

УДК: 616.6-636.09-615.3

DOI: 10.17238/issn2072-2419.2021.1.81

ЭФФЕКТИВНОСТЬ КОМПЛЕКСА ЛЕКАРСТВЕННЫХ РАСТИТЕЛЬНЫХ ПРЕПАРАТОВ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА У КРЫС

1Леонова Ю.В. ветеринарный врач, 1Сивак К.В. к.,б.н., 1Печникова Н.А. лаборант, 1Оршанская Я.Р. лаборант, 2Ковалёв С.П. д.вет.н., проф. (ORCID:0000-0001-9130-164X),

1. ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский химико-фармацевтический университет»
2.ФГБОУ ВО «Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины»

Ключевые слова: крысы, мочекаменная болезнь **Key words:** rats, urolithiasis disease

РЕФЕРЕТ



В данном исследовании проводился сравнительный анализ терапевтического эффекта комплекса лекарственных растительных препаратов на основе извлечений из касатика тонколистного и цистона в сочетании с дротаверина гидрохлоридом при оксалатном нефролитиазе у крыс. В течение 45 дней животных поили с помощью желудочного зонда 0,75% этиленгликоль вместе с 2% раствором хлорида аммония. Через 45 дней после введения этих препаратов, для подтверждения развития мочекаменной болезни у части животных осуществлялось взятие образцов крови (из задней полой вены) и мочи (метаболические клетки, 12 часов) на биохимический анализ с определением следующих показателей: мочевины, креатина, альбумина, щелочная фосфатаза, АлТ, АсТ, АЛР, СНО, ВUН, СRE, GGT (автоматический анализатор XL Erba Lachemab), общий анализ мочи с определением лейкоцитов, кетонов, нитритов, уробилиногена, билирубина, белка, глюкозы, плотности, крови, рН (на мочевом анализаторе CL-50- HT). Ультразвуковое исследование почек крыс на модели оксалатного нефролитиаза не выявило видимых конгломератов, что не позволило данным методом диагностировать развитие МКБ у крыс. Наибольшее позитивное фармакодинамическое действие в отношении уродинамики и показателей мочи проявили препараты, применённые комплексно во 2-й группе животных - БАД Нефромон + Дротаверин, вероятно, за счёт их быстрого нефропротекторного и спазмолитического действия. При комбинированном использовании препаратов Но-шпа (дротаверина гидрохлорид) и цистон, БАД Нефромон-Плюс в двух разных группах лабораторных крыс показан терапевтический эффект. На фоне проводимой терапии у животных происходила нормализация клинических показателей нефролитиаза: анализов крови и мочи.

ВВЕДЕНИЕ

Мочекаменная болезнь в ветеринарной медицине среди незаразных болезней продолжает занимать одну из ведущих позиций в перечне часто встречаемой патологии. При этом общая инцидент-

ность патологий мочевыделительной системы у мелких домашних животных, в том числе и кошек, составляет в среднем 7,7-11,0%. Как известно, важнейшим звеном патогенеза мочекаменной болезни (МКБ) является появление в моче, прохо-

дящей по системе нефрона, органоколлоидных солей кальция, фосфора, мочевой кислоты в высоких концентрациях, которые затем выпадают в осадок, образуют конгломераты, провоцирующие развитие нефролитиаза (концентрирование мочи может приводить к созданию пересыщенных растворов солей, приводящее к их выпадению в просвет мочевых путей при определенных условиях) [3, 4, 8]. Почечные камни могут различаться по химическому составу и строению, однако большинство из них представляют собой кальциевую соль щавелевой кислоты (CaC_2O_4), поэтому наиболее часто встречающаяся клиническая формой МКБ - это так называемый оксалатный нефролитиаз, встречающийся при нарушениях обмена веществ, связанного с питанием, а струвитный – с инфекцией мочевыводящей системы [5, 8, 10].

Обструктивная мочекаменная болезнь обычно ассоциируется с частичной или полной закупоркой уретры одним или несколькими конгломератами, которые приводят к блокированию оттока мочи [8].

В настоящее время важной этиологической причиной развития мочекаменной болезни у животных является фактор кормления, помимо этого также рассматриваются: сексуальная активность, гормональные изменения, гиподинамия, анатомические отклонения и пр. По ряду зарубежных и отечественных публикаций данная патология характеризуется значительным нарушением обмена веществ, оксидативным стрессом, нарушением гемодинамики, ацидозом и некрозом ткани почек с последующим формированием и отложением конкрементов в органах мочевыделительной системы, а также отсутствием в патогенезе специфических патогномоничных признаков, что препятствует своевременно выявлять МКБ [1, 9, 11].

Несмотря на уже существующие методы симптоматического лечения, проблема терапии МКБ у животных остаётся не полностью решённой. На сегодняшний день самыми безопасными с мягким нача-

лом действия являются препараты растительного происхождения. При комплексном лечении животных, больных МКБ, применяют Цистон, БАД Нефромон-Плюс и другие препараты, а также миотропные спазмолитики [2, 3, 6, 7, 12].

Цистон является комбинированным растительным препаратом, оказывающим диуретическое, спазмолитическое, литолитическое, противомикробное (в отношении *Klebsiella* spp., *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* и других грамотрицательных бактерий) и противовоспалительное действие, регулирует кристаллоколлоидный баланс при дисметаболической нефропатии в независимости от pH мочи, снижает образование камней (щавелевая кислота, кальций, гидроксипролин), стимулируя диурез и расслабляя гладкую мускулатуру мочевого тракта.

БАД НефромонR-Плюс - препарат растительного происхождения, в состав которого входит сырьё Касатика тонколистного (*Iris tenuifolia*), обладающего нефрозащитным действием, способствующего нормализации фильтрационной и выделительной функции почек, улучшающего процесс микроциркуляции почек. Считается, что активность и лечебный эффект препарата проявляется за счёт входящих в его состав флавоноидов. Помимо этого, Нефромон-Плюс обладает нефропротекторным действием, т.к. повышает сопротивляемость почек к негативным факторам и повреждениям, способствует правильной работе почек по поддержанию водно-солевого баланса, нормализует выделительные процессы и содержание белка в моче, улучшает процессы микроциркуляции и фильтрации; препятствует отложению различных соединений [3].

Целью настоящей работы было изучить эффективность препаратов Цистон в комбинации с Дротаверином и БАД Нефромон-Плюс на больных МКБ крыс.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование проводилось на 35 беспородных крысах-самках массой $250,0 \pm 25,0$ гр., полученных из питомника ПЛЖ «Рапполово». Животные содержа-

Таблица 1.

Способ введения и дозы препаратов для лечения больных МКБ крыс

№ Группы	Применяемые препараты	n	Доза препарата, вводимая per os, крысам весом 250 г, способ введения
1.	Интактные	5	Физраствор 0,5 мл
2.	БАД Нефромон+ Дротаверин	10	Нефромон 0,5 мл + Но-шпа 16 мг
3.	Цистон+Дротаверин	10	Цистон 113,6 мг + Но-шпа 16 мг
4.	Контроль (патология без лечения)	10	-

лись в стандартных условиях вивария при естественном освещении на сбалансированном кормовом рационе. Животные были распределены по группам случайным отбором по массе тела так, чтобы индивидуальный вес тела входил в диапазон вариации $\pm 10\%$ от среднего значения показателя на группы, представленные в таблице 1.

Ежедневно у всех животных проводился клинический осмотр, один раз в неделю животных взвешивали. В течение 45 дней животных поили с помощью желудочного зонда 0,75% этиленгликоль вместе с 2% раствором хлорида аммония. Через 45 дней после введения этих препаратов, для подтверждения развития мочекаменной болезни у части животных осуществлялось взятие образцов крови (из задней полой вены) и мочи (метаболические клетки, 12 часов) на биохимический анализ с определением следующих показателей: мочевины, креатинина, альбумина, щелочная фосфатаза, АлТ, АсТ, ALP, СНО, BUN, CRE, GGT (автоматический анализатор XL Erba Lachemab), общий анализ мочи с определением лейкоцитов, кетонов, нитритов, уробилиногена, билирубина, белка, глюкозы, плотности, крови, pH (на мочевом анализаторе CL-50- NT).

У подопытных крыс были выявлены клинические признаки МКБ - неестественно согнутая поза, снижение аппетита, осадок в моче, видимый невооружённым глазом, уменьшение количества мочи.

После подтверждения развития МКБ у подопытных крыс проводились терапевтические мероприятия, представленные в таблице 1.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ОБСУЖДЕНИЕ

Моделирование оксалатного нефролитиаза сопровождалось достоверным увеличением мочевой экскреции солей, формирующих видимую невооружённым глазом мутность, при снижении абсолютного суточного мочеиспускания (см. таблицу 2).

Выделение белка и лейкоцитов с мочой (собранной за 24 часа) соотносилось со степенью мутности и наличием микрокристаллов в осадках мочи подопытных животных. Однако в нашем эксперименте не было выявлено признаков гиперазотемии (см. таблицу 3), что могло свидетельствовать об отложении кристаллов в других нижележащих отделах мочеиспускательной системы.

Исследование образцов мочи животных показало, что наряду с развитием оксалатного нефролитиаза у крыс формировалась повреждение печени, что выражалось в увеличении выделения уробилиногена и билирубина с мочой, а также в повышении активностей аспартатаминотрансферазы и щелочной фосфатазы вследствие токсического действия препарата этиленгликоля, применяемого для моделирования МКБ у крыс, что видно из данных, приведённых в таблице 2 (в группах 3 и 4).

Таблица 2

Результаты общего клинического анализа мочи крыс из всех экспериментальных групп

Параметры	До воздействия	Экспериментальные группы			
		Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
		после	после	после	после
Лейкоциты, кл/мкл	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	3,0±6,7	3,0±6,7
Кетоны, ммоль/л	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,1±0,2
Нитриты, ед.	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено	Не обнаружено
Уробилиноген ммоль/л	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	19,4±17,7*	39,6±36,1*
Билирубин, ммоль/л	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	10,3±13,5	19,8±18,1*
Белок, г/л	0,0±0,0	0,0±0,0	0,0±0,0	0,3±0,4	1,4±1,5*
Плотность, г/мл	1,019±0,010	1,021±0,009	1,015±0,010	1,020±0,015	1,018±0,012
pH, ед.	6,9±0,4	6,6±0,8	6,5±1,2	6,8±0,8	6,9±1,0

Примечание: * - по сравнению с данными до воздействия (фоном?) ($p \leq 0,05$)

Таблица 3

Результаты биохимического анализа крови крыс из всех экспериментальных групп

Параметры	До воздействия	Экспериментальные группы			
		Группа 1	Группа 2	Группа 3	Группа 4
АЛТ, Ед/л	43,8±3,1	48,4±6,9	53,6±4,7*	53,8±7,2*	45,2±3,8
АСТ, Ед/л	117,2±4,5	115,1±5,2	141,8±4,9*	137,1±7,7*	136,0±11,9*
ЩФ, Ед/л	138,8±22,9	129,4±18,1	147,6±24,5	171,4±23,2*	174,2±15,4*
Общий холестерин, ммоль/л	1,7±0,4	1,9±0,0	2,5±0,1*	1,9±0,0	2,3±0,1*
Мочевина, ммоль/л	6,5±0,3	6,4±0,2	6,5±0,1	7,8±0,1*	9,0±0,2*
Креатинин, мкмоль/л	68,0±0,3	68,0±0,2	70,0±0,1*	73,5±0,6*	190,1±0,2*

Примечание: * - по сравнению с данными до воздействия ($p \leq 0,05$)

Наличие белка в моче (протеинурия) у животных в группе 4 также свидетельствовало о поражении почек.

В таблице 3 у животных в группах 2 и 3 показатель крови «креатинин» находился в пределах нормативных значений, а у

крыс группы 6 он в три раза превышал референтные значения. Показатель «мочевина крови» был в пределах принятых нормативов у крыс в группах 2, а у животных 4 группы этот показатель был достоверно выше.

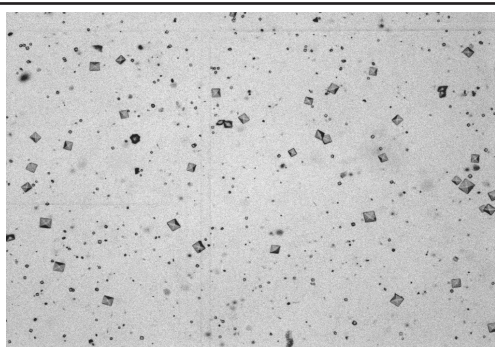


Рисунок 1. Осадок мочи крыс, содержащего кристаллы оксалата кальция, $\times 280$.



Рисунок 2. Срез почки крысы. В просвете канальцев микрокристаллы оксалата кальция. Окраска гематоксилином и эозином, поляризационная микроскопия, $\times 200$.

Ультразвуковое исследование почек крыс на модели оксалатного нефролитиаза не выявило видимых конгломератов, что не позволяет данным методом достоверно диагностировать развитие МКБ у крыс. В ходе УЗИ во всех подопытных группах не отмечалось наличия крупных конгломератов, что обусловлено развитием микроконгломератов не поддающихся визуальной диагностике, но определяющихся с помощью гистологического анализа тканей (рис. 2).

ВЫВОДЫ

Анализ полученных данных показал, что у животных при моделировании МКБ наряду с поражением почек было выявлено поражение печени, что обусловлено токсическим действием этиленгликоля, вызвавшего гипогликемию, гипокальциемию, метаболический ацидоз, отложение солей в почечных канальцах. Применение препаратов (БАД Нефромон + Дротаверин и Цистон + Дротаверин) по лечебной схеме оказало статистически достоверное действие в отношении уровня креатинина в крови животных с экспериментальной МКБ. Наибольшее позитивное фармакодинамическое действие в отношении уродинамики и показателей мочи проявили препараты, применённые комплексно во 2-й группе животных - БАД Нефромон + Дротаверин, вероятно, за счёт их быстрого нефропротекторного и спазмолитического действия.

EFFICACY OF A COMPLEX MEDICINAL HERBAL DRUG IN THE MODELING OF OXALATE NEPHROLITHIASIS IN RATS

Leonova Yu. V., veterinary doctor¹; Kovalev S. P. D.V.M., professor²; Sivak K. PhD of Biol.Sci¹; Pechnikova N. A. laboratory assistant¹; Orshanskaya Ya. R. laboratory assistant¹ (1. Saint-Petersburg State University of Chemistry and Pharmacy; 2. St. Petersburg State University of Veterinary Medicine)

In this study, a comparative analysis of the therapeutic effect of a complex medicinal herbal drug based on extracts from thin-leaved killer whale and "Cystone"TM in combination with drotaverine hydrochloride in oxalate nephrolithiasis in rats was carried out. For 45 days, the animals were fed 0.75% ethylene glycol with a 2% solution of ammonium chloride using a gastric tube. 45 days after the administration of these drugs, to confirm the development of urolithiasis in some animals, blood samples (from the posterior vena cava) and urine (metabolic cells, 12 hours) were taken for biochemical analysis with the determination of the following parameters: urea, creatine, albumin, alkaline phosphatase, ALT, AsT, ALP, CHO, BUN, CRE, GGT (automatic analyzer XL Erba Lachemab), general urine analysis with the determination of leukocytes, ketones, nitrites, urobilinogen, bilirubin, protein, glucose, density, blood, pH (on the CL-50 - HT

urinary analyzer). Ultrasound examination of the kidneys of rats on the model of oxalate nephrolithiasis did not reveal visible conglomerates, which did not allow this method to diagnose the development of ICD in rats. The most positive pharmacodynamic effect on urodynamics and urine parameters was demonstrated by the drugs used in a complex for the 2nd group of animals-dietary supplements "Nephromon" + drotaverine, probably due to their rapid nephroprotective and antispasmodic effects. The combined use of the drugs "No-shpa"™ (drotaverine hydrochloride) and "Cystone"™, dietary supplement "Nephromon-Plus" in two different groups of laboratory rats showed a therapeutic effect. Against the background of the therapy, the animals normalized the clinical parameters of nephrolithiasis: blood and urine tests.

ЛИТЕРАТУРА

- 1.Бажибина, Е.Б. Влияние посттравматической гипоксии на морфофункциональное состояние почек у собак // Е.Б.Бажибина, Ю.А.Ватников/ Международный вестник ветеринарии. СПб., 2008. № 2. С. 28-33.
- 2.Белоусова, Е.А Спазмолитики в гастроэнтерологии: сравнительная характеристика и показания к применению // Е.А Белоусова/ Фарматека.— 2002. — № 9. — С. 40–46.
- 3.Вошулова, В.И. Мочекаменная болезнь: этиотропное и патогенетическое лечение, профилактика// В.И.Вошулова/ Монография Мн.: ВЭВЭР, 2006 - 268 с.
- 4.Денисенко, В.Н. Болезни органов мочевыделительной системы у собак и кошек// В.Н.Денисенко, Ю.С.Круглова, Е.А.Кесарева/ М.: Зоомедлит, 2009 - 94 с.
- 5.Жариков, А.Ю. Современные методы моделирования оксалатного нефролитиаза// А.Ю. Жариков и др/ Нефрология. 2008, Т.12.- № 4.- С. 28-35.
- 6.Ковалев, С.П. Опыт лечения мочекаменной болезни у кошек с применением средств фитотерапии. /С.П.Ковалев, П.С.Киселенко// Международная научно-практическая конференция профессорско-преподавательского состава, научных сотрудников и аспирантов СПбГАВМ. СПб., 2016.- 37-38 с.
- 7.Трашков, А.П. Метаболическая терапия мочекаменной болезни на различных моделях поражения почек у крыс// А.П.Трашков и др./ Экспериментальная и клиническая фармакология. 2015.- 78 (3),- С. 17-21.
- 8.Щербаков, Г.Г. Внутренние болезни животных// Г.Г. Щербаков и др/ СПб, «Лань», 2020, 716 с.
- 9.Cruzan, G. Subchronic Toxicity of Ethylene Glycol in Wistar and F-344 Rats Related to Metabolism and Clearance of Metabolites// G. Cruzan et al./ TOXICOLOGICAL SCIENCES 81, 502–511 (2004) doi:10.1093/toxsci/kfh206.
- 10.Ewoldt, J.M., 2008. Surgery of obstructive urolithiasis in ruminants// J.M. Ewoldt, M.L. Jones, M.D. Miesner/ Vet. Clin. North Am.Food Anim. Pract. 24(3), P.455-465; https://www.researchgate.net/publication/280568048_A_Review_on_urolithiasis_in_dogs_and_cats.
- 11.Sarmistha Saha, Ramtej J. Verma. Ethylene glycol induced renal toxicity in female Wistar rats. Toxicology and Environmental Health Sciences. 2013, Volume 5, Issue 4, pp 207–214.
- 12.Stiani, S.N. Anticalculi Activity of Apigenin and Celery (Apium graveolens L.) Extract in Rats Induced by Ethylene Glycol-Ammonium Chloride. // S.N. Stiani et al./ J. Pharm Bioallied Sci. 2019; (Suppl 4):S556-S561. doi:10.4103/jpbs.JPBS_202_19.