

© О.Н.Береснева, М.М.Парастаева, А.Г.Кучер, Г.Т.Иванова И.Г.Каюков, О.В.Митрофанова, 2003  
УДК 616.61-008.64-036.92.001.5-08.857:547.96

*О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, А.Г. Кучер, Г.Т. Иванова,  
И.Г. Каюков, О.В. Митрофанова*

## ВЛИЯНИЕ СОДЕРЖАНИЯ БЕЛКА В ДИЕТЕ НА ПРОГРЕССИРОВАНИЕ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

*O.N. Beresneva, M.M. Parastaeva, A.G. Kucher, G.T. Ivanova,  
I.G. Kayukov, O.V. Mitrofanova*

## EFFECTS OF DIETARY PROTEIN ON THE DEVELOPMENT OF EXPERIMENTAL CHRONIC RENAL FAILURE

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им.акад. И.П. Павлова, Институт физиологии им. И.П. Павлова РАН, Санкт-Петербург, Россия

### РЕФЕРАТ

**ЦЕЛЮ ДАННОЙ РАБОТЫ** являлось исследование влияния кетостерила и SUPRO 760, содержащихся в пищевом рационе на развитие экспериментальной хронической почечной недостаточности (ХПН) у крыс линии Wistar. Модель ХПН создавали с помощью стандартной двухэтапной операции (5/6 нефрэктомии). **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Были исследованы следующие группы крыс: (1) крысы, подвергнутые 5/6 нефрэктомии (НЭ) и получавшие стандартную диету; (2) крысы, которые через две недели после НЭ получали диету, содержащую кетостерил (10% кетостерила + 90% углеводов) в течение 6 последующих недель; (3) крысы, получавшие после НЭ диету, содержащую SUPRO 760 (10% соевого белка + 90% углеводов); (4) ложноперированные крысы, получавшие стандартную диету (контрольная группа), и (5) ложноперированные крысы, получавшие SUPRO 760 (10% соевого белка + 90% углеводов). **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Через 8 недель после НЭ уремических крыс сравнили с ложноперированным контролем. У уремических крыс (группа 1) отмечалось повышение мочевины, холестерина, фосфора и снижение общего кальция в сыворотке крови, по сравнению с контролем. Содержание мочевины, фосфора, холестерина в сыворотке крови крыс, получающих в диете SUPRO 760 или кетостерил, хотя и превышало показатели контрольных групп, но было ниже, чем в группе 1. Уровень кальция не снижался. Артериальное давление было значительно выше в группе 1, чем в группах 2 и 3. Гипертрофия левого желудочка сердца была ниже у крыс, получающих после НЭ SUPRO 760 (группа 3), чем в группах 1 и 2. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Проведенные исследования выявили положительное влияние SUPRO 760 на замедление прогрессирования экспериментальной ХПН и подтверждают возможность использования соевых белков в пищевом рационе нефрологических пациентов.

**Ключевые слова:** экспериментальная хроническая почечная недостаточность, низкобелковая диета, SUPRO 760.

### ABSTRACT

**THE AIM** of the work was to investigate effects of ketosteril and SUPRO 760 found in nutritional ration on the development of experimental chronic renal failure (CRF) in Wistar rats. A model of CRF was made by means of a standard two-stage operation (5/6 nephrectomy). **MATERIALS AND METHODS.** Under investigation there were 5 groups of rats: 1. rats with 5/6 nephrectomy (NE) given a standard diet; 2. rats which in two weeks after NE were given the diet having ketosteril (10% ketosteril + 90% carbohydrate) for the following 6 weeks; 3. rats given the diet containing SUPRO 760 (10% soy protein + 90% carbohydrate) after NE; 4. sham operated rats given the standard diet (control group); 5. sham operated rats given SUPRO 760 (10% soy protein + 90% carbohydrate). **RESULTS.** Within 8 weeks after NE the uremic rats were compared with the sham operated controls. The uremic rats (group 1) had elevated urea, cholesterol, phosphorus and reduced total calcium in blood serum as compared to the control. The content of urea, cholesterol, phosphorus in blood serum of rats given the diet with SUPRO 760 or ketosteril was lower than that in group 1, though was higher than the indices of the control groups. Calcium level was not reduced. Arterial pressure was considerably higher in group 1 than in groups 2 and 3. Hypertrophy of the left heart ventricle was less in the rats given SUPRO 760 after NE (group 3) than in groups 1 and 2. **CONCLUSION.** The investigations performed have revealed positive effects of SUPRO 760 on slowing down the development of experimental CRF and confirmed the possibility to use soy proteins in nutritional ration of neurological patients.

**Key words:** experimental chronic renal failure, low protein diet, SUPRO 760.

### ВВЕДЕНИЕ

Развитие хронической почечной недостаточности (ХПН) является исходом большинства диффузных заболеваний почек, поэтому профилактика возникновения ХПН и замедление ее прогрессирования можно отнести к важнейшим задачам нефрологии.

В комплексе лечения больных с нарушением функции почек одно из ведущих мест принадлежит диете с ограничением содержания животного белка, известной еще с прошлого века, но наиболее активно разрабатываемой в последние 20-30 лет [1-3]. В то же время, при малобелковой диете

(МБД) широко используются фрукты, овощи (картофель), крупы с небольшим содержанием белка, например, рисовая и перловая.

МБД улучшает самочувствие больных, снижает уровень азотемии и замедляет развитие нарушений фосфорно-кальциевого обмена. Специалисты связывают положительное воздействие МБД на течение ХПН с уменьшением гиперперфузии и гиперфильтрации оставшихся нефронов, так как повышение скорости клубочковой фильтрации в ответ на белковую нагрузку у больных с ХПН способствует склерозированию клубочков [4,5]. Клинические исследования и эксперименты на животных, подвергнутых 5/6 нефрэктомии (НЭ), показали, что МБД способствует сохранению остаточной функции почек, замедляет развитие морфологических изменений, увеличивает продолжительность жизни [6-8]. Однако при длительном применении диеты с низким содержанием белка у пациентов часто развивается дефицит незаменимых аминокислот (АК), что требует возмещения их в виде специальных добавок.

Для предотвращения дефицита незаменимых АК у больных с ХПН используют препараты, включающие аминокислоты и их кетоаналоги: кетостерил, кетоперлен, ультрамин и другие [9]. Употребление этих добавок позволяет значительно уменьшить содержание протеинов в пищевом рационе, что существенно снижает гломерулярную гиперфильтрацию, способствующую прогрессированию почечной недостаточности [10,11]. Однако длительная терапия вызывает у пациентов отвращение к препаратам и снижение массы тела. Кроме того, она увеличивает стоимость лечения (около 2500 долларов США в год на одного больного) [2].

В последние годы в лечебном питании пациентов с ХПН стали использовать растительные белки, которые в меньшей степени обладают отрицательными свойствами, отмеченными для животных протеинов. В то же время большинство белков растительного происхождения неполноценны по своему аминокислотному составу [12]. Единственным растительным протеином, содержащим все незаменимые АК, является соевый белок [14, 13]. Особый интерес вызывают соевые изоляты, обладающие высокой концентрацией полноценного белка и практически не содержащие фосфора, калия, натрия, углеводов, липидов. В отличие от животных протеинов они не индуцируют гиперкальциурию, метаболический ацидоз, стимулируют лимфопоз [14, 15]. Соевые белки имеют и меньшую стоимость по сравнению с препаратами, содержащими незаменимые АК и кетоаналоги.

Следует отметить, что соевые продукты как традиционные (соевое молоко), так и современные

(изоляты, концентраты, мука), используются при лечении хронических сердечных заболеваний, различных видов патологий органов пищеварения, остеопорозов, в онкологии [15]. Немногочисленные литературные данные свидетельствуют и о благоприятном влиянии соевых белков на функцию почек [2,16].

Однако несмотря на возрастающий интерес к использованию соевых продуктов длительные исследования, в которых прослеживалась бы динамика функционального состояния почек, сердечно-сосудистой системы и других органов как у пациентов с ХПН, так и у экспериментальных животных, получающих диету с включением соевых протеинов, отсутствуют.

В связи с этим, целью нашей работы являлось изучение влияния диет с различным содержанием белка на биохимические показатели крови, артериальное давление (АД) и гипертрофию миокарда крыс, подвергнутых удалению 5/6 массы почечной паренхимы.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проводили на взрослых (масса 210-240 г) крысах-самцах линии Wistar (питомник «Колтуши»). Модель почечной недостаточности создавали посредством 5/6 НЭ. Операция выполнялась в два этапа с интервалом в одну неделю. Через 14 дней после второго этапа НЭ животные были разделены на группы, получающие в течение последующих 6 недель различные по содержанию белка диеты. Крысы первой группы получали стандартный корм, содержащий в своем составе 20% белка. Животные второй группы – диету, включавшую соевый изолят SUPRO 760 (10% изолята и 50% углеводов – перловая крупа); третьей группы - диету, включавшую кетостерил («Фрезениус», ФРГ; 10% кетостерила и 50% углеводов). Контролем служили ложнопериоперированные крысы: четвертая группа получала стандартный корм; пятая – диету, содержащую 10% SUPRO 760.

Перед забоем у всех животных производили измерение АД манжеточным методом, электрограмма и кривая давления в окклюзионной манжетке регистрировались на самописце Н-338-2П при скорости протяжки бумажной ленты 10 мм/с. Уровень АД соответствовал величине давления в манжетке в момент прекращения пульсовых колебаний. Для каждой крысы выполняли 4-5 замеров АД и рассчитывали средние значения трех последних измерений. Забой экспериментальных животных проводили через 2 месяца после НЭ. Во время забоя у животных собирали кровь и определяли уровень мочевины, кальция, фосфора, альбуминов,

**Биохимические показатели ( $\bar{X} \pm m$ ) крови крыс, получающих диеты с различным содержанием белка**

Группы животных	Мочевина ммоль/л	Креатинин ммоль/л	Общий Са ммоль/л	Фосфор ммоль/л	Общий белок г/л	Альбумин г/л	Холестерин г/л
Ложнооперированные (стандартная диета, n=12)	4,9 ± 0,3	34,0 ± 17,0	2,30 ± 0,035	1,9 ± 0,05	55,0 ± 5,0	25,4 ± 2,6	1,28 ± 0,085
Ложнооперированные (SUPRO 760, n=10)	4,5 ± 0,55	24,0 ± 6,0	2,28 ± 0,05	2,04 ± 0,05	55,0 ± 3,5	21,3 ± 0,75	1,02 ± 0,13
НЭ, 2 мес. (стандартная диета, n=11)	16,6 ± 0,9*	51,0 ± 4,00	2,0 ± 0,07*	3,1 ± 0,1*	56,0 ± 6,0	22,8 ± 1,4	1,70 ± 0,18*
НЭ, 2 мес. (SUPRO 760, n=10)	11,4 ± 0,8*	65,0 ± 11,0	2,43 ± 0,09	2,2 ± 0,05	62,0 ± 3,0	27,3 ± 1,0	1,40 ± 0,09
НЭ, 2 мес. (кетостерил, n=10)	7,2 ± 0,8	59,0 ± 28,0	2,39 ± 0,09	2,2 ± 0,1	63,0 ± 4,0	29,3 ± 0,95	1,42 ± 0,13

\* - Различия достоверны относительно контроля,  $p < 0,01$ . n - Количество экспериментальных животных.

общего белка, холестерина, креатинина в сыворотке. Степень гипертрофии левого желудочка сердца оценивали по коэффициенту гипертрофии (КГ). Статистическую обработку результатов проводили с использованием критерия Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ

Проведенные исследования показали, что у крыс, подвергнутых НЭ и получающих в течение двух последующих месяцев стандартный корм, происходит изменение биохимических показателей крови. Отмечается достоверное увеличение уровня мочевины, холестерина, фосфора, снижение общего кальция в сыворотке крови (таблица). Кроме того, у данной группы животных происходит повышение АД ( $150 \pm 10$  мм рт.ст.) относительно ложнооперированного контроля ( $115 \pm 5$  мм рт.ст.) и развивается гипертрофия левого желудочка сердца (ГЛЖС). Коэффициент гипертрофии составлял в среднем  $2,94 \pm 0,12$  (у контрольной группы:  $2,06 \pm 0,13$ ).

Использование МБД, включающей кетостерил, замедляло прогрессирование экспериментальной уремии у животных. Уровень мочевины у данной группы крыс достоверно не отличался от показателей ложнооперированного контроля. Предотвращалось развитие гипокальциемии, снижался уровень фосфора в сыворотке крови (см. таблицу). Кроме того, у крыс, получающих в диете кетостерил, повышения АД не отмечалось ( $125 \pm 5$  мм рт.ст.). Однако развитие ГЛЖС не замедлялось ( $КГ = 3,02 \pm 0,14$ ).

У животных, получающих после НЭ МБД, включающую соевый изолят SUPRO 760, уровень мочевины крови хотя и превышал контрольные показатели, но был достоверно ниже, чем в группе крыс, содержащихся на стандартной диете. Общий кальций от контроля не отличался. Кроме того, МБД,

дополненная SUPRO 760, так же как и диета с кетостерилом, снижала прирост концентрации неорганического фосфора в сыворотке крови, отмеченный после НЭ у животных на стандартном рационе. Статистически достоверных различий по содержанию общего кальция и фосфора в сыворотке крови между двумя группами крыс, получающими МБД, отмечено не было. При обоих видах МБД прирост холестерина оказался значительно ниже, чем на фоне рациона без ограничения потребления протеина. Содержание общего белка и альбумина крови не отличалось от соответствующих показателей контрольной группы на стандартной диете (см. таблицу).

АД у животных, получающих соевый изолят существенно не повышалось ( $130 \pm 3$  мм.рт.ст.). ГЛЖС ( $КГ = 2,60 \pm 0,10$ ) была выражена в меньшей степени, чем у крыс, употреблявших после НЭ стандартный корм или кетостерил.

Следует отметить, что за весь период наблюдения у животных как на обоих видах малобелкового рациона, так и у контрольной группы, получающей SUPRO 760, отсутствовало снижение массы тела.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что использование МБД с добавлением соевого белка замедляет прогрессирование уремии, снижает выраженность ГЛЖС и предотвращает повышение АД, сопровождающее течение экспериментальной ХПН у крыс, содержащихся на стандартном пищевом рационе.

### ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты показали, что у животных через 2 месяца после НЭ происходит повышение АД, развивается ГЛЖС, отмечается гиперхолестеринемия. Эти симптомы существенно влияют на скорость прогрессирования экспериментальной ХПН. Еще

одним фактором, влияющим на течение заболевания является нарушение фосфорно-кальциевого обмена. В наших исследованиях выявлено повышение фосфора и снижение кальция в сыворотке крови животных, подвергнутых уменьшению массы функционирующих нефронов. Известно, что задержка фосфора с возникновением гиперфосфатемии, как и снижение уровня кальция в крови, вызывают развитие вторичного гиперпаратиреоза. Гиперфосфатемия снижает чувствительность паращитовидных желез к содержанию кальция в крови и приводит к увеличению синтеза и секреции ПТГ. В наших предыдущих исследованиях было показано повышение содержания ПТГ в сыворотке крови крыс через 2 месяца после НЭ [17]. Гиперпаратиреоз, в свою очередь, усугубляет нарушения метаболизма кальция, ускоряя прогрессирование ХПН [18]. Практически все продукты животного происхождения, содержащие много белка, имеют в своем составе и много фосфора. Поэтому при ограничении потребления белка уменьшается и поступление в организм фосфора. Кроме того, продукты метаболизма белка обладают токсическими эффектами, усиливают нагрузку на почки, и неоправданно высокое содержание протеинов в пище может ускорять развитие почечной недостаточности. В то же время, адекватное их потребление существенно снижает скорость прогрессирования заболевания.

Используемая в наших исследованиях МБД с добавлением кетостерила замедляла прогрессирование экспериментальной уремии, предотвращая как повышение уровней мочевины и фосфора, так и снижение кальция в сыворотке крови животных. Положительное влияние препарата на фосфорно-кальциевый метаболизм может быть обусловлено тем, что кетокислоты и метионин присутствуют в виде кальциевых солей, в связи с чем служат хорошим источником кальция и дают фосфатсвязывающий эффект. Литературные данные свидетельствуют о том, что МБД с добавлением аминокислот и их кетоаналогов предотвращает развитие вторичного гиперпаратиреоза и кальцификацию почечной паренхимы, усугубляющих течение ХПН. Наши исследования применения МБД в сочетании с приемом кетостерила также показали, что помимо поддержания белкового баланса, кетоаналоги АК способствуют регуляции фосфорно-кальциевого обмена и АД у крыс, подвергнутых НЭ, и замедляют прогрессирование экспериментальной уремии.

Необходимо подчеркнуть, что при снижении содержания белков в диете особенно важен их качественный состав. Предпочтение отдается продуктам с наибольшей биологической ценностью,

то есть с наилучшим соотношением незаменимых АК. Одним из таких препаратов считают соевый изолят SUPRO 760, который, обладая полным набором аминокислот, практически не содержит фосфора. Следует отметить, что основным аргументом против использования МБД у пациентов в додиализный период является возможность развития белково-энергетической недостаточности в результате снижения концентрации общего белка и альбумина в сыворотке крови, что часто сочетается с уменьшением массы тела и увеличением смертности. Полученные нами данные показали, что МБД с добавлением соевого изолята может успешно применяться в течение достаточно длительного срока, не вызывая указанных изменений. Об эффективности использования SUPRO 760 свидетельствует снижение уровней фосфатов и мочевины крови, отсутствие гипоальбуминемии и потери массы тела у экспериментальных животных. Замена животного белка в пищевом рационе крыс соевым протеином также предотвращает повышение АД и приводит к менее выраженному нарастанию ГЛЖС. Таким образом, низкобелковый рацион с соевым изолятом оказывается предпочтительнее кетостерила в отношении влияния на скорость нарастания ГЛЖС у крыс, подвергнутых НЭ. Кроме того, вегетарианская диета с добавлением как SUPRO 760, так и кетостерила снижает уровень общего холестерина в сыворотке крови, что позволяет говорить об уменьшении риска сердечно-сосудистых заболеваний.

Наконец, использование МБД с добавками соевого изолята имеет преимущество по сравнению со стандартной диетой не только в отношении влияния на прогрессирование экспериментальной ХПН, но и воздействует на ряд важнейших метаболических параметров у здоровых животных. В частности, полученные в данной работе результаты подтверждают факт холестеринснижающего воздействия соевого белка и служат дополнительным обоснованием целесообразности применения МБД с SUPRO 760. Однако для объективной оценки эффективности МБД с добавлением соевых продуктов и выявления ее места среди других методов консервативной терапии ХПН необходимы дополнительные длительные и разносторонние клинические и экспериментальные исследования.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о благоприятном влиянии соевого изолята SUPRO 760 на замедление скорости прогрессирования экспериментальной ХПН, снижение АД и уменьшение гипертрофии левого желу-

дочка сердца крыс по сравнению со стандартной диетой. Они подтверждают целесообразность использования добавок из протеинов сои в пищевом рационе нефрологических больных.

#### БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Ермоленко ВМ. Малобелковая диета при хронической почечной недостаточности. В: Рябов СИ, ред. *Лечение хронической почечной недостаточности*. Фолиант, СПб. 1997;135-146
2. Кучер АГ Проблемы лечебного питания у больных с хронической почечной недостаточностью. *Нефрология* 1997;(1):79-84
3. Levey AS, Adler S, Caggiula AW et al. Effects of dietary protein restriction on the progression of advanced renal disease in the modification of diet in renal disease study. *Am J Kidney Dis* 1996; 27 (5):652-663
4. Бреннер БМ. Механизмы прогрессирования болезней почек. *Нефрология* 1999; (3):23-27
5. Messina M, Gardner C, Barnes S. Gaining insight into the health effects of soy but a long way still to go: commentary on the fourth international symposium on the role of soy in preventing and treating chronic disease. *J Nutr* 2002; 132(2):547S-551S
6. Polzin DJ, Osborne CA, Ross S, Jacob F. Dietary management of feline chronic renal failure: where are we now? In what direction are we headed? *J Feline Med Surg* 2000; 2(2): 75-82
7. Schafer L, Meier K, Hafner C et al. Protein restriction influences glomerular matrix turnover and tubular hypertrophy by modulation of renal proteinase activities. *Mineral Electrolyte Metab* 1996; 22 (1-3): 162-167
8. Soroka N, Silverberg DS, Greemland M et al. Comparison of a vegetable-based (soya) and an animal-based low - protein diet in predialysis chronic renal failure patients. *Nephron* 1998; 72(2):173-180
9. Лифшиц НЛ, Николаев АЮ. Применение диеты с низким содержанием белка в сочетании с кетоаналогами незаменимых аминокислот при лечении хронической почечной недостаточности. Современное состояние проблемы. *Тер арх* 1999; (1):74-77
10. Tzekov VD, Tilikian EE, Pandeva SM et al. Low protein diet and ketosteril in predialysis patients with renal failure. *Folia Med (Plovdiv)* 2000; 42(2): 34-37
11. Zakar G. The effect of a keto acid supplement on the course of chronic renal failure and nutritional parameters in predialysis patients and patients on regular hemodialysis therapy: the Hungarian Ketosteril Cohort Study. *Wien Klin Wochenschr* 2001; 113(17-18): 688-694
12. Locatelli F. Is the type of protein in the diet more important than its quantity for slowing progression of chronic renal insufficiency? *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12(3): 391-393
13. Fournier D, Erdman JW, Gordon GB. Soy, its components and cancer prevention: a review of the in vitro, animal and human data. *Cancer Epidemiology, Biomarkers and Prevention (Baltimore)* 1998; 7(11): 1055-1065
14. Kaneko K, Masaki U, Aikio M et al. Urinary calcium and calcium balance in young women affected by high protein diet of soy protein isolate and adding sulfurcontaining amino acids and for potassium. *J Nutr Sci Vitaminol* 1990; 36(2): 105-116
15. Barnes S. Evolution of the health benefits of soy isoflavones. *Proc Soc Exp Biol Med (Cambridge)* 1998; 217(3): 386-392
16. Gentil M G, Manna G, D'Amico G. Soy consumption and renal function in patients with nephrotic syndrom: clinical effects and potential mechanism. *Am J Clin Nutr* 1998; 68 [Suppl 6]: 151-165
17. Барабанова ВВ, Береснева ОН. Является ли паратиреоидный гормон основным повреждающим фактором сосудов печени при экспериментальной почечной недостаточности? *Нефрология* 1998; 2(1): 99-104.
18. Cannella G, Messa P. Pathogenesis and treatment of secondary hyperparathyroidism in chronic renal disease. *Int J Artif Organs* 1999; 22(1): 1-7

Поступила в редакцию 14.07.2003 г.