

Министерство здравоохранения Российской Федерации
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
СЕВЕРО-ОСЕТИНСКАЯ ГОСУДАРСТВЕННАЯ МЕДИЦИНСКАЯ АКАДЕМИЯ
(ФГБОУ ВО СОГМА Минздрава России)

УДК: 616-092.9

Reg. N АААА-А18-118072690008-8



УТВЕРЖДАЮ

Ректор СОГМА

О.В. Ремизов

« 24 » января 2021 г.

ОТЧЕТ

О НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКОЙ РАБОТЕ

ИЗУЧЕНИЕ ПРОФИЛАКТИЧЕСКОГО И ЛЕЧЕБНОГО ДЕЙСТВИЯ
ГИДРОКАРБОНАТНОЙ УГЛЕКИСЛО-ХЛОРИДНО-НАТРИЕВОЙ
МИНЕРАЛЬНОЙ ВОДЫ НА ФУНКЦИИ ПОЧЕК, ПЕЧЕНИ И
ЖЕЛУДКА В НОРМЕ И ПРИ ИХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫХ
ПАТОЛОГИЯХ
(заключительный)

Руководитель НИР,
главный науч. сотр., ЦНИЛ,
д-р мед. наук, профессор

И.Г. Джиоев

Владикавказ 2021

СОДЕРЖАНИЕ

РЕФЕРАТ	4
ВВЕДЕНИЕ	5
1. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ОТЧЁТА О НИР	8
1.1 Создание экспериментальных моделей токсического поражения печени и внутрипечёночного холестаза	8
1.2 Создание экспериментальных моделей токсического поражения почек и аутоиммунного нефрита	9
1.3 Создание экспериментальной модели гиперацидного гастрита	10
1.4 Материалы и методы исследований	11
1.5 Влияние курсового приёма минеральной воды на морфологическую картину печени крыс с токсическим гепатитом	17
1.6 Влияние курсового приёма минеральной воды на перекисное окисление липидов и антиоксидантную защиту у крыс с токсическим гепатитом	18
1.7 Влияние курсового приёма минеральной воды на печёночные показатели у крыс с токсическим поражением печени	19
1.8 Влияние курсового приёма минеральной воды на гематологические показатели у крыс с токсическим поражением печени	22
1.9 Влияние минеральной воды на печёночные показатели у крыс с внутрипечёночным холестазом	24
1.10 Влияние однократного приёма минеральной воды на основные процессы мочеобразования	26
1.11 Влияние однократного приёма минеральной воды на гидремическую реакцию	28
1.12 Влияние курсового приёма минеральной воды на и основные процессы мочеобразования	30

1.13	Морфологическая характеристика почек при экспериментальной почечной недостаточности	33
1.14	Диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с почечной недостаточностью	35
1.15	Влияние минеральной воды на диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с почечной недостаточностью	38
1.16	Морфологическая характеристика почек при экспериментальном аутоиммунном нефрите	40
1.17	Влияние минеральной воды на диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с аутоиммунным нефритом	42
1.18	Влияние двенадцатидневного приёма минеральной воды на общее состояние и гематологические показатели у крыс с гиперацидным гастритом	46
1.19	Влияние двенадцатидневного приёма минеральной воды на морфологическую характеристику желудка крыс с гиперацидным гастритом	48
2. ЗАКЛЮЧЕНИЕ		51
3. СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ		54
ПРИЛОЖЕНИЕ А		61

РЕФЕРАТ

Отчет 62 с., 1 кн., 7 рис., 10 табл., 57 источн., 1 прил.

МИНЕРАЛЬНАЯ ВОДА, ТОКСИЧЕСКИЙ ГЕПАТИТ, ХОЛЕСТАЗ, ПОЧЕЧНАЯ НЕДОСТАТОЧНОСТЬ, АУТОИММУННЫЙ НЕФРИТ, ГАСТРИТ, ПЕЧЁНОЧНЫЕ ПОКАЗАТЕЛИ, ПЕРОКСИДАЦИЯ ЛИПИДОВ, ПРОЦЕССЫ МОЧЕОБРАЗОВАНИЯ

Объект исследований – белые лабораторные крысы линии Вистар.

Цель работы – изучение влияния однократного и курсового приёма гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды при моделях токсического поражения печени и почек, внутрипеченочном холестазе, аутоиммунном нефрите и гиперацидном гастрите.

Методы проведения работы – экспериментальные, биохимические, морфологические и статистические.

Результаты работы и их новизна – впервые показано положительное влияния 12-и дневного, по сравнению с более продолжительным введением, гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды в объёме 1% веса при экспериментальном токсическом поражении печени, внутрипечёночном холестазе, хронической почечной недостаточности и гиперацидном гастрите.

Областью применения полученных результатов – практическая медицина, научный и учебный процессы в медицинских ВУЗах.

Рекомендации по внедрению результатов НИР – приём гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральных вод целесообразен в качестве лечебного и профилактического средства при токсическом гепатите, внутрипечёночном холестазе, хронической почечной недостаточности и гиперацидном гастрите, но не при аутоиммунном нефрите и острой почечной недостаточности.

Экономическая эффективность работы – отсутствии необходимости проведения исследований при вновь открытых минеральных водах аналогичного состава.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время, несмотря на технический прогресс и развитие медицины, применение минеральных вод для профилактики и лечения многих заболеваний имеет важное значение, ибо они являются природными лечебными факторами многогранного неспецифического действия и могут занять одно из ведущих мест, по мере дальнейшего их изучения, в оздоровлении и реабилитации населения.

Механизмы действия минеральных вод рассматривались с точки зрения разных теорий, согласно которым благодаря им организм «очищается» от вредных продуктов, «восполняются» недостающие элементы, происходит «деинтоксикация» и много другое. В настоящее время минеральная вода рассматривается как раздражитель внешней среды и механизмы её действия подчинены общим физиологическим закономерностям [1].

Формирование минеральных вод происходит в глубоких недрах земли, часто при высокой температуре, где вода, соприкасаясь с различными неорганическими и органическими веществами и соединениями, в том числе с редкими элементами и газами, обогащается ими. Именно количественный состав минеральных вод является основным действующим началом. Кроме того, в минеральных водах содержатся положительные и отрицательные ионы, обладающие энергией, часть которой усваивается в клетках и меняет в ней энергетические процессы. При совпадении силы энергии минеральной воды и клетки возникает внутриклеточный биоэнергетический резонанс, приводящий к изменениям, которые в клинике рассматриваются как положительный терапевтический эффект. Вот почему, природную минеральную воду, как лечебное средство, нельзя замещать водой, искусственно приготовленной с таким же составом.

Особая ценность их применения состоит в возможности оказывать профилактическое действие. Изучение различных минеральных вод России, которыми особенно богат Северо-Кавказский регион, имеет важное лечебно-

профилактическое значение [2, 3, 4]. Отсюда очевидна актуальность и целесообразность применения минеральных вод при лечении многих заболеваний, в том числе и при почечной патологии, так как состав вод, в первую очередь неорганический, всосавшись в кровь и проходя через почки, оказывает влияние не только на процессы мочеобразования, но и на более глубокие, клеточно-молекулярные механизмы, позволяющие нормализовать некоторые нарушения. По мнению некоторых авторов, даже однократный прием минеральной воды может, вследствие формирования физиологических стрессорных реакций, вызывать повышается уровень кортикотропина, кортизола, глюкагона, инсулина, гастрина и тиреоидных гормонов, а при курсовом приёме, с развитием адаптации, вызывать повышение резистентности организма [5, 6].

Особенно это удобно, если минеральные источники находятся в регионе проживания для исключения длительных переездов и адаптации организма [7]. Поэтому приём минеральных вод при лечении заболеваний остаётся актуальным и целесообразным, тем более у самого источника, если они в своём составе имеют органические и летучие соединения.

Исследуемая нами гидрокарбонатная углекисло-хлоридно-натриевая минеральная вода Северной Осетии «Хилак» с общей минерализацией 2,1-2,3 г/л и повышенным содержанием железа, бора и кремния, по заключению Пятигорского НИИ курортологии и физической культуры, рекомендуется для розлива в качестве лечебной минеральной воды.

Проведя ретроспективный анализ по исследованию влияния минеральных вод аналогичного или близкого по составу изучаемой нами минеральной воды, можно отметить результаты о предотвращении развития или улучшения уже имеющегося сахарный диабет 2 типа. В частности, ежедневный приём на добровольцах 500 мл минеральной воды в Японии уменьшал уровень гликолизированного гемоглобина в сыворотке крови, как одного из показателей гликемического контроля [8].

Питье слабоминерализованной гидрокарбонатно-натриевой сульфатно-натриево-кальциевой углекислой воды улучшает характеристики соматического и неврологического статуса, активизирует обменные процессы, ускоряет лимфо- и кровообращение [9].

Результаты экспериментальных исследований гепатотропного действия двадцати однодневного курсового приёма слабоминерализованной хлоридно-бикарбонатно-натриевой воды с гуминовыми кислотами показали значительное улучшение антитоксической функции печени, усиление основного обмена, снижение воспалительных процессов, нормализацию активности печеночных ферментов и стимуляцию белково-синтетической функции с положительной динамикой морфологических и гистохимических характеристик печени [10].

Аналогичные положительные результаты, такие как гепатозащитное действие, улучшение белкового спектра, ингибирование активности трансаминаз и накопление малонового диальдегида в печени, улучшение экскреторной и антитоксической функции, были получены у крыс с токсическим гепатитом, вызванным тетрахлорметаном, после приёма лечебно-столовой хлоридно-гидрокарбонатно-натриевой минеральной воды Рычал-Су [11].

1. ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ ОТЧЁТА О НИР

1.1. Создание экспериментальных моделей токсического поражения печени и внутрипечёночного холестаза

Модель токсического поражения печени вызывали путём перорального введения крысам через зонд в желудок в течение двух дней подряд тетрахлорметана (CCl₄) в дозе 1,5 мл/кг массы тела в разведении оливковым маслом в отношении 1:1. Для закрепления эффекта через неделю вводили эту гепатотоксическую смесь ещё один раз.

Создание аналогичной модели острого токсического поражения печени на крысах и кроликах, примерно с такой же дозой тетрахлорметана (1,0 мл/кг), использовали другие авторы [12, 13], однако гепатотоксическую смесь они вводили животным внутривентрально, а для потенцирования развития еще и цирроза печени вместо питьевой воды животные получали 10%-ый раствор этилового спирта с третьих суток эксперимента. Такой способ введения часто, наряду с развитием токсического гепатита, способствует возникновению различных воспалительных процессов, язв и перитонита. Другие авторы вводили крысам тетрахлорметан в виде 66%-ного масляного раствора в дозе 2,0 мл/кг путём 4-8 подкожных инъекций [14], а некоторые, наоборот, в дозе в три раза меньше применяемой нами [15]. Для исключения возможного развития осложнений, связанных с алкоголем и инвазивным введением масляных растворов, нами использовано внутрижелудочное поступление тетрахлорметана.

Модель внутрипечёночного холестаза создавалась однократным внутрижелудочным введением α -нафтилизотиоцианат в дозе 100 мг/кг в виде 2% раствора в оливковом масле [16, 17, 18]. При этом заправка проходила через 12 часов после изъятия пищи, которую давали крысам через два часа. Исследования проводили спустя 72 часа после введения α -нафтилизотиоцианата. Выбор времени проведения исследований через трое суток обуславливалось тем, что по данным литературы это было время

максимальных проявлений изучаемых показателей, когда некоторые из них достигали максимальных значений через двое суток, а затем начинали нормализоваться, а другие – максимально менялись на четвёртые сутки, с полной нормализацией к седьмым суткам.

1.2. Создание экспериментальных моделей токсического поражения почек и аутоиммунного нефрита Хеймана

Модель токсической почечной недостаточности создавали путём внутримышечного введения крысам 50,0% раствора глицерина в дозе 0,8 мл/100 г массы тела [19, 20, 21]. При этом вводимая доза делилась пополам одну часть которой вводили в правую заднюю лапу, а другая – в левую. Это было обусловлено тем, что введение всей дозы глицерина одновременно в одно место часто в первые два-три дня сопровождалось гибелью большей части крыс (6-7 из десяти). Это, очевидно могло быть вызвано тем, что глицерин, как осмотически активное соединение, в месте инъекции повышает осмотическое давление, куда из окружающего интерстиция будет поступать вода, растягивая ткани и возможный разрыв сосудов, а также для исключения возможности возникновения нагноения или жировой эмболии.

При постановке экспериментов с почечной недостаточностью мы исходили из того, что обмен веществ у крыс значительный, что способствует более ускоренному течению всех процессов и нормализации патологических состояний, а нефротоксическое действие однократного введения глицерина уже спустя две недели введения ослабевает и практически заканчивается в течение месяца. В наших же планах было выяснение влияния минеральной воды на водовыделительную функцию почек при хронической почечной недостаточности. В связи с этим через две недели после начала эксперимента животным повторно вводили глицерин в аналогичной дозе, а третий раз инъекцию глицерина делали спустя один месяц после первой инъекции.

Модель аутоиммунного нефрита Хеймана, созданную путём однократного введения смеси равных частей гомогената коркового вещества

почек крыс и полного адьюванта Фрейнда, который является стимулятором неспецифического иммунного ответа, способный адсорбировать на своей поверхности антиген и длительное время депонировать его, увеличивая продолжительность влияния на иммунную систему. Для получения гомогената корковое вещество почек тщательно растиралась 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 (внутрибрюшино и четыре инъекции подкожно в подмышечных и паховых областях, везде по 0,1 мл/100г) [22, 23, 24].

1.3. Создание экспериментальной модели гиперацидного гастрита

Относительно того, почему была выбрана модель гиперацидного гастрита? Это было обусловлено тем, что, во-первых, частота патологии желудка в виде гиперацидного гастрита значительно выше других заболеваний желудка [25], во-вторых, разные формы патологии желудка начинаются именно с повышенной кислотностью желудочного сока, переходящего затем в осложнения, в виде язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки, возможность развития гипоацидного состояния, а при длительном течении и малигнизации [26].

Несмотря на существующие различные модели создания экспериментального гастрита у крыс, мы отдали предпочтение методике, предложенной Колотиловой М.Л. с введением 5% раствора уксусной кислоты в дозе 4,0 мл/кг веса [27]. Это предпочтение было обусловлено тем, что большинство методик предлагали длительное (около трех недель) введение нестероидных противовоспалительных препаратов на фоне приёма аскорбиновой кислоты [28], либо использование этанолового спирта, или комбинации различных препаратов, приём которых затем вызывал возникновение эрозии и язв слизистой оболочки желудка, что по современным данным не являются типичными для гастрита или

использование внутрижелудочного введения индометацина, который хоть и вызывает гастрит, но при это у животных отсутствуют такие характерные гистологические признаки, как изменения ямочного эпителия и гипертрофия гладких мышц в стенке желудка, а воспалительные явления выражены минимально [29, 30, 31].

Отличием от методики, предложенной Колотиловой М.Л. при создании гиперацидного гастрита в нашей интерпретации было то, что мы вводили 5% раствор уксусной кислоты не один раз, а дважды, что позволит быть более уверенным в вероятности создания изучаемой модели гастрита.

1.4. Материалы и методы исследований

Изучение токсического гепатита проводили на 42 половозрелых крысах линии Вистар массой от 180 до 220 г ($194,5 \pm 15,4$ г). Все животные были распределены на 4 группы. Семь крыс составили интактную группу, биохимические показатели в которой являлись контрольными для доказательства развития токсического поражения печени у 35 крыс, подвергнутых моделированию этой патологии. Семь крыс из 35 вошли в группу сравнения, на этих животных была проведена биохимическая и морфологическая верификация модели токсической печени. Остальные 28 крыс с моделью токсического гепатита были поделены на две равные части. Одни животные в течение 14-и дней в свободном доступе получали водопроводную воду (контрольная группа), а другие – исследуемую минеральную воду «Хилак» (основная группа).

Через три дня после последнего введения тетрахлорметана, времени за которое изменения печёночных биохимических показателей полностью проявляются в крови, у семи крыс группы сравнения в состоянии обезболивания внутрибрюшинным введением анестетика общего действия золетила (Франция) в дозе 0,1 мл/100 г массы из сердца, инъекционно, проводили забор крови и в плазме определяли содержание гидроперекисей, а

в эритроцитах – малонового диальдегида и гемоглобина, активности супероксиддисмутазы и каталазы [32]. С помощью стандартных наборов фирмы «Лаксма» (Чехия) и «Витал Диагностикс» (Россия) определяли содержания холестерина, общего и прямого билирубина, активность аспаратаминотрансферазы (АсАТ) и аланинаминотрансферазы (АлАТ) и щелочной фосфатазы. Коэффициент де Ритиса рассчитывали по соотношению активности сывороточных трансфераз АсАТ и АлАТ. Проводили морфологические исследования печени, окрашивая образцы гематоксилин-эозином.

Изучение влияния минеральной воды при внутripечёночном холестазае проводили на 28-и крысах линии Вистар, 7 из которых составляли контрольную группу с холестазом (I), 7 – профилактическую группу, которые в течение двух недель получали минеральную воду в свободном режиме, а затем их индуцировали (II), 7 – крыс составляли профилактическо-лечебную группу, то есть в отличие от предыдущей группы после введения α -нафтилизотиоцианата продолжали получать минеральную воду «Хилак» (III). И оставшиеся 7 крыс составляли чисто лечебную группу (IV), которым пока ввели через зонд α -нафтилизотиоцианат, а затем в течение трех суток давали минеральную воду.

Изучение влияния одноразового и курсового приёма минеральной воды на водовыделительную функцию почек проводили на 60-и половозрелых крысах линии Wistar одного возраста и весом от 160 до 240 г ($192 \pm 14,5$ г), разделённых на две части, 30 из которых составляли контрольную группу, получавшие водопроводную воду, остальные 30 – опытную, в которой животным также через зонд вводили в желудок минеральную воду «Хилак». Вначале выясняли влияние однократного приёма минеральной воды в дозировке, составляющей 1% веса крыс. Такой процент введения, в пересчёте на объём, максимально приближен к количеству суточного приёма минеральной воды для больных по лечебным показаниям (по 250-300 мл 3 раза в день) [33, 34, 35]. Затем исследовали влияние 5% от веса тела крыс

введения водопроводной и минеральной вод. Такая нагрузка, если интерпретировать её для приёма больным, чрезвычайно большая, но для крыс считается допустимой, к тому же значительная водная нагрузка позволяет выявлять нарушения, проявляющиеся в определенных экстремальных условиях.

Затем исследовали влияние курсового приёма минеральной воды в дозировках 1% и 5% массы крыс, продолжительностью в 24 дня. Выбор продолжительности приёма минеральной воды в течение такого времени был связан с общепринятой схемой санаторно-курортного лечения. При этом первые опыты с изучением влияния «Хилак» на водный диурез и сбором мочи в течение трёх часов, ставили на двенадцатый день после введения минеральной воды в объёме 1% веса крыс, а на следующий день собирали спонтанный шестичасовой диурез. Вторая серия опытов была по окончании курсового приёма на 24-й день после перорального введения 1% нагрузки минеральной воды, а на 25 день – при сборе мочи, выделившейся у крыс за шесть часов. В дни, когда не ставили опытов экспериментальные животные получали минеральную воду дважды в день (в период между 10-ю и 11-ю часами, а затем в 17-18 часов) одни в объёме 1% их веса, а другие – 5%. Контрольные животные находились в аналогичных условиях, получая вместо минеральной воды водопроводную в таких же объёмах и времени суток.

Предварительно проверяли, чтобы температура всех вводимых жидкостей была одинаковой (около 22-24° C), что было необходимо для создания одинаковых температурных условий при выяснении скорости гидремической реакции от которой зависит объём циркулирующей крови, основанной на определении в плазме крови содержания общего белка, количества гемоглобина в крови и гематокритного числа. Использование этих методик, несмотря на наличие другие методы, основанные на индикаторных способах, графической флюориметрии и радиоизотопном исследований [36, 37, 38] все еще остаётся актуальной, как, классические.

В целях более гуманного отношения к животным и сохранения,

почечная недостаточность создавалась на 30-и крысах, которые при изучении однократного и курсового приёма минеральной воды были контрольными, то есть получали водопроводную воду.

Для сбора мочи крыс помещали в специальные обменные устройства, напоминающие по форме воронку, и вся выделяющаяся моча в чистом виде стекала в стаканчик (каловые массы не попадали в мочесборник). В собранной моче рассчитывали минутный объём диуреза, а по экскретируемому с мочой креатинину и его содержанию в плазме крови, вычисляли скорость клубочковой фильтрации и объём канальцевой реабсорбции воды. В плазме крови определяли содержание общего белка, количество гемоглобина в крови (гемиглобинцианидным методом, «Агат», Россия) и гематокритное число (гематокритная центрифуги «Elmi CM-70», Литва). Получение образцов крови проводилось в условиях полного обезболивания и состояния искусственного сна внутрибрюшинным введением анестетика золетила.

Изучение влияния минеральной воды при аутоиммунном нефрите проводили на 56-и половозрелых крыс линии Вистар (7-9 месяцев, вес 170-210 г, 184 ± 16), которых разделили следующим образом: 12 интактных крыс и 36 крыс с аутоиммунным нефритом Хеймана. С учётом того, что каждой крысе, которой создавали модель нефрита, в среднем вводили около 1,0 мл иммунной смеси, то чтобы её хватило 36 животным, пришлось изъять почки у 8 крыс, поэтому указано, что исследования проводили на 56-и крысах, хотя опыты ставили на 48-и. Минеральную воду также вводили крысам через зонд в желудок в объёме 1,0% их веса дважды в сутки (в первой и во второй половине дня). При этом, исходя из того, что наиболее эффективным является 12-и дневный приём минеральной воды, мы и при изучении ее влияния при аутоиммунном нефрите ограничили этим же сроком.

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-и собрали спонтанно выделяющуюся мочу. После чего у 6-и крыс в состоянии обезболивания и сна 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 (контрольная и опытная), по 15 в каждой. Животные контрольной группы получали водопроводную воду дважды в день через зонд в желудок в объёме 1% их веса в течение 12-и 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 часов и после завершения опытов у 5-и крыс из каждой группы определили скорость почечного кровотока. Оставшиеся в каждой группе по 10 крыс, опять в течение 18-и дней не подвергались никаким воздействиям, а затем 12 дней им вводили водопроводную воду (контрольным) и минеральную (опытным), с последующим сбором мочи в конце второго месяца.

Мочу для исследований собирали у крыс в течение 6 часов, а затем в ней и в плазме крови определяли содержание эндогенного креатинина и общего белка, рассчитывали диурез, скорость клубочковой фильтрации и объём канальцевой реабсорбции воды. Объемную скорость кровотока определяли флоуметром Transonic NT 313 (США).

Все биохимические определения при исследовании влияния минеральной воды в условиях патологии печени и почек проводили с помощью спектрофотометров UNICO-2000 (США) и Arel PD-303 (Япония).

Морфологическую характеристику почек как при токсическом нефрите, так и при аутоиммунном, после соответствующей подготовки и окраски препаратов азур-эозином, изучали с помощью световой микроскопии.

Изучение влияния минеральной воды при гиперацидном гастрите проводили на 36-и крысах линии Вистар, разделённых на три равные группы. Животные первой были контрольные и на них была только создана модель острого гиперацидного гастрита, на 12-и крысах второй подгруппы была также создана аналогичная модель, и со следующего дня им начали давать в

течение 12-и дней минеральную воду (данная подгруппа была использована для выяснения возможного лечебного эффекта минеральной воды). Крысы третьей группы в течение 12 дней получали «Хилак», а затем на них также создали модель острого гиперацидного гастрита (данная подгруппа была использована для выяснения возможного профилактического эффекта приёма этой минеральной воды). У крыс с этой моделью патологии изучали количество лейкоцитов и эритроцитов в крови, содержание в крови гемоглобина и общего белка.

Все крысы во время экспериментов получали хлеб и злаковые, доступ к воде был неограничен, а световой режим приближен к естественному, то есть слегка затемнённого.

Полученные результаты контрольных и экспериментальных животных во всех созданных моделях (токсический гепатит и внутричечёчный холестаза, почечная недостаточность и аутоиммунный нефрит) были обработаны статистически с использованием параметрического метода сравнения средних величин, достоверность отличий между группами оценивали по t-критерию Стьюдента и методом Манна-Уитни.

Содержание крыс, уход, постановка опытов и вывод животных из эксперимента, с последующей утилизацией, осуществлялись в соответствии с приказом Минздравсоцразвития России № 708н от 23 августа 2010 г. «Об утверждении Правил лабораторной практики», с учётом ГОСТ 33215-2014 «Руководство по содержанию и уходу за лабораторными животными. Правила оборудования помещений и организации процедур» от 01.07.2016 г.

Аннотация данной научно-исследовательской работы для разрешения проведения экспериментальных исследований на животных была рассмотрена и одобрена на заседании этического комитета ФГБОУ ВО «Северо-Осетинская государственная медицинская академия» Минздрава России 25 ноября 2017 года, протокол № 7.18.

1.5. Влияние курсового приёма минеральной воды на морфологическую картину печени крыс с токсическим гепатитом

Говорить о достоверности влияния минеральной воды на биохимические показатели крови, характеризующие функциональное состояние печени, можно лишь в случае морфологического доказательства её токсического поражения. Гистологическая картина печени крыс через три дня после интоксикации имела признаки нарушения кровообращения, которые варьировали от умеренного до выраженного полнокровия центральных вен, отмечалось расширение синусоидов. При этом гепатоциты были значительно набухшие, в состоянии гиалиново-капельной дистрофии (рисунок 1.1), то есть морфологические изменения печени характерны для токсического поражения.

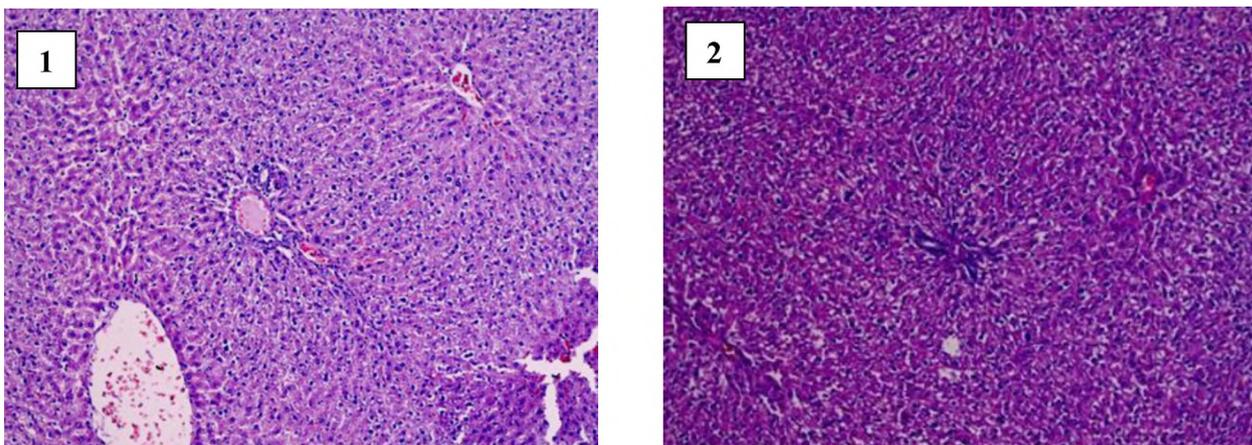


Рисунок 1 Морфологическая картина печени крыс с токсическим гепатитом и получавших минеральную воду. Окраска гематоксилин-эозином. Увеличение x400.

Спустя две недели, выявленные изменения остались такими же у крыс, получавших водопроводную воду, а у имеющих свободный доступ к минеральной воде в микроскопической картине печени отмечались незначительные изменения в виде неравномерного полнокровия портальных вен с сохранением дольковой структуры и наличием очаговой гиалиново-капельной дистрофии гепатоцитов (рисунок 1.2).

1.6. Влияние курсового приёма минеральной воды на перекисное окисление липидов и антиоксидантную защиту у крыс с токсическим гепатитом

Исследование перекисного окисления липидов и состояния антиоксидантной системы показало, что через три дня после последнего введения крысам тетрахлорметана содержание в плазме крови и в эритроцитах гидроперекисей и малонового диальдегида, по сравнению с данными интактных крыс, статистически значимо ($p < 0,001$) увеличились (таблица 1). Одновременно отмечалось ослабление активности ферментов антиоксидантной защиты: каталазы в большей степени (на 39,7%, $p < 0,001$) и супероксиддисмутазы в меньшей (на 19,5%, $p < 0,01$). То есть введение гепатотоксиканта изменило соотношение степени пероксидации липидов и антиоксидантной защиты в сторону активации первой и ослабления второй.

Таблица 1 Показатели перекисного окисления липидов и антиоксидантной системы крыс, интоксцированных тетрахлорметаном

Группы животных	Стат. показ.	Гидро-перекиси, мкмоль/л	Малоновый диальдегид, мкмоль/л	Каталаза, 10^{-4} МЕ/1г Нб	Супероксиддисмутаза, ед. ингибир.
Интактная (I)	M±m	4,34±0,37	30,52±1,88	6,57±0,35	69,39±3,26
Сравнения (II) Через 3 дня после введения CCl ₄	M±m	5,96±0,51	52,39±4,45	3,96±0,29	56,55±4,02
	P _I	<0,001	<0,001	<0,001	<0,01
Контрольная (III) Две недели приёма водопроводной воды	M±m	5,68±0,42	48,07±3,02	4,54±0,34	59,96±3,29
	P _I	<0,001	<0,001	<0,02	<0,02
	P _{II}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Основная (IV) Две недели приёма минеральной воды	M±m	5,44±0,39	50,34±3,87	5,13±0,40	61,50±4,12
	P _I	<0,001	<0,001	<0,002	<0,01
	P _{III}	>0,05	>0,05	>0,05	>0,05
Примечание: P _I – статистически значимые изменения к данным интактной группы; P _{II} – статистически значимые изменения к данным группы сравнения; P _{III} – статистически значимые изменения к данным контрольной группы.					

Исследование влияния двухнедельного приёма минеральной воды у крыс с токсическим гепатитом на перекисное окисление липидов показало, что содержания гидроперекисей и малонового диальдегида, по сравнению с данными, полученными у животных контрольной группы, которые после создания модели токсического поражения печени получали водопроводную воду, не имели отличия. Не изменилась и активность ферментов антиоксидантной системы, кроме тенденции к их усилению (таблица 1). То есть у всех крыс, получавших как водопроводную, так и минеральную воду, содержание гидроперекисей и малонового диальдегида были статистически значимо повышены, а активность каталазы и супероксиддисмутазы статистически значимо снижены, по сравнению с данными крыс интактной группы (таблица 1).

Очевидно, что выявленные изменения пероксидации липидов и антиоксидантной защиты у крыс после введения им тетрахлорметана, говорят не только о его гепатотоксичности, но и способности оказывать негативное общеорганное действие. А то, что приём минеральной воды не оказал особого эффекта, говорит о том, что тот её объём, который крысы самостоятельно выпивали, не достаточен для ослабления окислительной деградации липидов и (или) повышения антиоксидантной защиты, чтоб предотвратить свободнорадикальное окисление.

1.7. Влияние курсового приёма минеральной воды на печёночные показатели у крыс с токсическим поражением печени

Показатели пероксидации липидов и антиоксидантной защиты в условиях токсического поражения печени в большей степени отражают изменения общего состояния организма, а содержание в крови билирубина и холестерина, состояние ферментативной активности щелочной фосфатазы и АлАТ более тесно связаны с функциональным состоянием печени. В норме сывороточная активность АлАТ и АсАТ бывает низкой [39], так как они в

основном являются внутриклеточными ферментами (в клетках печени и почках преимущественно АлАТ, и в меньшей степени в сердечных и скелетных миоцитах, а АсАТ – в кардиомиоцитах), поэтому повышение одного или другого из этих трансаминаз позволяет предположить о возможной патологии печени или миокарда.

Определение активности этих ферментов показало, что у интактных крыс АлАТ был $0,262 \pm 0,04$ мккат/л, а АсАТ – $0,273 \pm 0,024$ мккат/л. Введение крысам тетрахлорметана, как и следовало ожидать, в первую очередь оказало влияние на активность АлАТ, которая через три дня была $0,513 \pm 0,04$ мккат/л ($p < 0,001$), а АсАТ – в пределах статистического колебания от уровня нормы – $0,296 \pm 0,035$ мккат/л. При исследовании через две недели активность АлАТ у крыс, получавших водопроводную воду, осталась повышенной – $0,443 \pm 0,056$ мккат/л ($p < 0,001$), а у тех крыс, которые пили минеральную воду снизился даже меньше уровня интактных животных – $0,227 \pm 0,028$ мккат/л. Двухнедельный приём водопроводной и минеральной воды ослабил активность АсАТ до $0,207 \pm 0,018$ мккат/л и $0,16 \pm 0,02$ мккат/л ($p < 0,01$), соответственно.

Коэффициент де Ритиса, который часто используется в клинике для выяснения преобладающего поражения печени или миокарда, показал, что у интактных крыс он составлял $1,04 \pm 0,05$, что соответствует результатам, полученным другими авторами [40, 41], а через три дня после трёхкратного введения гепатотоксиканта он уменьшился почти в два раза ($0,57 \pm 0,03$, $p < 0,001$). У крыс с токсическим гепатитом, получавших водопроводную воду в течение 2 недель, коэффициент де Ритиса снизился ещё больше ($0,47 \pm 0,02$), а у животных, имевших доступ к минеральной воде, наоборот, повысился до $0,73 \pm 0,04$ ($p < 0,01$).

Таким образом, повышение сывороточной активности АлАТ говорит о повреждении гепатоцитов, а снижение активности фермента до уровня нормы после двухнедельного приёма гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-

натриевой минеральной воды, очевидно связано с её положительным влиянием на печень.

Показателем функционального состояния печени также является щелочная фосфатаза, которая представляет группу клеточных ферментов (11 изоферментов), участвующих в реакциях отщепления остатка фосфорной кислоты от её органических соединений. Фермент содержится практически во всех тканях организма, с преимущественной локализацией в печени и костях (более 80% выделяется в кровь из них), поэтому повышение активности общей щелочной фосфатазы в крови говорит об их повреждении [42]. Определение в плазме крови активности фермента показало, что если у интактных крыс она была на уровне $587,25 \pm 33,98$ МЕ/л, то через три дня после последнего введения тетрахлорметана статистически значимо ($p < 0,02$) повысилась до $767,54 \pm 38,64$ МЕ/л. Двухнедельный приём минеральной воды способствовал статистически значимому снижению активности фермента до $514,29 \pm 40,08$ МЕ/л ($p < 0,01$), в то время, как у контрольных крыс, получавших водопроводную воду она осталась близкой результату после моделирования интоксикации – $717,68 \pm 40,08$ МЕ/л. Очевидно, что причинами снижения активности щелочной фосфатазы, отражающего положительное влияние минеральной воды на гепатоциты, могли быть: во-первых, ослабление процесса пероксидации липидов – одного из гепатопатогенных факторов в результате общего её воздействия на организм; во-вторых, состав минеральной воды, который, возможно, индуцирует микросомальные ферменты клеток печени, повышая скорость их синтеза и активности, что ускоряет течение метаболических процессов, улучшает биотрансформационную функцию печени, или, как многие другие минеральные воды, усиливает диурез и способствует более быстрейшему выведению токсических веществ из организма [43, 44], ослабляя, тем самым, общее и гепатотоксическое действие тетрахлорметана.

Еще одним из показателей, характеризующих функциональное состояние печени, является уровень холестерина в плазме крови, который у

интактных крыс составлял $1,56 \pm 0,07$ ммоль/л, а интоксикация их организма четырёххлористым углеродом вызвала статистически значимое (на 34,0%, $p < 0,001$) снижение содержания этого природного полициклического липофильного спирта до $1,03 \pm 0,06$ ммоль/л. После двухнедельного приёма минеральной воды содержание холестерина повысилось до $1,29 \pm 0,07$ ммоль/л и, хотя эта концентрация не достигала ещё нормы ($p < 0,05$), но уже была более высокой по сравнению со значением через 3 суток от начала моделирования токсического гепатита ($p < 0,05$). Приём же водопроводной воды не повлиял на уровень холестерина в крови, и у контрольных крыс он оставался сниженным ($1,06 \pm 0,06$ ммоль/л). Повышение холестерина в крови после приёма минеральной воды может быть обусловлено положительным её влиянием как на печень, так и на тонкий кишечник, почки, половые железы и надпочечники, в которых он также синтезируется, компенсируя в определенной степени нарушение его образования в печени.

1.8. Влияние курсового приёма минеральной воды на гематологические показатели у крыс с токсическим поражением печени

Изменения коснулись и некоторых гематологических показателей крови после введения тетрахлорметана. Снизилось количество эритроцитов ($p < 0,001$), содержание гемоглобина и соотношение форменных элементов крови к её жидкой части – гематокритное число. Так, на третий день после последнего третьего введения галогеноалкана количество эритроцитов и содержание гемоглобина в 1 литре крови стали меньше на 27,7% и 26,5% соответственно, а гематокритное число – на 16,5%. Спустя две недели, в течение которых одни крысы получали водопроводную воду, а другие минеральную, у первых все исследуемые показатели оставались в пределах ранее сниженных результатов, а у вторых они повысились, приблизившись к значениям интактных животных (таблица 2).

Таблица 2 Гематологические показатели крыс, интоксцированных тетрахлолметаном

Группы животных	Стат. показ.	Количество эритроцитов (в 1 л)	Гемоглобин (г/л)	Гематокритное число (%)
Интактная (I)	M±m	5,86±0,28×10 ¹²	158,64±2,73	41,45±1,33
Сравнения (II) Через 3 дня после последнего введения CCl ₄	M±m	4,24±0,29×10 ¹²	116,54±3,18	34,62±0,85
	P _I	<0,001	<0,001	<0,001
Контрольная (III) Две недели приёма водопроводной воды	M±m	4,43±0,32×10 ¹²	119,93±3,37	35,06±0,92
	P _I // P _{II}	<0,01 // >0,05	<0,001 // >0,05	<0,02 // >0,05
Основная (IV) Две недели приёма минеральной воды	M±m	5,49±0,38×10 ¹²	145,85±4,15	40,12±1,36
	P _I // P _{III}	>0,05 // <0,05	>0,05 // <0,002	>0,05 // <0,002
Примечание: P _I – значимые изменения по отношению к данным интактной группы; P _{II} – значимые изменения по отношению к данным группы сравнения; P _{III} – значимые изменения по отношению к данным контрольной группы.				

Причина снижения количества эритроцитов и содержания гемоглобина очевидна и обусловлена тем, что тетрахлолметан способен ослаблять осмотическую резистентность мембран эритроцитов и активность в ней ферментных систем, обеспечивающих нормальное содержание внутри эритроцита ионов, в частности натрия, калия и кальция за счёт оптимальной работы Na⁺, K⁺-АТФазы и Са⁺⁺-АТФазы [45]. Эти изменения, несомненно, приводят к нарушению в эритроцитах осмотического давления, их набуханию, ослаблению мембраны и возможному разрыву. Кроме того, при поражении гепатоцитов происходит нарушение отложения в печени протеин-кобаламина, образуемого из внешнего фактора Касла и гастромукопротеина [46], необходимого не только для нормального функционирования нервной ткани, но и активации фолиевой кислоты и перевода её в фолиновую, которая поступает в костный мозг и участвует в эритропоэзе. Известно также, что

тетрахлорметан при попадании в организм способен угнетать не только образование эритроцитов и содержание гемоглобина, но и лейко- и тромбопоэз [47].

Снижение количества эритроцитов при интоксикации четырёххлористым углеродом логично объясняет увеличение содержания билирубина в крови, причём не только общего, но и малотоксичной, растворимой в воде прямой, или связанной, фракции, которая образуется в печени, и непрямой, или несвязанной, токсичной фракции, являющейся жёлчным пигментом, образуемым в результате разрушения эритроцитов и распада гемоглобина. Содержание общего билирубина в крови интактных крыс было $2,24 \pm 0,13$ мкмоль/л, при этом концентрация прямой фракции составляла $1,37 \pm 0,09$ мкмоль/л, непрямой – $0,87 \pm 0,06$ мкмоль/л. Спустя три дня после третьего введения тетрахлорметана уровни всех фракций билирубина статистически значимо увеличились, достигнув величин $5,63 \pm 0,38$ мкмоль/л, $4,15 \pm 0,35$ мкмоль/л и $1,48 \pm 0,09$ мкмоль/л, соответственно. Двухнедельный приём водопроводной воды не вызвал особых изменений в содержании всех фракций билирубина, в то время как у крыс, получавших минеральную воду они приблизились к норме.

1.9. Влияние минеральной воды на печёночные показатели у крыс с внутripечёночным холеста́зом

У крыс с внутripечёночным холеста́зом мы изучали только показатели печени, с определением в плазме крови содержания билирубина (общий и прямой) и холестерина, а также активности ферментов щелочной фосфатазы.

Уровень холестерина, который у интактных крыс был равен $1,56 \pm 0,07$ ммоль/л после введения α -нафтилизотиоцианата значительно, в 4,65 раз, увеличился, достигнут величины в $7,26 \pm 0,56$ ммоль/л. Хотя в литературе описывается еще большее, на 935%, увеличение содержания холестерина в плазме крови, правда спустя 48 часов после затравки, о котором писали еще в 1996 году Чисхолм Дж. и Дельфин П.

Предварительный двухнедельный профилактический приём минеральной воды способствовал тому, что содержание холестерина через 72 часа после введения α -нафтилизотиоцианата повысилось до $4,12 \pm 0,35$ ммоль/л, что было в 2,98 раз больше интактного уровня. А при продолжении после затравки, ещё в течение трёх дней, приёма минеральной воды (профилактическо-лечебный вариант) повышение холестерина в плазме крови было только в 2,25 раз ($3,51 \pm 0,28$ ммоль/л).

Наименьший положительный результат по снижению содержания холестерина в плазме крови был получен у крыс лечебной группы, которые получали «Хилак» только в течение трех дней после интоксикации. Оно оставалось больше нормы интактных животных в 3,74 раза ($5,83 \pm 0,41$ ммоль/л).

Одновременно с изменением содержания холестерина в плазме крови после однократного перорального введения крысам α -нафтилизотиоцианата поменялся и билирубин с интактного уровня в $2,24 \pm 0,13$ мкмоль/л (общий), $1,37 \pm 0,09$ мкмоль/л (прямой) и $0,87 \pm 0,06$ мкмоль/л (непрямой) до $86,45 \pm 6,52$ мкмоль/л, $82,84 \pm 7,28$ мкмоль/л и $3,61 \pm 0,28$ мкмоль/л, соответственно. Такое значительное повышение общего и прямого билирубина говорит о явном нарушении свободного прохождения желчи по желчевыводящим путям и попадания её в кишечник, то есть введение α -нафтилизотиоцианата способствовало воспалению желчевыводящих ходов, их отёку и нарушению оттока желчи. Профилактический приём минеральной воды снизил уровень общего желчного пигмента в 2,45 раз ($35,28 \pm 2,63$ мкмоль/л), в 2,52 раза ($32,87 \pm 4,07$ мкмоль/л) его прямой фракции, и непрямой билирубин составлял $2,41 \pm 0,18$ мкмоль/л. Более выраженные изменения билирубина в сторону нормализации были у крыс III профилактическо-лечебной группы ($28,72 \pm 1,96$ мкмоль/л, $26,94 \pm 2,64$ мкмоль/л и $1,78 \pm 0,09$ мкмоль/л, соответственно), а наименьшие – у животных лечебной группы ($44,62 \pm 3,85$ мкмоль/л, $41,32 \pm 2,88$ мкмоль/л и $3,30 \pm 0,27$ мкмоль/л – общий билирубин, прямой и непрямой).

Аналогичные изменения касались и активности щелочной фосфатазы, которая с контрольного уровня интактных крыс в $587,25 \pm 33,98$ МЕ/л после введения α -нафтилизотиоцианата повысилась до $1425 \pm 133,5$ МЕ/л. У крыс профилактически-лечебной группы активность составляла $796,25 \pm 95,89$ МЕ/л, а при лечебном приёме – $1012,72 \pm 89,34$ МЕ/л. То есть наибольшие положительные изменения отмечались, как и с содержанием холестерина и билирубина у крыс профилактически-лечебной группы.

1.10. Влияние однократного приёма минеральной воды на основные процессы мочеобразования

Однократное введение через зонд в желудок изучаемой минеральной воды в дозировке 1% веса крыс и сбор мочи в течение трёх часов (отдельно за каждый час) показал статистически значимое ($p < 0,01$) повышение диуреза в первый час с контрольного уровня в $0,38 \pm 0,02$ мл/час/100г до $0,48 \pm 0,03$ мл/час/100г. Диуретический эффект, с достоверностью отличия ($p < 0,01$), сохранился и за второй час, а за третий час был незначительно больше контроля (таблица 3), и суммарно за три часа количество выделившейся мочи у крыс, получавших минеральную воду статистически значимо ($p < 0,01$) превосходил контроль ($1,05 \pm 0,075$ мл/3час/100г и $1,36 \pm 0,09$ мл/3часа/100г, соответственно).

Изучение влияния однократного приёма минеральной воды, но в объёме 5% веса крыс, показало, что и в этом случае также отмечается достоверное повышение диуреза в течение первых двух часов (таблица 3), а за третий час он был меньше контроля, но также, как и при 1% нагрузке, суммарный трёхчасовой диурез ($4,65 \pm 0,30$ мл/3часа/100г) превосходил значения контрольных крыс ($3,85 \pm 0,23$ мл/3часа/100г), имея статистически значимое отличие ($p < 0,05$). То есть отмеченный диуретический эффект минеральной воды «Хилак» при повышении вводимого объёма однократного приёма сохраняется.

Таблица 3 Диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды после однократного введения минеральной воды в объёме 1% и 5% веса крыс

Условия опыта	Время	Диурез	Клубочковая фильтрация	Канальцевая реабсорбция
Водопроводная вода 1% (M±m)	1 час	0,38±0,02	16,42±1,18	97,68±0,20
	2 час	0,46±0,03	17,94±1,38	97,43±0,21
	3 час	0,21±0,01	12,47±0,92	98,31±0,25
Минеральная вода 1% (M±m // p<)	1 час	0,48±0,03 // 0,05	16,18±1,33 // *	97,03±0,19 // 0,02
	2 час	0,62±0,04 // 0,01	18,02±1,43 // *	96,55±0,18 // 0,01
	3 час	0,26±0,02 // *	11,85±0,96 // *	97,80±0,24 // *
Водопроводная вода 5% (M±m)	1 час	1,48±0,09	18,96±1,08	92,19±0,28
	2 час	1,59±0,10	20,74±1,70	92,33±0,26
	3 час	0,78±0,05	14,42±1,03	94,59±0,30
Минеральная вода 5% (M±m // p<)	1 час	1,86±0,12 // 0,02	20,18±1,42 // *	90,78±0,36 / 0,001
	2 час	2,06±0,14 // 0,01	22,21±1,78 // *	90,72±0,41 / 0,001
	3 час	0,73±0,04 // *	13,64±1,05 // *	94,94±0,29 // *
* - отсутствие статистически значимых отличий				

Так как однократный приём минеральной воды, независимо от вводимой дозировки 1% или 5%, вызывал диуретический эффект в течение только двух часов, то исследования спонтанно выделившейся за 6 часов мочи на следующий день не выявил каких-либо отличий от нормы, что говорит о том, что отмеченный диуретический эффект однократного приёма минеральной воды «Хилак» непродолжителен.

Если провести сравнительный анализ по результатам трехчасового диуреза с целью выяснения какая из дозировок минеральной воды, по сравнению с контролем, обладает большей мочегонной активностью, то можно отметить, что приём «Хилак» в дозировке 1%, по сравнению с аналогичной нагрузкой водопроводной водой, более эффективен, о чём говорят отличия – 29,52% при 1% нагрузке и 20,77 % после 5%.

Конечно, отмеченные изменения диуреза должны быть вызваны изменением основных процессов мочеобразования – скорости клубочковой фильтрации и объёмом канальцевой реабсорбции воды [48, 49, 50]. Проведённые исследования с определением содержания эндогенного креатинина и расчётов скорости клубочковой фильтрации и объёма канальцевой реабсорбции воды показали, что двухчасовой диуретический эффект однократного приёма минеральной воды был обусловлен ослаблением канальцевой реабсорбции (таблица 3).

При 1% нагрузке, когда скорость клубочковой фильтрации была одинаковой ($46,83 \pm 3,48$ мл/3часа/100г – контроль, $46,05 \pm 4,02$ мл/3часа/100г - опыт) количество воды, обратно всосавшееся в канальцах почек статистически значимо ($p < 0,01$) отличалась ($97,80 \pm 0,23\%$ - контроль, $97,12 \pm 0,20\%$ - опыт). В условиях 5% нагрузки эти показатели за три часа имели аналогичные отличия – почти одинаковая скорость клубочковой фильтрации ($54,12 \pm 3,81$ мл/3часа/100г и $56,03 \pm 4,39$ мл/3часа/100г) и сниженная канальцевая реабсорбция воды ($94,86 \pm 0,28\%$ и $92,14 \pm 0,35\%$, $p < 0,001$), контроль и опыт, соответственно.

1.11. Влияние однократного приёма минеральной воды на гидремическую реакцию

Нас также заинтересовал вопрос о том, а выявленный диуретический эффект обусловлен только лишь изменениями основных процессов мочеобразования, или еще чем-нибудь, в частности более быстрым и полным всасыванием воды из пищеварительного тракта. И с этой целью у части крыс, как у тех, кто получал водопроводную воду, так и у тех, кому вводили минеральную в дозировках 5% массы, мы через 30 и 60 минут брали кровь и определяли в плазме крови содержание общего белка, количество гемоглобина в крови и гематокритное число, то есть изучали гидремическую реакцию, которая после введения минеральной воды, из-за большего разжижения крови,

была более выражена и, вследствие чего, уровни этих показателей были снижены, особенно спустя 60 минут (таблица 4).

Таблица 4 Содержание общего белка, количество гемоглобина и гематокритное число через 30 и 60 минут после введения минеральной воды

Условия опыта	Содержание общего белка (г/л)	Количество гемоглобина (г/л)	Гематокритное число (%)
Через 30 минут после введения водопроводной воды (M±m)	68,48±1,96	138,68±2,16	36,86 ± 1,46
Через 30 минут после введения минеральной воды (M±m, p)	62,08±2,19 <0,05	131,45±1,84 <0,05	32,30±1,72 <0,05
Через 30 минут после введения водопроводной воды (M±m)	67,12±1,75	135,75±2,87	35,47 ± 1,39
Через 60 минут после введения минеральной воды (M±m, p)	59,26±2,34 <0,01	127,39±2,09 <0,05	30,86±0,98 <0,02

Таким образом, полученные однонаправленные изменения содержания в плазме крови общего белка, количества гемоглобина в крови и гематокритного числа, как через 30 минут, так и 60, говорят о том, что минеральная вода быстрее, чем водопроводная, всасывается в желудочно-кишечном тракте, увеличивая объём циркулирующей крови и ускоряя гидремическую реакцию, что проявляется увеличением выделения мочи в первые два часа после приёма. Очевидно, что ускоренному всасыванию минеральной воды из кишечника способствует его состав.

Определять гидремическую реакцию при нагрузке в 1% не было целесообразно, так как вводимый объём не столь значительный, чтоб мог бы вызвать существенное разведение объёма циркулирующей крови.

1.12. Влияние курсового приёма минеральной воды на основные процессы мочеобразования

Далее мы приступили к выяснению влияния минеральной воды на водовыделительную функцию почек и основные процессы мочеобразования при непрерывном, в течение 12-и и 24-х дней, приёме, причём как в условиях водной нагрузки (на 12-й и 24-й дни) в объёме 1% и 5% массы крыс, так и в спонтанном состоянии (на 13-ый и 25-ый дни).

Курсовое введение крысам водопроводной водой не отразилось на диурезе и основных процессах мочеобразования независимо от продолжительности введения и её объёма.

Таблица 5 Диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды после 12-и дневного приёма минеральной воды

Условия опыта	Время	Диурез	Клубочковая фильтрация	Канальцевая реабсорбция
Приём водопроводной воды в объёме 1% (M±m)	1 час	0,42±0,03	17,25±1,30	97,56±0,27
	2 час	0,51±0,04	19,18±1,58	97,34±0,30
	3 час	0,25±0,02	13,56±1,29	98,15±0,32
	Спонт.	0,70±0,06	66,74±3,15	98,95±0,05
Приём минеральной воды в объёме 1% (M±m // p<)	1 час	0,65±0,05 // 0,05	18,78±1,63 // *	96,53±0,29 // 0,01
	2 час	0,79±0,06 // 0,01	21,15±1,70 // *	96,26±0,32 // 0,01
	3 час	0,42±0,04 // 0,05	13,07±1,26 // *	96,78±0,27 // 0,05
	Спонт.	0,98±0,08 // 0,01	72,45±6,33 // *	98,64±0,04 // 0,01
Приём водопроводной воды в объёме 5% (M±m)	1 час	1,53±0,13	20,23±1,55	92,44±0,32
	2 час	1,48±0,12	19,84±1,61	92,54±0,29
	3 час	0,87±0,06	15,07±1,22	94,22±0,34
	Спонт.	0,67±0,07	69,34±7,52	99,03±0,06
Приём минеральной воды в объёме 5% (M±m // p<)	1 час	2,15±0,17 // 0,01	21,88±1,82 // *	90,17±0,32 / 0,001
	2 час	2,35±0,19 // 0,01	23,19±1,76 // *	89,86±0,50 / 0,001
	3 час	1,20±0,09 // 0,01	14,26±1,12 // *	91,58±0,34 / 0,005
	Спонт.	0,92±0,08 // 0,05	73,08±6,88 // *	98,74±0,07 // 0,02
* - отсутствие статистически значимых отличий				

На 12-й день ежедневного введения крысам минеральной воды в объёме 1% их веса за три часа, по сравнению с результатами контрольных групп, получавших водопроводную воду, был статистически значимо больше за каждый час сбора мочи (таблица 5) и суммарный трехчасовой диурез ($1,18 \pm 0,09$ мл/3часа/100г – контроль, $1,86 \pm 0,15$ мл/3часа/100г – опыт, $p < 0,001$). И по сравнению с однократным приёмом минеральной воды в таком же объёме ($1,36 \pm 0,09$ мл/3часа/100г) после 12-и дневного введения «Хилак» трёхчасовой водный диурез увеличился более, чем на треть (на 36,7%), что говорит о усилении диуретического эффекта однократного приёма. И это было обусловлено большим ослаблением канальцевой реабсорбции воды (таблица 5).

Исследование на 13-ый день спонтанного диуреза показал, что он также, как и водный, статистически значимо ($p < 0,01$) превосходил контроль в результате ослабления процесса обратного всасывания воды (таблица 5), хотя после однократного приёма «Хилак» спонтанный диурез на следующий день не отличался от нормы.

При завершении полного курса приёма минеральной воды, введение крысам на 24-й день «Хилак» в объёме 1% их веса, также вызвал диуретический эффект, но в отличие от опытов, поставленных в середине курса, когда количество выделившейся мочи было увеличено за все три часа её сбора, в этом случае эффект был только за первые два часа (таблица 6). И если трёхчасовой диурез после 12-и кратного введения минеральной воды был $1,86 \pm 0,15$ мл/3часа/100г, то после 24-х кратного – на 12,4% меньше. Аналогичное повышение диуреза и тоже в течение только первых двух часов было и после введения крысам минеральной воды в объёме 5%. И в этом случае трехчасовой диурез был на 13,5% меньше, чем после 12-и дневного введения. При этом, как при 1%, так и 5% диуретический эффект был обусловлен снижением канальцевой реабсорбции воды.

Таблица 6 Диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды после 24-х дневного приёма минеральной воды

Условия опыта	Время	Диурез	Клубочковая фильтрация	Канальцевая реабсорбция
Приём водопроводной воды в объёме 1% (M±m)	1 час	0,36±0,04	15,96±1,42	97,92±0,27
	2 час	0,54±0,05	18,25±1,35	97,04±0,30
	3 час	0,31±0,03	14,56±1,05	97,87±0,29
	Спонт.	0,71±0,08	68,86±5,76	98,96±0,06
Приём минеральной воды в объёме 1% (M±m // p<)	1 час	0,60±0,05 // 0,01	18,05±1,44 // *	96,67±0,32 // 0,01
	2 час	0,75±0,06 // 0,005	19,34±1,58 // *	96,12±0,26 // 0,05
	3 час	0,28±0,03 // *	12,85±1,07 // *	97,82±0,20 // *
	Спонт.	0,87±0,07 // *	72,05±4,28 // *	98,80±0,07 // *
Приём водопроводной воды в объёме 5% (M±m)	1 час	1,44±0,11	19,05±1,60	92,42±0,28
	2 час	1,55±0,14	20,24±1,73	92,34±0,32
	3 час	0,93±0,08	16,24±1,35	94,27±0,41
	Спонт.	0,68±0,07	72,16±6,48	99,05±0,06
Приём минеральной воды в объёме 5% (M±m // p<)	1 час	1,87±0,15 // 0,02	20,15±1,66 // *	90,72±0,40 / 0,001
	2 час	2,08±0,17 // 0,01	22,01±1,98 // *	90,55±0,48 / 0,005
	3 час	0,98±0,08 // *	15,98±1,32 // *	93,86±0,51 // *
	Спонт.	0,84±0,07 // *	77,12±5,47 // *	98,91±0,09 // *
* - отсутствие статистически значимых отличий				

Исследование спонтанного диуреза на следующий день, после 24-х дневного ежедневного введения крысам «Хилак» показало, что в этом случае количество выделившейся мочи имело лишь только тенденцию к увеличению без достоверного отличия (таблица 6). И это касалось данных, полученных после введения минеральной воды в дозировке как 1%, так и 5%. То есть, выявленное повышение спонтанного диуреза на следующий день после 12-и кратного введения минеральной воды в этих же дозировках при более длительном приёме не оказал кумулятивного диуретического действия.

1.13. Морфологическая характеристика почек при экспериментальной почечной недостаточности

С самого после проведения опытов со сбором мочи, мы начали забивать по три крысы для исследования морфологического состояния их почек с помощью световой микроскопии после окраски мазков азур-зозином при 600-кратном увеличении.

Спустя одну неделю после введения крысам глицерина особых изменений, кроме незначительной разнокалиберности клубочков и застоя в сосудах, не было выявлено. А уже через две недели морфологическая картина почек стала в большей степени отличаться от нормы, и в сосудистом компоненте клубочков нефрона, на фоне прерывания капилляров, отмечались явления, как зияния их просветов, так и эритроцитарные стазы, а в отдельных клубочках имелись мелкие кровоизлияния. При этом просвет капсулы у большинства был свободен, хотя в отдельных местах встречались отёчно-набухшие мезангиальные клетки и эндотелий капилляров (рисунок 2.1). Канальцевый аппарат был представлен от нормальных клеток, до дистрофичных, степень изменений которых была в широком диапазоне, включая набухание эпителиоцитов и наличия в них зернистых разрушенных осколков, а также деструктивные изменения люминальной мембраны (рисунок 2.2).

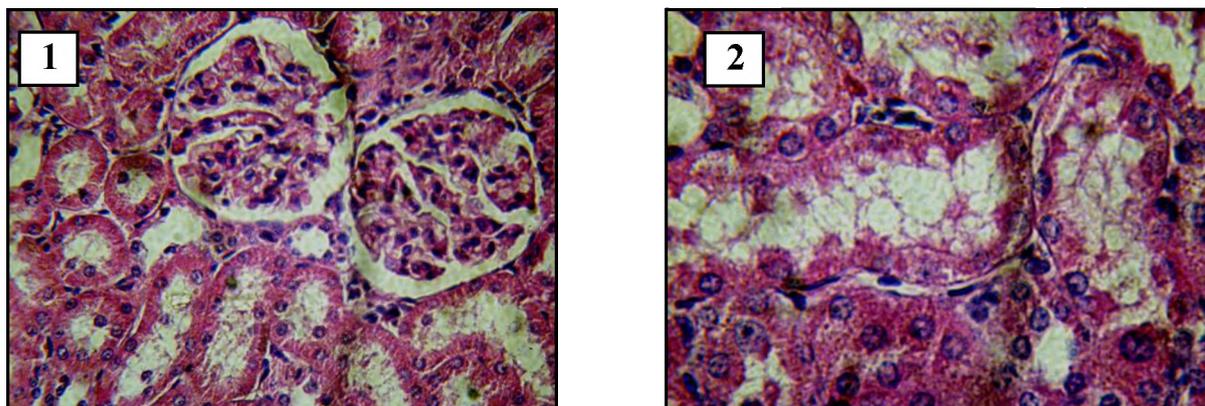


Рисунок 2 Морфология почек крыс через две недели после введения нефротоксиканта (глицерина). Окраска азур-эозином. Увеличение в 600 раз

В конце первого месяца к отмеченным ранее изменениям добавились еще в значительном количестве разнокалиберны лимфоцитарные инфильтраты - от мелких, до крупных, причём как в корковом, как и в мозговом отделах, особенно на границе между ними, а канальцы, соприкасающиеся с ними, имели в отдельных местах деструктивные изменения (рисунок 3.1). В сосудистой системе отмечались как очаги кровоизлияний, так и явления застоя, преимущественно в венулах, а в просветах канальцев – белковые слепки, а в отдельных местах мелкие отложения кальция с явлениями межпочечного кальциноза (рисунок 3.2).

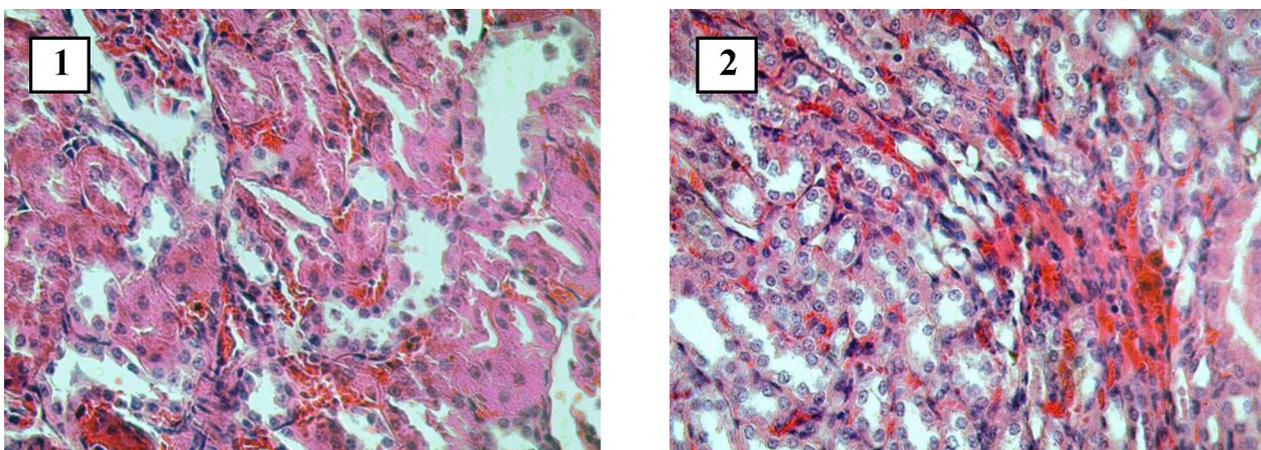


Рисунок 3 Морфология почек крыс через месяц с начала введения нефротоксиканта (глицерина). Окраска азур-эозином. Увеличение в 600 раз

В конце второго месяца после трехкратного введения им нефротоксиканта. Было выявлено, что картина, характерная для почек, описанная выше, не только сохранилась, но стала более выраженной. В корковом и мозговом веществах стало больше различных лимфоцитарных инфильтратов, при чем не только мелких, но и более крупных. Застой крови в венулах стал выраженнее, а участки кровоизлияний диапедезного характера стали чаще (рисунок 4.1). В канальцевом аппарате, особенно в его проксимальных отделах, отмечались диффузные дистрофические изменения, с наличием в их просветах белково-гиалиновых слепков. Увеличилось как количество, так и площадь отложений кальция (рисунок 4.2).

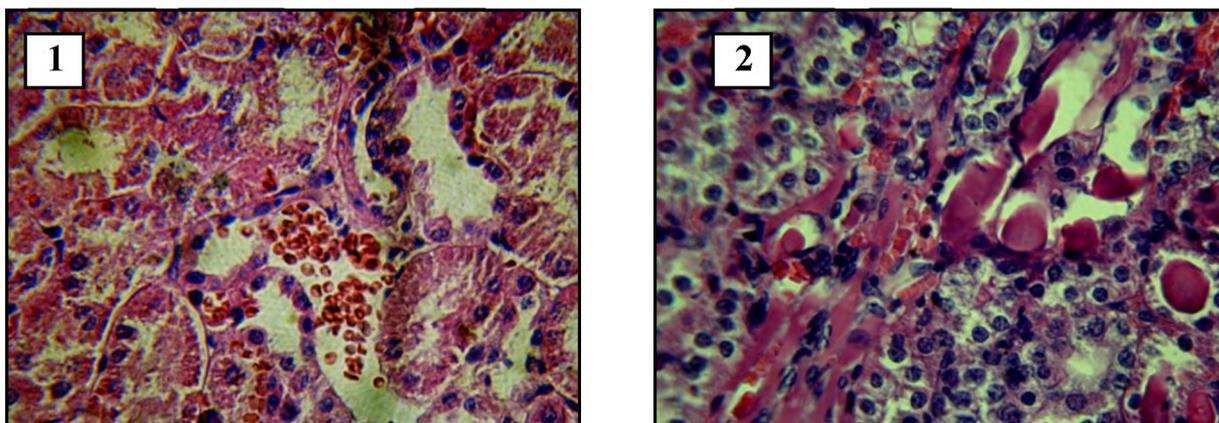


Рисунок 4 Морфология почек крыс через два месяца после введения нефротоксиканта (глицерина). Окраска азур-эозином. Увеличение 600 раз

Таким образом, введение крысам нефротоксиканта глицерина в дозе 0,8 мл/100г вызывает создание экспериментальной моделью острой почечной недостаточности, переходящей в хроническую с картиной экссудативной гломерулопатии, интерстициального нефрита и канальцевой дистрофии.

1.14. Диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с почечной недостаточностью

Исходя из того, что наиболее эффективным является приём минеральной воды в объёме 1% веса крыс, и еще учитывая, что в случае выявления положительного эффекта приёма изучаемой минеральной воды, рекомендации будут даваться для больных с патологией почек, поэтому наиболее близко и правильно для больных будет, если полученные нами данные будут приемлемы для них, то есть результаты приёма минеральной воды в объёме 1%, что как мы уже отмечали, соответствует трёхкратному приёму по 200-300 мл. Поэтому исследования при экспериментальной почечной недостаточности проводились только в условиях спонтанного диуреза с введением минеральной воды в объёме 1% их веса.

Содержание креатинина в плазме крови, который у интактных крыс был $67,60 \pm 2,45$ мкмоль/л, после создания почечной недостаточности, начиная с первой же недели ($75,12 \pm 2,86$ мкмоль/л) начал повышаться, но

достоверно отличаться от контроля стал только в конце второй недели ($p < 0,001$) и нарастая в дальнейшем, оставался статистически значимо больше контроля. В цифровом варианте это выглядело так: $79,56 \pm 1,96$ мкмоль/л через две недели, $83,20 \pm 3,23$ мкмоль/л – через месяц, $85,36 \pm 2,85$ и $89,40 \pm 4,08$ ммоль/л в конце второго и третьего месяцев.

Спустя одну неделю после введения крысам глицерина было выявлено снижение спонтанного диуреза ($p < 0,05$), а в опытах, поставленных через две недели, мы уже наблюдали характерную полиурическую фазу ($p < 0,001$). Но максимально, в 2,5 раза, спонтанный диурез увеличился, когда прошел один месяц с момента введения глицерина (рисунок 5).

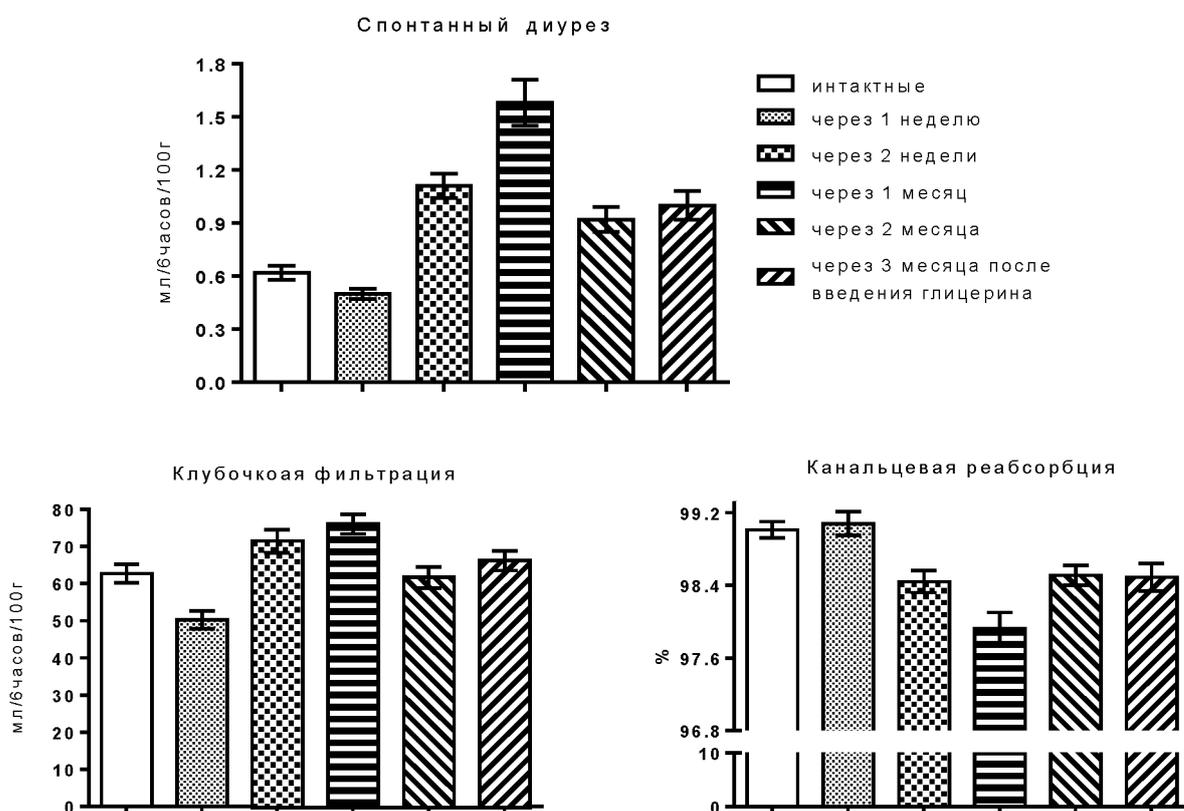


Рисунок 5 Спонтанный диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды у крыс с почечной недостаточностью

В конце второго и третьего месяцев спонтанный диурез у крыс оставался повышенным, при этом полученные результаты особо не отличались друг от друга (рисунок 5). То есть в условиях экспериментальной

почечной недостаточности сначала отмечается снижение спонтанного диуреза, которое через две недели сменяется на повышение, с максимальной полиурией через один месяц.

Расчет основных процессов мочеобразования на основе данных содержания креатинина в плазме крови и моче, и диуреза показал, что через одну неделю после введения крысам глицерина скорость клубочковой фильтрации достоверно снизилась ($p < 0,001$), а канальцевая реабсорбция воды осталась без изменений (рисунок 5). То есть наблюдаемое снижение диуреза было обусловлено торможением гломерулярной фильтрации.

Причиной повышения спонтанного диуреза через две недели было как повышение скорости клубочковой фильтрации ($< 0,05$), так и снижение ($p < 0,001$) канальцевой реабсорбции воды (рисунок 5). Угнетение клубочковой фильтрации – начала мочеобразования, очевидно, связано с характерным для нефритов поражением клубочков [51]. Это соответствует и полученным морфологическим изменениям почек.

В месячных экспериментах, когда было максимальное повышение диуреза, клубочковая фильтрация была также ускорена и вместе с одновременно имеющейся сниженной канальцевой реабсорбцией воды ($p < 0,001$) это и дала полиурический эффект.

Через два и три месяца с начала создания у крыс почечной недостаточности, скорость фильтрации жидкости в клубочках уже не принимала особого участия, став близкой к результатам контрольных значений интактных крыс (рисунок 3), а диурез, сохранившийся увеличенным, был обусловлен сниженным объёмом обратного всасывания воды в канальцах почек ($98,51 \pm 0,11\%$, $p < 0,002$ в конце второго месяца и $97,21 \pm 0,24\%$, $p < 0,01$ в конце третьего).

Таким образом, создание на крысах линии Вистар экспериментальной модели почечной недостаточности трёхкратным (вначале, через две недели и в конце первого месяца) введением 50,0% глицерина в дозе 0,8 мл/100г через одну неделю вызывает снижение спонтанного диуреза, в результате

снижения скорости клубочковой фильтрации, которое сменяется на полиурию, с максимальным проявлением через один месяц, вследствие ускорения клубочковой фильтрации и снижения канальцевой реабсорбции воды, а через два и три месяца – уже только из-за ослабления обратного всасывания воды в канальцах почек.

1.15. Влияние минеральной воды на диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с почечной недостаточностью

Изучение влияния двукратного приёма минеральной воды у крыс с патологией почек проводилось как в условиях острой, так и хронической почечной недостаточности, и с учётом того, что наиболее эффективным оказался 12-и дневный приём минеральной воды, дизайн эксперимента в данном варианте выглядел следующим образом: через 3-4 дня после повторного в/м введения глицерина, начали дважды в день в течение 12-13 дней вводить минеральную воду в объёме 1% веса крыс, так, чтоб сбор мочи пришелся на конец первого месяца, когда при почечной недостаточности нами было выявлено максимальное изменение диуреза – полиурия. Затем в течение 15-16 дней перестали давать крысам минеральную воду, возобновив её введение до конца второго месяца. И так сделали еще один раз, опять с учётом того, что проводили последние исследования в конце третьего месяца. То есть примерно за две недели перед проведением экспериментов по сбору мочи в конце первого, второго и третьего месяцев крысы в течение 12-13 дней получали минеральную воду «Хилак».

Полученные результаты можно интерпретировать следующим образом. Если крысам с почечной недостаточностью за 12-ть дней до конца первого месяца, когда отмечается максимальное повышение спонтанного диуреза, начать вводить дважды в день минеральную воду, приём которой в течение такого срока сам вызывает повышение диуреза, то это способствует лишь незначительному ослаблению полиурической фазы почечной недостаточности. А повторное введение крысам с почечной

недостаточностью минеральной воды в течение 12-и дней до окончания второго месяца, когда глицерин был введён крысам уже трижды, диурез хоть и стал меньше результата месячной давности, но он всё-таки был больше нормы (таблица 7). А вот в конце третьего месяца, когда спонтанный диурез у крыс с почечной недостаточностью оставался таким же, как и в конце второго месяца, 12-и дневное введение минеральной воды уже способствовало снижению выделения мочи ($p < 0,05$) вследствие усиления канальцевой реабсорбции воды.

Таблица 7 Диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды у крыс с почечной недостаточностью после приёма минеральной воды

Условия опыта	Диурез	Клубочковая фильтрация	Канальцевая реабсорбция
12-и дневное введение водопроводной воды (контроль 1)	0,70±0,06	66,74±3,15	98,95±0,05
12-и дневное введение минеральной воды (контроль 2) (M±m, p)	0,98±0,08 <0,01	72,45±6,33 *	98,64±0,04 <0,01
В конце первого месяца			
Почечная недостаточность (M±m, p)	1,58±0,13 0,001	78,03±3,63 0,001	97,92±0,15 0,001
Приём минеральной воды при почечной недостаточности (M±m, p - к контролю 2 и почечной недостаточности)	1,46±0,11 * *	80,18±5,49 * *	98,17±0,12 * *
В конце второго месяца			
Почечная недостаточность (M±m, p - к контролю 1)	0,92±0,07 <0,01	62,74±3,86 *	98,51±0,11 <0,002
Приём минеральной воды при почечной недостаточности (M±m, p - к контролю 2 и почечной недостаточности)	1,12±0,08 * *	71,37±5,24 * *	98,49±0,09 * *
В конце третьего месяца			
Почечная недостаточность (M±m, p - к контролю 1)	1,05±0,08 <0,002	66,24±2,60 *	98,45±0,13 <0,01
Приём минеральной воды при почечной недостаточности (M±m, p - к контролю 2 и почечной недостаточности)	0,82±0,06 * <0,05	69,51±4,66 * *	98,84±0,10 * <0,05
* - отсутствие статистически значимых отличий			

То есть в условиях хронической почечной недостаточности 12-и дневное (дважды в день) введение крысам минеральной воды «Хилак» оказывает нормализующее влияние на диурез.

Исследование уровня креатинина в плазме крови, как одного из показателей степени поражения почек, выявил следующее: в конце первого месяца, когда уровень креатинина ($83,20 \pm 3,23$ мкмоль/л) стал статистически значимо ($p < 0,001$) больше норма ($67,60 \pm 2,45$ мкмоль/л) и продолжал нарастать ($85,36 \pm 2,85$ и $89,40 \pm 4,08$ мкмоль/л в конце второго и третьего месяцев), 12-и дневное введение, дважды в день, минеральной воды способствовало его постепенному снижению – $79,86 \pm 4,15$ мкмоль/л в конце первого месяца, $77,15 \pm 3,48$ мкмоль/л – в конце второго месяца, и $72,60 \pm 5,18$ мкмоль/л – в конце третьего месяца ($p < 0,01$), хотя это всё еще было больше нормы.

Таким образом, с учётом известного факта, о том, что при острой почечной недостаточности в полиурическую стадию, когда необходимо проводить классическое медикаментозное лечение, приём минеральной воды не имеет смысла, так как не происходит изменённый водовыделительной функции почек, вызванных почечной недостаточностью. В то время, как при хронической почечной недостаточности 12-и дневное введение оказывает положительное нормализующее влияние на диурез и основные процессы мочеобразования, а также способствуя снижению в крови уровня креатинина.

1.16. Морфологическая характеристика почек при экспериментальном аутоиммунном нефрите

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 слабовыраженный отёк и в отдельных канальцах присутствовали белковые отложения с дистрофическими изменениями нефроцитов (рисунок 6.1). Капиллярная сеть

также в большинстве образцов была расширена. При этом в мозговое вещество почек не отмечалось особых изменений (рисунок 6.2).

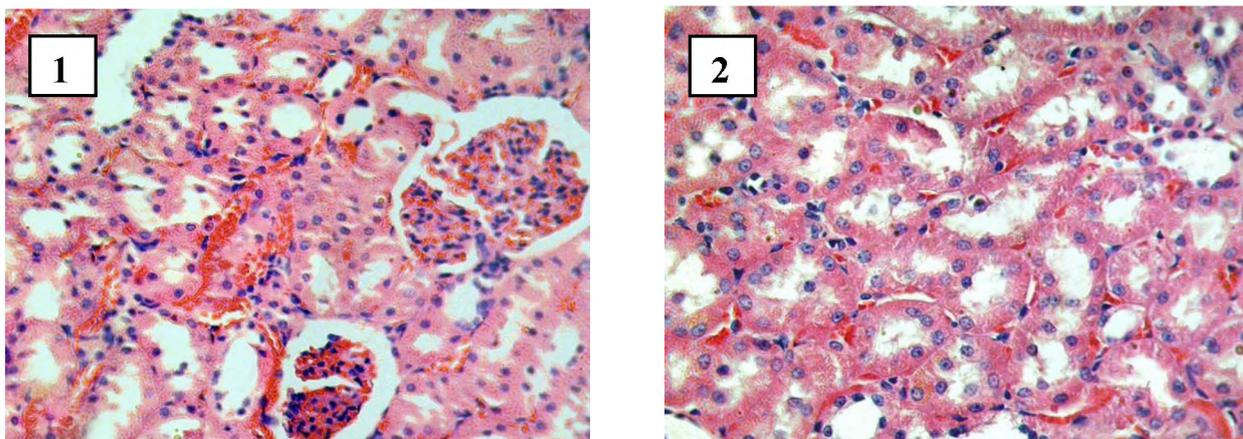


Рисунок 6 Морфология почек крыс с аутоиммунным нефритом через 18 дней после иммунизации. Окраска азур-эозином. Увеличение в 600 раз

Спустя один месяц после иммунизации морфологические изменения в почках стали более гетерогенные во всех слоях, в том числе и сосудистой системы, которая наряду с участками полнокровных и расширенных сосудов, местами имела суженные. Почти во всех исследуемых препаратах отмечалась разнокалиберность клубочков, часть которых были увеличены, а другие, наоборот, небольшие. Но независимо от их размеров почти вокруг всех имелись инфильтраты, состоящие из лимфоцитов и лейкоцитов, при этом отмечались мелкие кровоизлияния, разрушение щёточной каёмки и эпителия, заполнение просветов трубочек белковыми массами разной плотности.

То есть отмеченные морфологические изменения соответствуют изменениям при нефрите Хеймана с локализацией главного патогенного антигена в щеточной каёмке проксимальных канальцев почек [52]. Гистологическая характеристика почек иммунизированных крыс, но получавших минеральную воду, была такой же.

1.17. Влияние минеральной воды на диурез и основные процессы мочеобразования у крыс с аутоиммунным нефритом

Двухнедельный приём минеральной воды увеличил на следующий день шестичасовой спонтанный диурез с $0,82 \pm 0,07$ мл/100г (интактные крысы) до $1,12 \pm 0,09$ мл/100г ($p < 0,01$), что было обусловлено торможением канальцевой реабсорбции воды ($p < 0,002$), так как клубочковая фильтрация лишь только немного ускорилась и не могла вызвать диуретический эффект (таблица 8).

Таблица 8 Спонтанный диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды у крыс с аутоиммунным нефритом

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-и дневного приёма 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 две 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

Спонтанный диурез у иммунизированных крыс спустя 18 дней статистически значимо ($p < 0,01$) повысился до $1,16 \pm 0,08$ мл/100г 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 (таблица 7).

Как правило, при поражении почек повышается содержание белка в моче - протеинурия [53, 54, 55]. Приём минеральной воды не оказал влияния на содержание белка в моче, в то время как у крыс с аутоиммунным нефритом степень протеинурии превышала в 1,52 раза норму, равную у интактных крыс $4,96 \pm 0,27$ мкг/мл (рисунок 6), 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). Что касается содержания в плазме крови эндогенного креатинина, то после иммунизации

оно статистически значимо повысилось ($p < 0,05$), а после приёма минеральной воды также, как и общего белка - не изменились (рисунок 6).

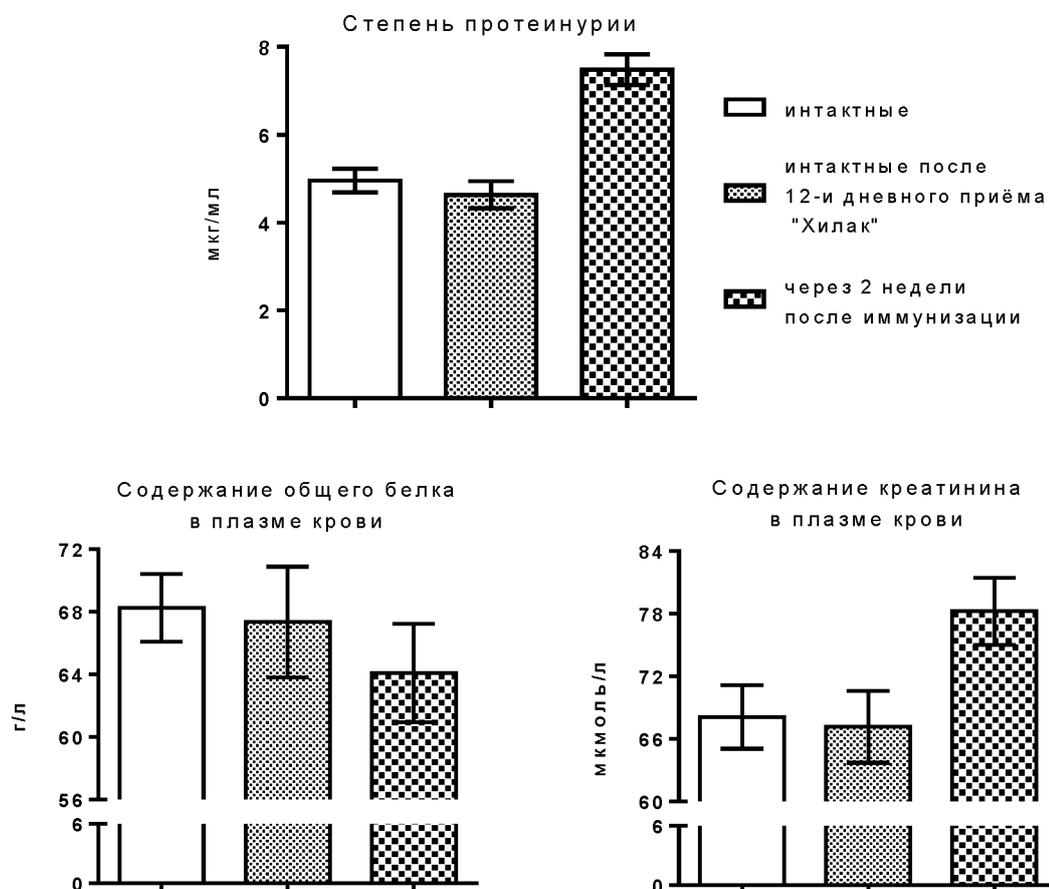


Рисунок 6 Степень протеинурии, содержание общего белка и креатинина в плазме крови у крыс с аутоиммунным нефритом

Для выяснения причин изменения клубочковой фильтрации после иммунизации, мы определяли объём почечного кровотока, как одного из факторов, определяющий 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 приёма минеральной воды - $11,33 \pm 0,71$ мл/мин. То есть скорость почечного кровотока соответствовала клубочковой фильтрации - снижение у крыс с нефритом Хеймана и без особых изменений после приёма минеральной воды.

Что касается водовыделительной функции почек и исследуемых показателей, то через 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 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-и 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.

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 щёточной каёмки, что уменьшает поверхность клеточных мембран и ослабляет их резорбтивную функцию [56]. А что касается снижения клубочковой фильтрации, то это, 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-Шумлянского 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 [57].

Водовыделительная функция почек и основные процессы мочеобразования в конце месяца у крыс, получавших водопроводную воду, во многом были такие же, как и в двухнедельных опытах, то есть спонтанный диурез оставался повышенным, а скорость клубочковой фильтрации и объём канальцевой реабсорбции воды сниженными (таблица 9). 12-и дневный приём минеральной воды не отразился на диурезе и основных процессах мочеобразования (таблица 9), в том числе и на скорости почечного кровотока, которая была $8,35 \pm 0,72$ мл/мин, что на 23,7% меньше нормы ($p < 0,002$).

Таблица 9 Спонтанный диурез, клубочковая фильтрация и канальцевая реабсорбция воды у крыс через один и два месяца после иммунизации

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

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±1,44 мкг/мл), уровень креатинина в плазме крови достиг 94,12±0,73 мкмоль/л, а общий белок - 57,46±0,62 г/л. Спонтанный диурез, который еще месяц назад превышал норму, резко (в 1,84 раза) снизился до 0,58±0,06 мл/100г 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 (таблица 9).

Снизилась и скорость почечного кровотока до $7,72 \pm 0,59$ мл/мин ($p < 0,001$), что, возможно, и стала причиной ослабления фильтрации в гломерулах. Обратное всасывание воды в канальцах почек уже не играло особой роли в изменении диуреза (таблица 9).

Введение минеральной воды в течение 12-и дней перед окончанием второго месяца на все исследуемые показатели водовыделительной функции почек практически не отразилось (таблица 9). Объемная скорость кровотока в почечной артерии была 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). То есть 12-и дневный приём минеральной не оказал влияния на исследуемые показатели почек, изменённые созданным аутоиммунным нефритом Хеймана.

1.18. Влияние двенадцатидневного приёма минеральной воды на общее состояние и гематологические показатели у крыс с гиперацидным гастритом

Среди 12-и контрольных крыс, получившие дважды 5% раствор уксусной кислоты в дозе 4,0 мл/кг веса, погибли три крысы (одна на следующий день после второго введения кислоты, то есть на третий день, и две крысы еще через день). Хотя не совсем корректно говорить о процентном соотношении среди такого небольшого количества случаев, но все-таки это составляет 25%. Во второй подгруппе «лечебной», где после введения токсиканта начали вводить минеральную воду, погибли две крысы (более 16,6%), в то время, как в третьей подгруппе, где крысы пока в течение 12 дней получали «Хилак», а затем на них создали модель острого гиперацидного гастрита, погибших крыс не было.

Вес крыс через одну неделю после создания гастрита менялся следующим образом: контрольные с $206,5 \pm 12,6$ г до $162,4 \pm 11,8$ г ($p < 0,05$, снижение на 21,4%); лечебные с $214,5 \pm 20,7$ г до $186,8 \pm 15,8$ г (снижение на

13%); профилактические с $198,6 \pm 9,4$ г до $188,5 \pm 10,8$ г (снижение на 5%). При повторном, на 13-ый день после второго введения гастротоксиканта, взвешивании вес контрольных крыс еще незначительно снизился – $154,4 \pm 10,3$ г. У крыс лечебной группы, практически, остался на прежнем уровне – $189,5 \pm 13,6$ г, а у животных профилактической группы достиг уровня контроля.

Почти аналогично изменению веса менялось содержание общего белка в плазме крови, который у интактных крыс был $69,42 \pm 2,34$ г/л, а у контрольных через одну неделю был $61,08 \pm 1,86$ г/л ($p < 0,05$) и $58,74 \pm 2,07$ г/л ($p < 0,01$) через две. У крыс лечебной группы через одну неделю уровень общего белка плазмы крови также был меньше, чем у интактных, но больше, чем у контрольных – $64,05 \pm 2,45$ г/л, а через две недели $65,32 \pm 3,18$ г/л. В группе, где крысы предварительно двенадцать дней получали минеральную воду, содержания белка в плазме крови как через одну неделю, так и через две не изменилось, оставаясь как у интактных крыс.

При забое животных всех подгрупп через одну неделю после создания гиперацидного гастрита, исходя из того, что модель должна вызывать воспалительный процесс, мы посчитали необходимым определять в крови количество лейкоцитов, эритроцитов и содержание гемоглобина. В качестве нормы были взяты данные интактных крыс с количеством лейкоцитов равным $6,50 \pm 0,53 \times 10^9$ /л, эритроцитов – $6,18 \pm 0,19 \cdot 10^{12}$ /л и гемоглобина в $142,05 \pm 3,14$ г/л.

Результаты представлены в таблице 10, и согласно полученным данным у контрольных крыс, на которых была только создана модель гастрита, количество лейкоцитов через одну неделю было статистически значимо больше ($8,94 \pm 0,75 \times 10^9$ /л, $p < 0,01$). У крыс лечебной подгруппы также отмечался лейкоцитоз ($p < 0,05$), но в меньшей степени в то время, как у животных профилактической подгруппы отмечалось лишь незначительное повышение количества лейкоцитов (таблица 10).

Таблица 10 Количество лейкоцитов, эритроцитов и содержание гемоглобина в крови крыс с гиперацидным гастритом

Условия опыта	Количество лейкоцитов	Количество эритроцитов	Содержание гемоглобина (г/л)
Интактные крысы (M±m)	6,50±0,53×10 ⁹ /л	6,18±0,19×10 ¹² /л	142,05±3,14
Контрольные крысы через одну неделю (M±m, p)	8,94±0,75 <0,05	5,66±0,22 <0,05	130,65±4,05 <0,05
Контрольные крысы через две недели	9,12±0,85 <0,001	5,20±0,34 <0,01	126,22±5,15 <0,001
Крысы лечебной группы через одну неделю	7,85±0,64 <0,01	5,67±0,29 *	138,05±2,82 *
Крысы лечебной группы через две недели	7,23±0,87 *	5,98±0,41 *	136,15±4,35 *
Крысы профилактической группы через одну неделю	6,94±0,72 *	5,84±0,36 *	137,01±3,44 *
Крысы профилактической группы через одну неделю	6,74±0,82 *	6,34±0,46 *	139,42±4,08 *
* - статистически незначимые отличия от данных интактных крыс			

Снижение количества эритроцитов и гемоглобина в крови крыс из «лечебной» и «профилактической» групп были не столь значимы, как количество лейкоцитов, что, очевидно, обусловлено наличием железа в составе «Хилак» и, очевидно, после соответствующего изучения этого вопроса и получения положительных результатов, можно найти еще одно применение этой минеральной воде.

1.19. Влияние двенадцатидневного приёма минеральной воды на морфологическую характеристику желудка при гиперацидном гастрите

Проведенные морфологические исследования на базе ГБУЗ Республиканского патологоанатомического бюро, за что мы выражаем им благодарность показали, что у крыс контрольной группы, двукратно интоксигированных 5% раствором уксусной кислоты в слизистой и подслизистой оболочках желудка и двенадцатиперстной кишки были

крупные очаги кровоизлияний, с мелкими поверхностными эрозиями, отеком собственной пластинки и паретически (слабыми, вялыми) расширенными полнокровными сосудами, но местами слипшихся, то есть с явлением стаза, где и отмечались частично лизированные эритроциты. Покровно-ямочный эпителий с очаговой десквамацией, признаками дистрофии и очаговой атрофии. В подслизистой оболочке наблюдается рассеянная нейтрофильная инфильтрация (рисунок 7), что также говорит о воспалительном характере (гастрит) повреждений желудка и двенадцатиперстной кишки.

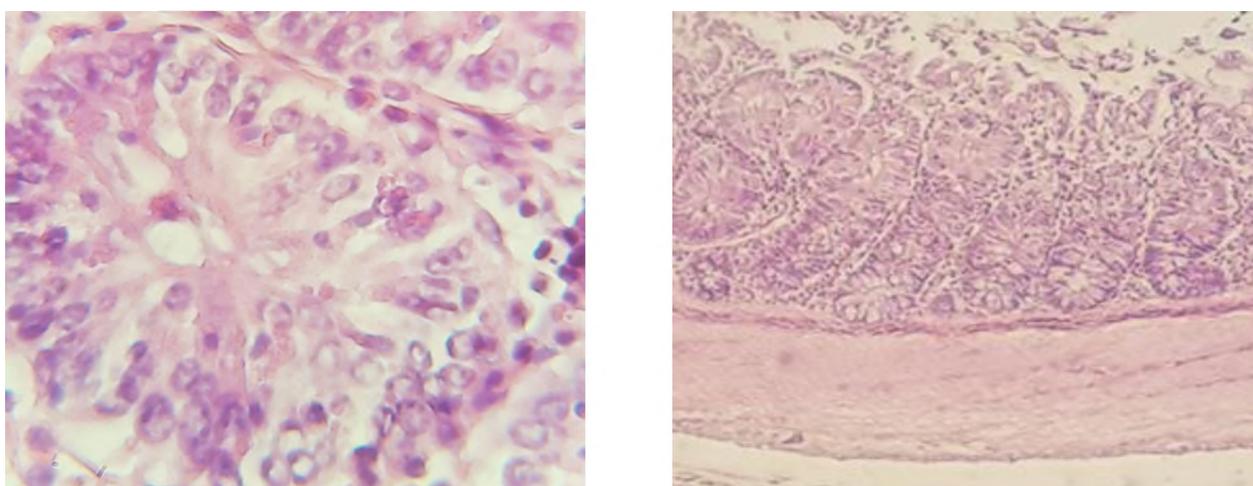


Рисунок 7 Морфология желудка. Окраска азур-эозином.

Морфологическая картина желудка и стенки двенадцатиперстной кишки экспериментальных крыс профилактической подгруппы выглядела следующим образом: фрагменты стенки желудка и стенки двенадцатиперстной кишки с незначительным отёком подслизистой основы, менее выраженными явлениями десквамации покровно-ямочного эпителия, полнокровие сосудов было неравномерным, а единичные эрозии не распространялись глубже шеек желез. Но при этом в подслизистой оболочке имелись очаги лимфогистиоцитарного инфильтрата. То есть выявленные изменения также как у крыс контрольной группы имели воспалительный характер, но менее выраженный с уменьшением количества эрозий и

геморрагий, общей площади и глубины повреждения слизистой. Активность и клеточный состав воспалительной реакции.

Что касается морфологической характеристики желудка и двенадцатиперстной кишки крыс лечебной подгруппы, где после второго введения 5% раствора уксусной кислоты начали на следующий день давать минеральную воду, то можно было отметить картину близкую к контрольной подгруппе, с той лишь разницей, что глубина поражения слизистой, степень и площадь дистрофических изменений были не столь выраженные и обширные.

Таким образом, поставленная цель создания на крысах линии Вистар модели экспериментального гиперацидного гастрита достигнута, о чём говорят данные морфологии и снижение количества лейкоцитов в периферической крови, что подтверждает воспалительный характер патологии. Разделение экспериментальных животных на подгруппы с разным временем начала приёма исследуемой минеральной воды, позволит в дальнейшем сформировать метод его применения у больных с патологией желудочно-кишечного тракта как в качестве лечебного средства природного происхождения. А полученные результаты позволяют однозначно отметить положительное влияние приёма минеральной воды «Хилак» в качестве профилактического средства при гиперацидном гастрите. Более слабое положительное влияния минеральной воды в качестве лечебного средства, очевидно обусловлено меньшим временем приёма (12 дней), хотя при токсическом поражении почек, полученные результаты после приёма «Хилак» в течение 24-х дней не отличались от 12-и дневного приёма, поэтому при проведении новых исследований будет необходимо учесть это и проводить более длительный приём минеральной воды в качестве лечебного средства при патологии желудка.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Трёхкратное введение в течение одной недели крысам линии Вистар тетрахлорметана в дозе 1,5 мл/кг вызывает токсический гепатит с нарушением кровообращения в печени, полнокровие вен, расширение синусоидов, набухание и гиалиново-капельную дистрофию гепатоцитов. Усиливается перекисидации липидов и снижается антиоксидантная защита, в крови повышаются содержание билирубина, активность щелочной фосфатазы и АлАТ, уровни холестерина, гемоглобина, количество эритроцитов, гематокриное число и коэффициент де Ритиса - снижаются. Постоянный свободный доступ в течение двух недель к гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды «Хилак» оказывает нормализующее влияние на функциональное состояние печени и показатели крови.
2. Однократное внутрижелудочное введение α -нафтилизотиоцианат в дозе 100 мг/кг вызывает внутрипечёночный холестааз с повышением в крови уровня холестерина, билирубина (общего, прямого и непрямого) и активности щелочной фосфатазы. Двухнедельный приём минеральной воды оказывает положительный нормализующий эффект на эти показатели, особенно в том случае, если её принимать до создания модели и после (профилактическо-лечебный приём).
3. Однократный приём минеральной воды «Хилак» оказывает диуретическое действие. Минеральная вода быстрее, чем водопроводная, всасывается в желудочно-кишечном тракте, увеличивая объём циркулирующей крови, ускоряя гидремическую реакцию со снижением содержания общего белка в плазме крови, количества гемоглобина в крови и гематокритного числа. Ежедневный, в течение 12-и дней приём минеральной воды усиливает диуретический эффект и при этом отмечается повышение спонтанного диуреза на следующий день. При курсовом приёме минеральной воды

на протяжении 24-х дней диуретический эффект ослабевает, а спонтанный диуреза на следующий день не отличается от нормы.

4. Трёхкратное в/м введение глицерина в дозе 0,8 мл/100г вызывает поражение токсическое поражение почек, приводящее к их недостаточности и повышение в крови содержания креатинина, снижение спонтанного диуреза, которое сменяется на полиурию, с максимальным проявлением через один месяц, вследствие ускорения клубочковой фильтрации и снижения канальцевой реабсорбции воды, а через два и три месяца – уже только из-за ослабления обратного всасывания воды в канальцах почек. Двукратное в день, в течение 12-и дней, введение крысам с почечной недостаточностью, изучаемой нами гидрокарбонатной минеральной воды, способствует снижению повышенного содержания креатинина и нормализации диуреза и основных процессов мочеобразования. Однако положительный эффект отмечается только при хронической почечной недостаточности (в полиурическую стадию почечной недостаточности приём «Хилак» нецелесообразен).
5. Однократное введение крысам смеси, состоящей из равнодолевых частей гомогената коркового вещества почек и полного адьюванта Фрейнда по 0,1 мл/100г в/м в подмышечных и паховых областях и внутрибрюшинно, вызывает аутоиммунный нефрит (нефрит Хеймана), при котором поражается клубочково-канальцевый аппарат почек с явлениями инфильтрации, кровоизлияний и дистрофии, а функционально это сопровождается повышением содержания креатинина и снижением общего белка в плазме крови, протеинурией и изменением количества выделяющейся мочи (повышение в течение первого месяца после иммунизации, вследствие ослабления канальцевой реабсорбции, и снижение спустя один месяц, но уже в результате ослабления клубочковой фильтрации из-за уменьшения объёмной скорости почечного кровотока). Ежедневный приём

минеральной воды в течение двенадцати дней не оказывает влияния на изменения, созданные введением аутоиммунной смеси, поэтому приём «Хилак» при аутоиммунном нефрите нецелесообразен.

6. Двукратное внутрижелудочное введение 5% раствора уксусной кислоты в дозе 4,0 мл/кг веса крыс вызывает развитие гиперацидного гастрита при котором отмечается отёк подслизистой желудка и двенадцатиперстной кишки, десквамация покровно-ямочного эпителия, неравномерное полнокровие сосудов, единичные эрозии и наличие очагов лимфогистиоцитарного инфильтрата в подслизистой оболочке. В крови повышается количество лейкоцитов, вес крыс, содержание общего белка в крови, количество эритроцитов и уровень гемоглобина снижаются, но двенадцатидневный приём минеральной воды способствует улучшению выявленных изменений, особенно в случае профилактического приёма, когда, очевидно гиперацидный гастрит не развивается столь значительно.
7. Таким образом, на основании экспериментальных данных, полученных на лабораторных белых крысах линии Вистар, приём гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды Республики Северная Осетия-Алания «Хилак» целесообразен в качестве лечебного и профилактического средства при токсическом гепатите, холестазае, хронической почечной недостаточности и гиперацидном гастрите, но при аутоиммунном нефрите и острой почечной недостаточности – не целесообразен.

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Обросов А.И. К вопросу о механизме лечебного действия физических факторов // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. -1990. -N 5. -С.46-49.
2. Васин В.А., Кайсинова А.С., Данилов С.Р. Курортные богатства Северного Кавказа: минеральные воды Северной Осетии // Курортная медицина. -2014. -N 4. -С.4-8.
3. Данилов С.Р., Цаллагова Л.В., Кайсинова А.С., Дзансолова М.М. Обоснование к применению минеральной воды Тиб-2 в лечебных и реабилитационных целях // Курортная медицина. -2014. -№ 1. -С.19-22.
4. 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. -N 3. -С. 35-42.
5. Фролков В.К. Новые представления о механизмах лечебно-профилактического действия питьевых минеральных вод // Клиническая медицина и фармакология. -2015. -N 4. -С.34-36.
6. Туровина Е.Ф., Шишина Е.В., Шумасова Ф.К., Аверин С.О. Лечебные минеральные воды юга тюменской области // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. -2018. -N 3. -С.69-73
DOI: 10.17116/kurort201895369
7. Сидорина Н.Г., Клопотова Н.Г. Перспективы создания препаратов с использованием гидроминеральных лечебных ресурсов Сибири // Курортная медицина. -2017. -N 1. -С. 26-31.
8. Murakami S., Goto Y., Ito K., Hayasaka S., Kurihara S., Soga T., Tomita M., Fukuda S. The Consumption of Bicarbonate-Rich Mineral Water Improves Glycemic Control // Evid Based Complement Alternat Med. -2015. -P.10. doi: 10.1155/2015/824395

9. Шведунова Л.Н., Ходова Т.В., Полозков И.М. Оздоровление детей с синдромом экологической дезадаптации на курорте // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. -2010. -N 2. -С. 21-22.
10. Вериго Н.С., Улащик В.С. Гепатотропное действие содержащей гуминовые кислоты хлоридно-гидрокарбонатной натриевой минеральной воды (экспериментальное исследование) // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. -2015. -N 1 (92). -С.37-42. doi: 10.17116/kurort2015137-42.
11. Влияние хлоридно-гидрокарбонатной натриевой минеральной воды Рычал-Су на некоторые физиологические и биохимические показатели печени крыс с экспериментальным токсическим гепатитом / В.А. Макаров В.А., Ю.А. Огурцов, С.А. Реккандт и др. // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. -2001. -N 5. -С. 24-26.
12. Скуратов А.Г. Тетрахлорметановая модель гепатита и цирроза печени у крыс // Экспериментальная и клиническая гастроэнтерология. -2012. -N 9. -С. 37-40.
13. Модель токсического поражения печени у кроликов / А.Н. Лызииков, Б.Б. Осипов, А.Г. Скуратов и др. // Проблемы здоровья и экологии. -2015. -N 2 (44). -С. 45-50.
14. Влияние тетрахлорметана на состояние процессов липопероксидации крови и печени крыс / С.Ю. Большухин, С.П. Перектягин, А.К. Мартусевич и др. // Биорадикалы и антиоксиданты. -2014. -N 1 (1). -С. 59-65.
15. Rahmouni F., Hamdaoui L., Badraoui R., Rebai T. Protective effects of Teucrium polium aqueous extract and ascorbic acid on hematological and some biochemical parameters against carbon tetrachloride (CCl₄) induced toxicity in rats. Biomed Pharmacother. -2017. -Vol. 91. -P. 43-48. doi: 10.1016/j.biopha.2017.04.071.

16. Hertzog P.J., Bhathal P.S., Dorling P.R., Le Page R.N. Alpha-naphthylisothiocyanate-induced cholestasis in the rat: studies of liver plasma membrane enzymes // Pathology. -1975. -Vol. 7, N 1. -P. 13-23.
17. Chisholm J.W., Dolphin P.J. Abnormal lipoproteins in the ANIT-treated rat: a transient and reversible animal model of intrahepatic cholestasis // Journal of Lipid Research. -1996. -Vol. 37, N 5. -P. 1086-1098.
18. Uchida K., Ogura Y., Yamaga N., Yamada K. α -Naphthylisothiocyanate (ANIT) Induced Cholestasis in Rats // Yonago Acta medica. -2002. -Vol. 45, N 2. -P. 59–68.
19. Джиоев И.Г., Фидарова А.М. Некоторые особенности функции и морфологии почек в условиях различных моделей экспериментальной почечной недостаточности // Вестник новых медицинских технологий. - 2008. -Т.XV, N 1. -С. 38-39.
20. Фидарова А.М., Акоева Л.А., Джиоев И.Г. Некоторые гематологические показатели и морфология почек крыс в условиях экспериментальной гипокальциемии // Вестник новых медицинских технологий. -2009. -Т. 16, N 4. -С. 28-29.
21. Борисова И.В., Штрыголь С.Ю. Ренальные и нейропротекторные эффекты перфторана на модели токсического поражения почек у крыс // Биомедицинский журнал. -2004. -Т.5. -С.136-139
22. Альбини Б., Брентьерс Я.Р., Андрее Д.А. Иммунопатология почек: Пер. с англ. -М.: Медицина, 1982. -263 с.
23. Джиоев 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. -N 10-6. -С. 1098-1102.
24. Джиоев И.Г., Клочков Д.А., Кабоева Б.Н., Батагова Ф.Э., Бедоева З.Р. Влияние дофамина на водовыделительную функцию почек крыс с экспериментальным аутоиммунным нефритом // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. 2016. № 1-3. С. 343-346.

25. Кумар В., Аббас А.К., Фаусто Н., Астер Дж.К. Основы патологии заболеваний / пер. с англ. -2014. -Т. 2. -1098 с.
26. Хендерсон Дж.М. Патофизиология органов пищеварения. -Бином, 2019. - 272 с.
27. Колотилова М.Л. Механизмы терапевтической эффективности цеолитсодержащего трепела на моделях острого токсического гепатита, острого гиперацидного гастрита и язвы желудка. Автореф.дисс. док. мед. наук.... -2005. -53 с.
28. Кульневская М.Н., Неклюдова В.В., Косарева П.В., Самоделкин Е.И., Черешнев В.А., Черанева М.В. Способ моделирования химического гастрита. Патент на изобретение. N 2442227С2. -2012. <https://findpatent.ru/patent/244/2442227.html>
29. Blandizzi C., Fornai M., Colucci R. et al. Lansoprazole prevents experimental gastric injury induced by non-steroidal anti-inflammatory drugs through a reduction of mucosal oxidative damage // World J. Gastroenterol. -2005. - vol.11. N 26. –P. 4052-4060
30. Adinortey M.B., Ansah C., Galyuon I., Nyarko A. In vivo models used for evaluation of potential antigastroduodenal ulcer agents // Ulcers. -2013. ID796405.
31. Борисова М.С., Соколов Д.Н., Жукова Н.А., Толстикова Т.Г., Салахутдинов Н.Ф. Противоязвенная и противовоспалительная активность тиазолидинона на основе камфоленового альдегида // Сибирский научный медицинский журнал. -2018. -Т. 38, N 2. -С. 5-12 DOI: 10.15372/SSMJ20180201
32. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований). -М.: МЕДпресс-информ, 2017. - 720 с.
33. Можяева И.В., Логунова Л.В., Джигоев И.Г., Пронина Н.Н. Некоторые механизмы действия на функцию почек минеральной воды Северной

- Осетии Тиб-2 // Вопросы курортологии, физиотерапии и лечебной физической культуры. -1984. - N 4. -С. 47-49.
34. 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. -N 2. -С.48-51.
35. Джигоев И.Г., Хетагурова Л.Г. Механизмы влияния минеральной воды "Тиб-2" на течение экспериментального токсического нефрита у крыс // Владикавказский медико-биологический вестник. -2002. –Т.2 (3-4). -С. 70-75.
36. Bark B., Persson J., Grände P.O. Importance of the infusion rate for the plasma expanding effect of 5% albumin, 6% HES 130/0.4, 4% gelatin, and 0.9% NaCl in the septic rat. *Crit Care Med.* -2013. -vol. 41 (3). -P. 857-66. doi: 10.1097/CCM.0b013e318274157e
37. Кочанов Д.А. Методика флюориметрии плазмы для измерения объема циркулирующей крови: дис. ... канд. мед. наук. -Москва, 2008. -130 с.
38. Moralidis E, Papanastassiou E, Arsos G, Chilidis I, Gerasimou G, Gotzamani-Psarrakou A. A single measurement with (51)Cr-tagged red cells or (125)I-labeled human serum albumin in the prediction of fractional and whole blood volumes: an assessment of the limitations. *Physiol. Meas.* -2009. -vol. 30 (7). -P. 559-71. doi: 10.1088/0967-3334/30/7/003
39. Fahmy S.R., Hamdi S.A. Curative effect of the Egyptian marine *Erugosquilla massavensis* extract on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rat liver and erythrocytes. *Eur Rev Med Pharmacol Sci.* -2011. -Vol. 15, N 3. -P. 303-12.
40. Есауленко Е.Е. Сравнительная оценка гепатопротекторных свойств фармпрепарата «Фосфоглив», льняного масла и масел из плодов грецкого и черного орехов // Современные проблемы науки и образования. [Электронный ресурс]. -2014. -N 2. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=12311>

41. Дрель В.Ф. Активность аминотрансфераз и гамма-глутамилтрансферазы на фоне токсического гепатита // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. -2012. -N 2 (7). -С. 98-101.
42. Brun-Heath I., Ermonval M., Chabrol E., Xiao J., Palkovits M., Lyck R., Miller F., Couraud P.O., Mornet E., Fonta C. Differential expression of the bone and the liver tissue non-specific alkaline phosphatase isoforms in brain tissues. *Cell Tissue Res.* -2011. -Vol. 343, N 3. -P. 521-536.
43. Влияние минеральной воды в физиологических условиях и при некоторой патологии на функции почек / Н.Н. Пронина, Л.В., Логунова, И.Г. Джиоев и др. // Сборник «Лечебное использование курортных факторов Северной Осетии». -Владикавказ, 1989. -С. 66-74.
44. Джиоев И.Г., Брин В.Б. Влияние минеральной воды Северной Осетии «Тиб-2» на диурез и основные процессы мочеобразования в эксперименте // Вестник МАНЭБ. -2002. -N 2 (7). -С. 75-82.
45. Makni M., Chtourou Y., Fetoui H., Garoui M., Barkallah M., Marouani S., Kallel S., Zeghal N. Erythrocyte oxidative damage in rat treated with CCl₄: protective role of vanillin. *Toxicol Ind Health.* -2012. -Vol. 28, N 10. -P. 908-916. doi: 10.1177/0748233711427055.
46. Патологическая физиология. Клиническая патологическая физиология: учебник в двух томах / под ред. проф. В.Н. Цыгана: в 2-х том. Т.2. -СПб: СпецЛит, 2018. -495 с.
47. Rahmouni F., Saoudi M., Amri N., El-Feki A., Rebai T., Badraoui R. Protective effect of *Teucrium polium* on carbon tetrachloride induced genotoxicity and oxidative stress in rats. *Arch Physiol Biochem.* -2018. -Vol. 124, N 1. -P. 1-9. doi: 10.1080/13813455.2017.1347795.
48. Наточин Ю.В. Физиология человека: водно-солевой гомеостаз // Физиология человека. -2018. -Т.44, N 3. -С. 5-13. DOI: 10.7868/S0131164618030013.
49. Кумар В., Аббас А.К., Фаусто Н., Астер Дж.К. Основы патологии заболеваний по Робинсону и Котрану / пер. с англ. под ред. Е.А. Коган и др. В 3-х томах. Т. 2: гл.11-20. -М.: Логосфера, 2016. -616 с.

50. Moss R., Thomas S.R. Hormonal regulation of salt and water excretion: a mathematical model of whole kidney function and pressure natriuresis. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*. -2014. -vol. 306. N. 2. -P. 224-48. DOI: 10.1152/ajprenal.00089
51. Рябов С.И., Арьев А.Л., Ракитянская И.А. Нефрология. В 3-х томах. - СпецЛит, 2013.
52. 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, N 2. -P. 303-310.
53. Томилина Н.А. Хроническая болезнь почек. Избранные главы нефрологии. -М.: ГЭОТАР-Медиа, 2017. -546 с.
54. Гуранова Н.Н., Усанова А.А. Нефрология. -Изд.: ГЭОТАР-Медиа, 2019. – 432 с.
55. Girndt M. Diagnosis and treatment of chronic kidney disease. *Internist (Berl)*. - 2017. -Vol.58, -N 3. -P. 243-256. doi: 10.1007/s00108-017-0195-2.
56. Афанасьев Ю.И., Юрина Н.А. Гистология, эмбриология, цитология. -М.: ГЭОТАР-Медиа, 2018. -790 с.
57. Гайтон А.К., Холл Д.Э. Медицинская физиология. -М.: Логосфера, 2018. - 1328 с.

ПРИЛОЖЕНИЕ А

1. Джигоев И.Г., Скупневский С.В., Батагова Ф.Э., Ремизов О.В., Кабоева Б.Н. Влияние гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды на функции печени при экспериментальном токсическом гепатите // Современные проблемы науки и образования. [Электронный ресурс]. -2018. -N 4. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=27971>
2. Dzhioev I.G., Batagova F.E., Remizov O.V., Gudzaeva E.A., Akhmadov I.I. The Effect of the Course Intake of Hilak Mineral Water on Liver Function in Experimental Toxic Hepatitis and Intrahepatic Cholestasis // Proceedings of the International Conference on Health and Well-Being in Modern Society (ICHW 2019). Advances in Health Sciences Research. -2019. -vol. 6. –P.83-87. <https://doi.org/10.2991/ichw-19.2019.21>
3. Джигоев И.Г., Гуцаева Э.А., Батагова Ф.Э. Влияние двухнедельного приёма минеральной воды «Хилак» на функции печени при экспериментальном внутрпечёночном холестазае // Научная конференция «Фундаментальные и прикладные проблемы медицины и биологии». -2019. <http://econf.rae.ru/article/11692>
4. 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. [Электронный ресурс]. -2020. -N 2. <http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=29622>
5. Джигоев И.Г., Гуцаева Э.А., Ремизов О.В., Березова Д.Т., Черткоева М.Г. Влияние гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды Северной Осетии на функции почек при экспериментальном токсическом нефрите // Современные проблемы

- науки и образования. [Электронный ресурс]. -2020. -N 6.
<http://www.science-education.ru/ru/article/view?id=30332>
6. Джиоев И.Г., Гуцаева Э.А., Ремизов О.В., Берёзова Д.Т., Батагова Ф.Э. Влияние гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды на функции почек при экспериментальном аутоиммунном нефрите // Современные проблемы науки и образования. [Электронный ресурс]. -2021. -N 1.
7. Джиоев И.Г., Гуцаева Э.А., Берёзова Д.Т. Влияние гидрокарбонатной углекисло-хлоридно-натриевой минеральной воды Северной Осетии «Хилак» на морфологическое состояние желудка при экспериментальных гиперацидном гастрите // Вестник международной академии наук экологии и безопасности жизнедеятельности. -2020. -Т. 25, N 4. ч.2. - С. 61-66