляли порошкообразный цеолит Шивыртуйского месторождения (95% клиноптилолит и его геохимические разновидности; фракция 0–1 мм) из расчета 5% от массы корма. Выбранная доля цеолита в корме соответствует дозам, применяемым другими исследователями [13, 15, 16]. Животным контрольной группы в бедренные мышцы вводили раствор Рингера в том же объеме, что и глицерин в экспериментальной группе. После инъекции растворов крысы имели свободный доступ к воде и пище. На третьи сутки эксперимента проводили исследование функций почек путем анализа фоновых проб мочи, собранной в метаболических клетках за 6–8 часов наблюдения, и оценки почечной реакции на 5% водную нагрузку, введенную в желудок через зонд. Пробы мочи собирали в течение 3 часов. После этого под эфирным наркозом из нижней полой вены брали пробы крови объемом 5 мл для последующего анализа физико-химических показателей плазмы крови.

В пробах мочи и плазмы определяли концентрацию креатинина по интенсивности цветной реакции Яффе («Sprekol», λ = 490 нм), концентрацию мочевины по цветной реакции с использованием парадиметиламинобензальдегида («Sprekol», λ = 343 нм), концентрацию натрия и калия – методом пламенной фотометрии («FLAPHO-4»), осмолярность – методом криоскопии (осмометр «MT-2»). Парциальные функции почек рассчитывали по общепринятым формулам [9]. Различия показателей между группами оценивали методом вариационной статистики по непараметрическому критерию Вилкоксона-Манна-Уитни для независимых выборок и считали достоверными при p < 0,05 [7].

Результаты и обсуждение

Показатели плазмы крови крыс с острой почечной недостаточностью. Данные, приведенные в табл. 1, показывают, что в крови крыс с ОПН происходят существенные изменения концентрации мочевины, креатинина, ионов натрия и калия. Так, у животных 2-й группы значительно повышалась концентрация креатинина и мочевины, отмечалась выраженная тенденция к гиперкалиемии и гипонатриемии, т. е. гомеостатические сдвиги, характерные для почечной недостаточности. У крыс 3-й группы после трехдневного приема цеолитов происходило достоверное снижение концентрации креатинина, калия и мочевины по сравнению с экспериментальными животными, находящимися на стандартном пищевом рационе.

Таким образом, цеолитовая диета способствовала нормализации ионо-осмотических показателей плазмы крови у крыс с ОПН.

Не менее важным было оценить влияние цеолитов на функциональное состояние почек.

Гидроуретическая функция почек. Анализ фоновых проб мочи показал, что у крыс 3-й группы развивалась полиурическая фаза (достоверное увеличение диуреза и снижение экскреции осмотически активных веществ), несмотря на существенное снижение СКФ. Такая реакция была обусловлена уменьшением относительной реабсорбции жидкости. Цеолитовая диета способствовала нормализации гидроуретической функции почек, что проявилось в повышении СКФ и % RH₂O по сравнению с аналогичными показателями животных 2-й группы.

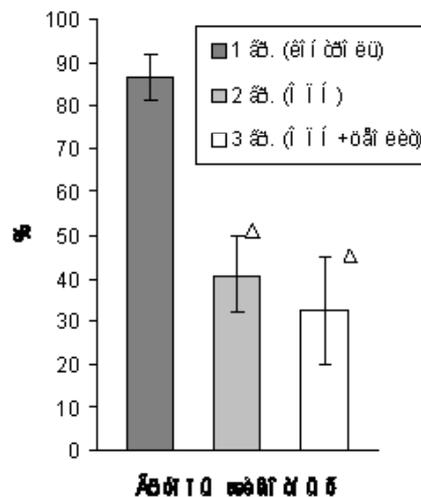


Рис. 1. Выведение водной нагрузки

Таблица 2

Гидроуретическая функция почек крыс в покое и после водной нагрузки ($M \pm m$)

Показатели	1 гр. (контроль)		2 гр. (ОПН)		3 гр. (ОПН + цеолит)	
	Фон	Среднее за 3 часа	Фон	Среднее за 3 часа	Фон	Среднее за 3 часа
V, мл/100 г час	0,2 ± 0,02	1,6 ± 0,3	0,3 ± 0,1 ^Δ	0,7 ± 0,3 ^Δ	0,2 ± 0,1	0,6 ± 0,3 ^Δ
СКФ, мл/100 г час	17,7 ± 2,9	20,3 ± 3,1	6,8 ± 1,0 ^Δ	12,7 ± 2,2 ^Δ	15,0 ± 5,8	14,9 ± 5,3
% R _{H₂O}	99,2 ± 0,1	91,7 ± 1,1	95,6 ± 0,8 ^Δ	92,3 ± 2,0	97,2 ± 0,9 ^Δ	95,2 ± 1,3 ^Δ
Сост, мл/100 г час	0,8 ± 0,1	0,6 ± 0,1	0,5 ± 0,1 ^Δ	0,5 ± 0,1	0,4 ± 0,1 ^Δ	0,4 ± 0,2

Таблица 3

Ионоуретическая функция почек крыс в покое и после водной нагрузки ($M \pm m$)

Показатели	1 гр. (контроль)		2 гр. (ОПН)		3 гр. (ОПН + цеолит)	
	Фон	Среднее за 3 часа	Фон	Среднее за 3 часа	Фон	Среднее за 3 часа
Уна V, ммоль/100 г час	21,3 ± 8,5	21,5 ± 4,4	10,5 ± 4,4 ^Δ	7,2 ± 1,9 ^Δ	12,0 ± 6,1 ^Δ	8,5 ± 6,2 ^Δ
УК V, ммоль/100 г час	33,2 ± 4,3	16,2 ± 2,1	25,9 ± 4,6	18,2 ± 3,5	15,6 ± 4,2 ^Δ	5,8 ± 1,6 ^{Δ*}
EF _{Na} %	0,93 ± 0,31	0,97 ± 0,29	0,50 ± 0,22 ^Δ	0,35 ± 0,13 ^Δ	0,74 ± 0,45 ^Δ	0,27 ± 0,11 ^Δ
EF _K %	61,9 ± 16,1	26,2 ± 6,02	99,2 ± 19,2 ^Δ	45,6 ± 7,7 ^Δ	42,1 ± 12,4 ^{Δ*}	21,2 ± 5,8 [*]

Однако наиболее информативной характеристикой функциональных возможностей почек является их способность экскретировать водно-солевые нагрузки [1, 3]. Поэтому на следующем этапе был исследован почечный ответ крыс на 5% водную нагрузку, вызывающую максимальную гидроуретическую реакцию [2]. К удивлению, животные третьей группы за время наблюдения экскретировали примерно такой же объем жидкости, что и во второй группе (30–40%), то есть почти в 2–2,5 раза меньше, чем в контроле (рис. 1). Действительно, между экспериментальными животными 2-й и 3-й групп не отмечено различий в почечной реакции на водную нагрузку, однако в обеих группах скорость мочеотделения достоверно ниже контрольных значений (табл. 2).

Поскольку цеолиты обладают ионообменными свойствами [5], представлялось актуальным исследовать их влияние на ионоуретическую функцию почек.

Ионоуретическая функция почек крыс. У крыс с ОПН отмечалось достоверное уменьшение фоновой экскреции натрия и калия почками по сравнению с животными контрольной группы. Это изменение было обусловлено снижением фильтрационной загрузки нефронов, поскольку экскретируемые фракции катионов оставались в пределах фоновых значений. Только у животных 2-й группы существенно увеличивалась EF_K, вероятно, в результате усиления секреции катиона при гиперкалиемии (табл. 3).

После водной нагрузки показатели экскреции ионов (особенно ионов калия) и их экскретируемых фракций уменьшались. У крыс 3-й группы такое снижение было выражено в большей степени, чем в контроле и у животных 2-й группы. Подобный эффект мы наблюдали в ранее проведенных экспериментах на крысах, содержащихся на нормальной и высоконатриевой диетах [14].

Экскреция креатинина с мочой между группами существенно не различалась (контроль – 49,9 ± 3,9; 2-я гр. – 56,9 ± 1,5; 3-я гр. – 42,6 ± 2,9 мг/100 г час). В то же время, выведение мочевины почками достоверно уменьшалось у крыс с ОПН по сравнению со здоровыми животными (контроль – 696,0 ± 61,9; 2-я гр. – 405,5 ± 81,3; 3-я гр. – 374,4 ± 115,9 мг/100 г час).

Таким образом, результаты исследования функций почек и ионо-осмотических показателей плазмы крови крыс в условиях ОПН подтвердили существующие в литературе сведения о выявлении природных цеолитов, попадающих в желудочно-кишечный тракт (ЖКТ), сорбционных и протекторных свойств [5, 6]. Эти свойства наиболее ярко проявляются при гомеостатических сдвигах в организме.

Снижение концентрации креатинина и мочевины в плазме крови крыс, а также уменьшение экскреции ионов почками можно объяснить тем, что, адсорбируясь на цеолит, эти вещества выводятся организмом через ЖКТ, так как при ОПН почки не могут эффективно экскретировать метаболиты, жидкость и ионы. Следовательно, ЖКТ животных, находящихся на цеолитовой диете, выполняет резервную экскреторную функцию, «разгружая» почки и способствуя сохранению гомеостаза. Вероятно, часть ионов и метаболитов связывается с цеолитами и экскретируется с калом. О такой возможности свидетельствуют данные других исследователей, где показано, что в цеолитах, «прошедших» через желудочно-кишечный тракт, содержится гораздо больше ионов, чем до попадания в организм [12].

Полученные результаты впервые демонстрируют возможность использования цеолитов для поддержания гомеостаза и «разгрузки» почек при ОПН.

Литература

1. Айзман Р.И., Айзман Л.К., Васенева Л.А. и др. Оценка почечной функции у больных с разными формами гломерулонефрита при использовании нагрузочных проб: II-й Всесоюз. съезд нефрологов. – Баку–М.–Л., 1980. – 199 с.
2. Айзман Р.И., Антоненко Н.П., Великанова Л.К. Интеграция механизмов регуляции водно-солевого равновесия при возрастающих водных, солевых и объемных нагрузках // Физиол. ж. СССР. – 1980. – 66. – 9. – С. 1404–1411.
3. Айзман Р.И., Великанова Л.К. Оценка водно-солевого обмена и функции почек с помощью нагрузочных проб // Новые методы научных исследований в клинической и экспериментальной медицине. – Н., 1980. – С. 5–13.
4. Фон Аппен К., Стецюк Е.А. Непрерывные методы детоксикации при ОПН // Урол., нефрол. – 1997. – 1. – С. 16–18.
5. Велицкий И.А., Панин Л.Е. Минерало-физико-химические свойства и биологическая активность цеолитсодержащих горных пород // Физико-химические и медико-биологические свойства природных цеолитов: Сб. науч. тр. / Под ред. Л.Е. Панина. – Н., 1990. – С. 5–13.
6. Гайдаш А.А., Ржавин А.Ф., Пуликов А.С. и др. Влияние цеолитового энтеросорбента на выживаемость и общее состояние крыс в период постсулеговой реабилитации // Вестник научных исследований. – 1997. – 4. – С. 5–31.

7. *Лакин Г.Ф.* Биометрия. – М.: Высш. шк., 1990.
8. *Лукичев Б.Г., Федотова И.В.* Острая почечная недостаточность: современное состояние проблемы // Нефрология. – 1999. – 3. – 1. – С. 20–33.
9. *Наточин Ю.В.* Физиология почки: формулы и расчеты. – Л., 1974.
10. *Никифоров Ю.В.* Непрерывная гемодиализация // Анест. и реаниматол. – 1996. – 3. – С. 60–63.
11. *Николаев А.Ю., Милованов Ю.С.* ОПН: диагностика, выбор метода терапии, прогноз и исходы // Тер. арх. – 1997. – 6. – С. 68–70.
12. *Паничев А.М.* Значение литофагии в жизни диких животных // Дан. СССР. – 1989. – 306. – 4. – С. 1018–1021.
13. *Паничев А.М., Амелин С.Н., Бутенко Т.Ю.* Закономерности ионного обмена на цеолитах в пищеварительном тракте домашних и диких жвачных животных // Физико-химические и медико-биологические свойства природных цеолитов: Сб. науч. тр. / Под ред. Л.Е. Панина. – Н., 1990. – С. 52–58.
14. *Святаш Г.А., Луканина С.Н., Лесина М.А.* Влияние природных цеолитов на функции почек и водно-электролитный баланс тканей: Сб. науч. раб. студентов и молодых ученых. – Н.: ГЦРО, 2000. – Вып. 2. – С. 104–109.
15. *Титов В.А.* Некоторые медико-биологические аспекты добавления в пищевой рацион цеолитсодержащих пород // Физико-химические и медико-биологические свойства природных цеолитов: Сб. науч. тр. / Под ред. Л.Е. Панина. – Н., 1990. – С. 99–104.
16. *Чурин Б.В.* Влияние цеолитсодержащего туфа на массу тела растущих крыс / Физико-химические и медико-биологические свойства природных цеолитов: Сб. науч. тр. Под ред. Л.Е. Панина. – Н., 1990. – С. 104–107.
17. *Allen R. Nissenon.* Acute renal failure: Definition and pathogenesis. *Kidney Int.* 1998; 53; 7–10.
18. *Anderson R.J., Schrier R.W.* Acute renal failure. *Diseases of the Kidney* 6th edition. Ed. R.W. Shrier., C.W. Gottschalk. Little Brown and C. 1997; 1069–1104.
19. *Brady H.* Leukocyte adhesion molecules and kidney disease. *Kidney Int.* 1994; 45; 1285–1290.
20. *Schiffi H., Lang S.M., Konig A.* et. al. Biocompatible membranes in acute renal failure: progressive case-controlled study. *Lancet.* 1994; 344; 570–572.
21. *Sbustin A., Wald H., Popovtzer M.M.* Role of Down-Regulated CHIF mRNA in Pathophysiology of Hyperkalemia of Acute Tubular Necrosis. *American Journal of Kidney Diseases.* 1998; 32; 600–604.