

УДК 615.27.06:616.61-002.1-008.83-092.9

Т.І. Єрмоленко, А.В. Александрова, Д.О. Гордійчук, Ю.М. Онашко

Харківський національний медичний університет

ФАРМАКОЛОГІЧНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ ОСНОВНИХ ФЕРМЕНТІВ СИРОВАТКИ КРОВІ ЩУРІВ З ГОСТРИМ ПОШКОДЖЕННЯМ НИРОК ПРИ ЗАСТОСУВАННІ НАТРІЄВОЇ СОЛІ ПОЛІ-(2,5-ДИГІДРОКСИФЕНІЛЕН)-4- ТІОСУЛЬФОКИСЛОТИ

Встановлено нефропротекторний ефект натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксибенілен)-4-тіосульфоїкислоти, що за більшістю показників перевищує дію референс-препаратів і проявляється при всіх досліджуваних моделях. Комбінована терапія із застосуванням препарату натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксибенілен)-4-тіосульфоїкислоти дозволить поліпшити якість життя хворих та її тривалість, що відповідає основним соціальним потребам і цілям суспільства.

Ключові слова: *гостре пошкодження нирок, ферментопатія, нефропротектор, антигіпоксант.*

Незважаючи на значні успіхи, досягнуті в діагностиці та лікуванні гострої ниркової недостатності, ця проблема вимагає подальшого вивчення [1]. Гостра ниркова недостатність – це потенційно зворотний стан, що характеризується ферментопатією, електролітним дисбалансом, ацидозом, порушенням здатності до виділення води і є результатом гострого важкого порушення ниркового кровотоку, клубочкової фільтрації і канальцевої реабсорбції, що зазвичай виникають одночасно. Гостра ниркова недостатність може розвинути у здорової людини або ускладнити перебіг вже існуючого захворювання нирок [2].

З 2004 р., згідно з консенсусним визначенням Acute Kidney Injury Network, замість терміну «гостра ниркова недостатність» запропоновано використовувати термін «гостре пошкодження нирок». Зараз у вітчизняній літературі нерідко ці поняття визнаються рівнозначними і зустрічаються з однаковою частотою [3].

Частота гострого пошкодження нирок постійно зростає, досягаючи 30 % у деяких відділеннях інтенсивної терапії. Хоча в лікувальну практику впроваджуються нові технології лікування, смертність при гострому пошкодженні нирок на сьогоднішній день залишається високою [4–6].

Тому актуальною проблемою клінічної медицини та сучасної фармакології є пошук політропних лікарських засобів, які б сповільнювали прогресування хронічних хвороб нирок, а також зменшували дію нефротоксичних чинників.

Мета даної роботи – вивчення ефективності застосування препарату метаболічної дії натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксибенілен)-4-тіосульфоїкислоти (ПДТ-Na) на моделях токсичного гострого пошкодження нирок різного генезу за показниками основних ферментів сироватки крові щурів.

Матеріал і методи. Експеримент виконано на 72 білих статевозрілих безпородних щурах-альбіносах масою тіла 150–170 г. Дослідження проводили в лабораторії кафедри фармакології та медичної рецептури ХНМУ у відповідності з Директивою ЄС 86/609 ЄС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень держав ЄС з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети (Страсбург, 1986), а також згідно з методичними рекомендаціями Державного експертного центру МОЗ України (Протокол № 9 засідання Комісії з питань етики та біоетики ХНМУ від 03.12.14) [7–11].

Нефропротекторну активність ПДТ-Na на моделях гострого пошкодження нирок визна-

© Т.І. Єрмоленко, А.В. Александрова, Д.О. Гордійчук, Ю.М. Онашко, 2017

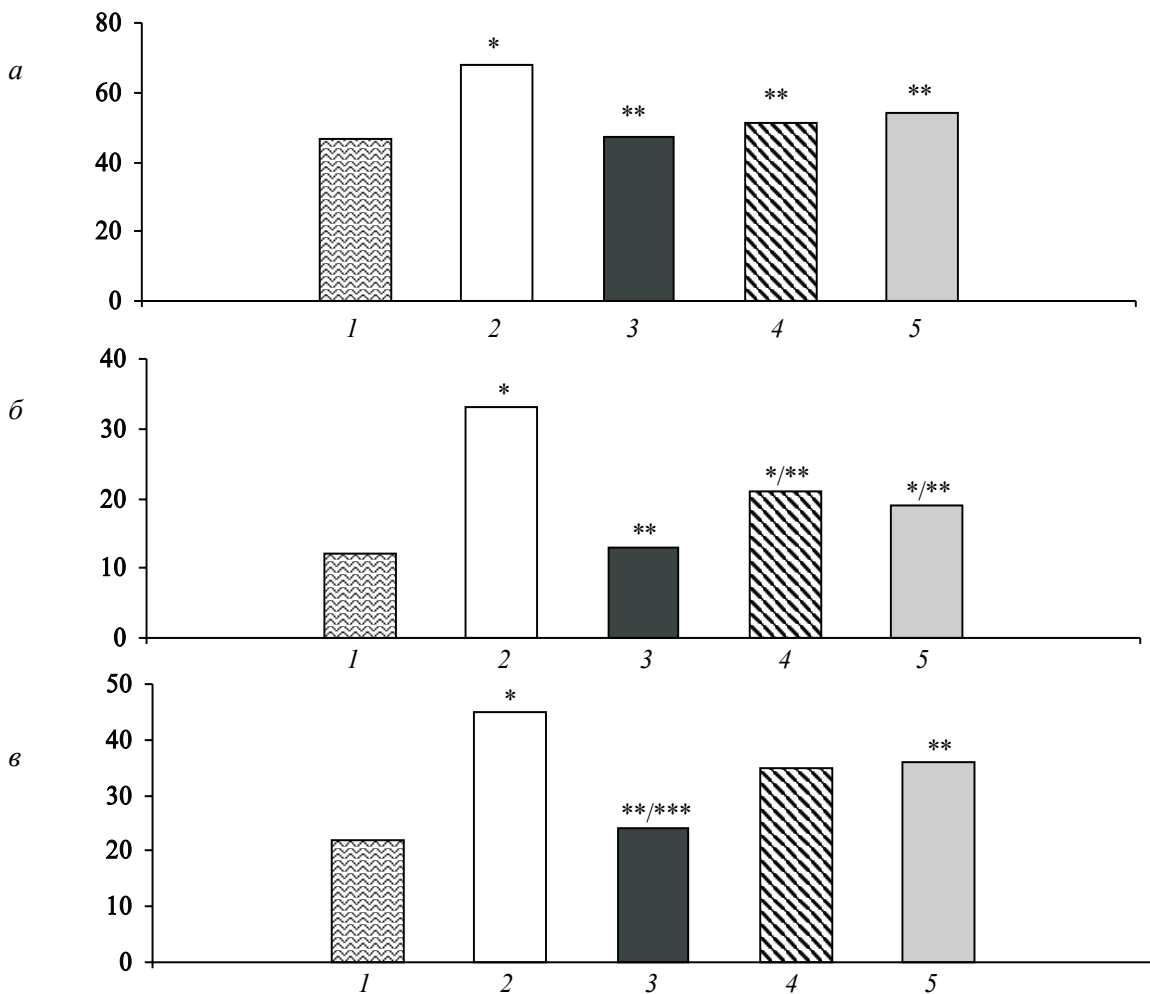
чали за показниками рівня основних ферментів-маркерів морфологічного стану епітелію каналців нирок щурів – гамма-глутамілтрансферази (ГГТ), лактатдегідрогенази (ЛДГ) та лужної фосфатази (ЛФ) в сироватці крові, використовуючи сучасні, найбільш інформативні моделі гострого токсичного пошкодження нирок різного генезу: гліцеролове (міоглобінуричне) і етиленгліколове гостре пошкодження нирок та гентаміцинову нефропатію. Ці моделі віддзеркалюють основні ланки патогенезу гострого пошкодження нирок, доступні та легко відтворюються в лабораторних умовах, придатні як для скринінгу, так і для поглиблених досліджень ефективності потенційних нефропротекторних лікарських засобів [12–24].

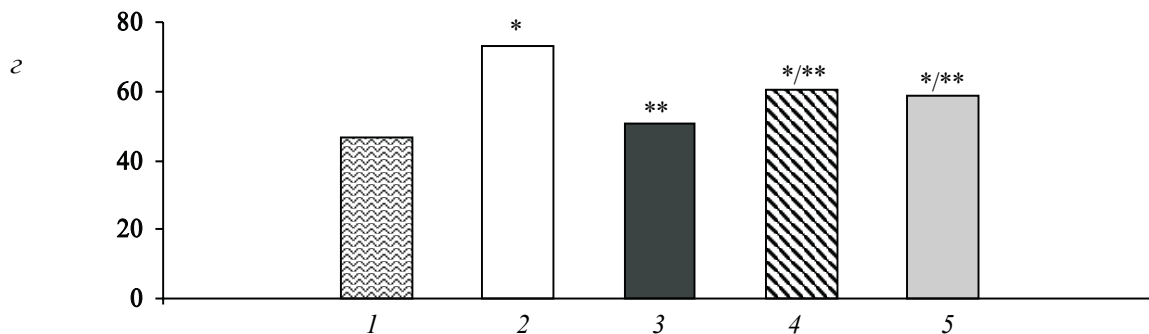
Всі експериментальні тварини були розподілені на п'ять груп по шість щурів у кожній: 1-ша – здорові тварини (інтактний контроль); 2-га – тварини з гострим пошкодженням нирок без лікування (патологія); 3-тя – тварини з гострим пошкодженням нирок + гіпоксен (патологія + ПДТ-На в дозі 90 мг/кг);

4-та – тварини з гострим пошкодженням нирок при застосуванні референс-препарату (патологія + тіотриазолін у дозі 18 мг/кг); 5-та – тварини з гострим пошкодженням нирок при застосуванні референс-препарату (патологія + хофітол у дозі 1,36 мл/кг). Дозовий режим препаратів визначено згідно з інструкцією для медичного застосування з перерахуванням для щурів за коефіцієнтом видової чутливості по Ю.Р. Риболовлеву [25]. У зібраній сироватці крові тварин за допомогою спектрофотометра PD-303 (Arel, Японія) визначали активність основних ферментів-маркерів: ЛДГ (піруват-кінетичний метод), ГГТ (карбоксілазний кінетичний метод) та ЛФ (Р-нітрофенілфосфат-кінетичний метод) згідно інструкцій із використання стандартних тест-наборів реагентів ТОВ «Спайн-лаб» (м. Харків, Україна) *in vitro*.

Отримані цифрові дані статистично обробили з використанням t-критерію Ст'юдента.

Результати та їх обговорення. На рисунку, а, б, в представлено динаміку активності концентрації основних маркерних ферментів,





изменений, они склонны воспринимать ее более серьезно, чем когда получают эту информацию из других источников. С помощью данного приложения можно сравнить больницы между собой

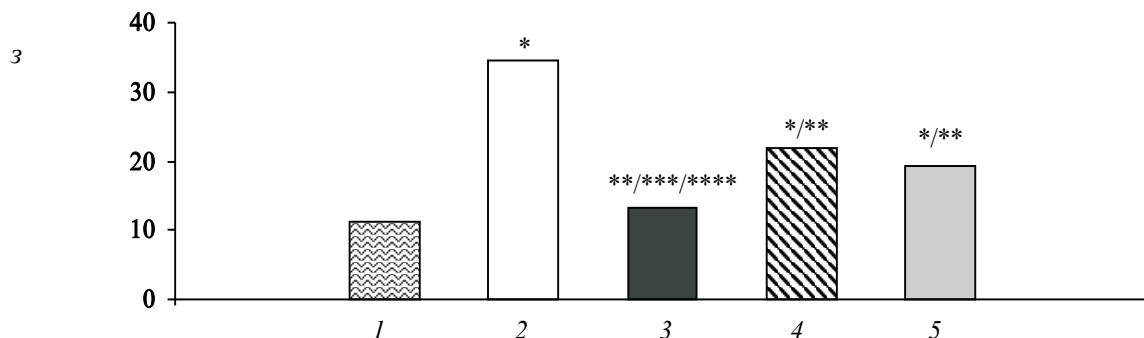
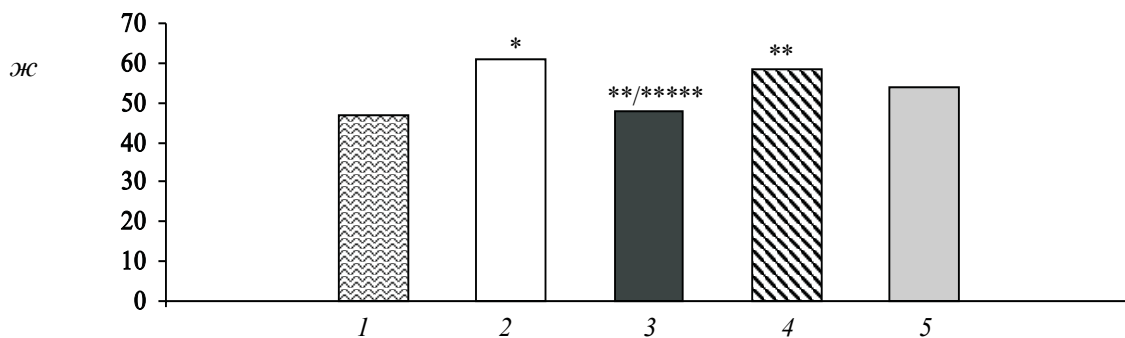
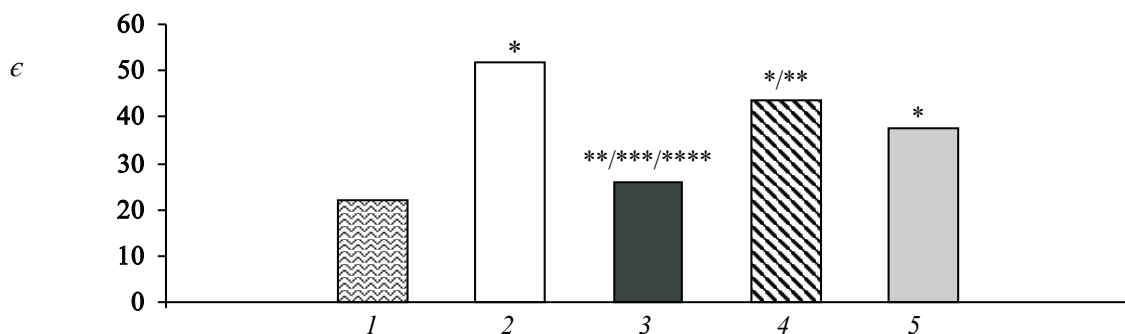
Breast Cancer Diagnosis Guide

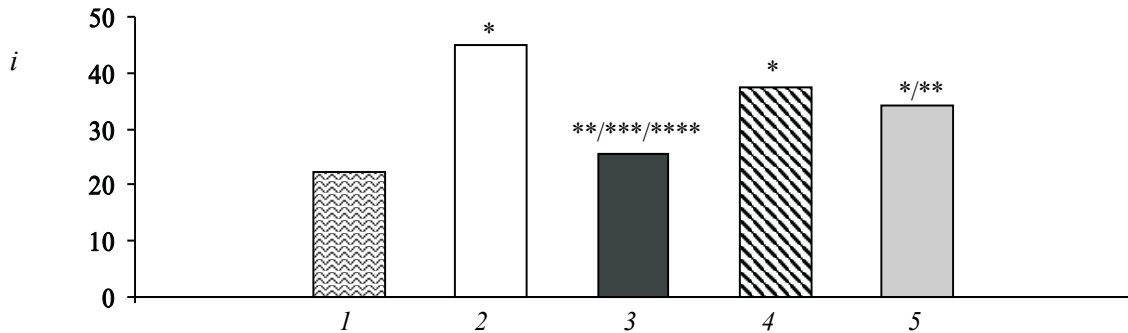
С помощью этой программы врачи могут следить за пациентками с раком молочной железы, вводить и отслеживать детали болезни/лечения, которые зависят от размера опухоли, наличия или отсутствия рецепторов к эстрогенам. Приложение помогает пациентам бороться с потоком информации, которую получают, когда обнаруживают

IOS / Android

Бесплатно

5





Динаміка активності гамма-глутамілтрансферази (а), лактатдегідрогенази (б) та лужної фосфатази (в) в сироватці крові щурів з етиленгліколевим гострим пошкодженням нирок; активності гамма-глутамілтрансферази (з), лактатдегідрогенази (д) та лужної фосфатази (е) в сироватці крові щурів з гліцероловим гострим пошкодженням нирок та активності гамма-глутамілтрансферази (ж), лактатдегідрогенази (з) і лужної фосфатази (і) в сироватці крові тварин з гентаміциновою нефропатією.

Експериментальні групи тварин: 1-ша – інтактний контроль; 2-га – патологія;

3-тя – патологія + гіпоксен; 4-та – патологія + тіотриазолін; 5-та – патологія + хофітол.

* порівняно з контролем; ** порівняно з патологією; *** порівняно з референс-препаратом хофітол; **** порівняно з референс-препаратом тіотриазолін

що вказує на наявність пошкодження ниркового епітелію, впродовж введення експериментальним щурам етиленгліколю. В групі патологія рівень ГГТ, ЛДГ та ЛФ впродовж дослідження достовірно збільшується в 1,44; 2,93 і 2,03 рази відповідно порівняно з інтактним контролем. Така динаміка активності основних ферментів свідчить на користь тим фактам, що при застосуванні етиленгліколю швидко розвивається патологія нирок із залученням каскаду біохімічних реакцій, зокрема ферментопатії.

При застосуванні дослідного препарату ПДТ-На активність ферментів ГГТ, ЛДГ, ЛФ значно нормалізується до рівня у здорових тварин. Так, концентрація ГГТ при використанні ПДТ-На знижується на 30 %, ЛДГ – на 61 %, ЛФ – на 47 % щодо групи із патологією та не має достовірної різниці з аналогічними показниками у тварин інтактної групи ($p > 0,05$).

Цікавим також вважається і той факт, що показники основних ферментів (ГГТ, ЛДГ, ЛФ) при використанні досліджуваного нефропротектора (ПДТ-На) є нижчими від зазначених рівней у групах з використанням референс-препаратів «патологія+хофітол» і «патологія+тіотриазолін».

Отже, дослідження впливу ПДТ-На на динаміку активності основних ферментів у сироватці крові щурів в експерименті дозволяє стверджувати про виразність нефропротекторних властивостей лікарського засобу, що відображається в його здатності зменшу-

вати розвиток небезпечного симптомокомплексу гострого пошкодження нирок.

Дослідження впливу натрієвої солі полі-(2,5-дигідроксифенілен)-4-тіосульфокислоти на рівень ферментів сироватки крові щурів на тлі гліцеролового гострого пошкодження нирок вказує на схожу динаміку, що спостерігається і на етиленгліколевій моделі. Із наведених на рисунку, з, д, е даних видно, що активність ферментів (ГГТ, ЛДГ та ЛФ) в сироватці крові щурів при експериментальному гліцероловому гострому пошкодженні нирок стрімко й достовірно збільшується впродовж дослідження. Так, концентрація ГГТ у щурів групи патології після введення гліцеролу є достовірно вищою в 1,57 рази у порівнянні з такою у щурів інтактного контролю. Рівень ЛДГ і ЛФ на тлі гліцеролового гострого пошкодження нирок також перевищує норму в 3,69 і 2,33 рази відповідно. Така динаміка активності ферментів, що визначаються, в сироватці крові щурів із гліцероловим ураженням нирок (найбільш агресивна модель) свідчить на користь мембранопошкоджуючих процесів, що відбуваються в нефротелії нирок, а також про зменшення фільтраційної здатності останніх за умов досліджуваної патології.

При використанні потенційного нефропротектора ПДТ-На доведено, що концентрація ГГТ достовірно знижується на 31 % у порівнянні з патологією і наближує значення цього ферменту до аналогічного у «здорових»

тварин. Концентрація ЛДГ і ЛФ в сироватці крові щурів при лікуванні ПДТ-На також має тенденцію до нормалізації, зменшуючись у середньому майже на 68 % відносно хворих щурів впродовж експерименту. Також визначальним є те, що при застосуванні досліджуваного препарату ПДТ-На активність усіх ферментів, що вивчаються, в сироватці крові експериментальних щурів подекуди навіть є достовірно нижчою за аналогічні значення референс-препаратів хофітолу та тіотриазоліну.

У наступному фрагменті дослідження нами було визначено динаміку змін рівня основних ферментів (ГГТ, ЛДГ, ЛФ) в сироватці крові щурів при експериментальному відтворенні гентаміцинової нефропатії. В процесі дослідження нами з'ясовані аналогічні попереднім двом моделям гострого пошкодження нирок зміни концентрації показників, що вивчаються, при введенні гентаміцину.

Так, активність ГГТ (рисунок, ж, з, є) при застосуванні гентаміцину знов-таки, як і в попередніх двох дослідженнях, достовірно збільшується на 23 % відносно показників інтактного контролю. Рівень ЛДГ (рисунок, з) при гентаміциновій нефропатії також підвищується на 32 %, а концентрація ЛФ (рисунок, і) – на 49 % порівняно з інтактною групою. Незважаючи на характер активності ферментів у сироватці крові експериментальних тварин, нами доведено, що саме гентаміцинова нефропатія є найменш агресивною моделлю із представлених у даному дослідженні. Це можна пояснити найменшою токсичною дією гентаміцину по відношенню до структур ни-

рок у порівнянні з етиленгліколем і гліцеролом.

Щодо потенційних нефропротекторних властивостей препарату ПДТ-На за умов гентаміцинової нефропатії, встановлено виражену його дію, направлену на зменшення рівня ГГТ, ЛДГ та ЛФ впродовж дослідження в 1,28; 2,58 та 1,77 рази відповідно порівняно з групою «патологія».

Що стосується активності досліджуваних показників при застосуванні референтних препаратів хофітолу та тіотриазоліну на моделі гентаміцинової нефропатії, вона є вищою від рівня ГГТ, ЛДГ, ЛФ при використанні потенційних нефропротекторів. Тобто нефропротекторна дія референтних лікарських засобів є нижчою, ніж та, що визначається при використанні ПДТ-На.

Таким чином, виявлена динаміка змін ферментів (ГГТ, ЛДГ, ЛФ) в сироватці крові щурів впродовж дослідження на всіх трьох моделях гострого пошкодження нирок токсичними агентами свідчить про їх збільшення, а отже, і активацію мембранопшкоджуючих процесів у нефроні.

Лікувально-профілактичне застосування ПДТ-На на тлі етиленгліколевого, гліцеролового гострого пошкодження нирок та гентаміцинової нефропатії сприяло захисту нирок від токсичних пошкоджень, що проявлялося в покращенні функціонального стану нирок і нормалізації рівня основних ферментів (гамма-глутамілтрансферази, лактатдегідрогенази, лужної фосфатази) в сироватці крові експериментальних тварин.

Список літератури

1. *Милованов Ю.С.* Нарушения нутритивного статуса у больных хронической болезнью почек с почечной недостаточностью на додиализном этапе и пути их коррекции / Ю.С. Милованов, Л.В. Козловская, Л.Ю. Милованова // *Врач.* – 2007. – № 6. – С. 14–18.
2. *Emma F.* Острая почечная недостаточность у детей / F. Emma // *Лекции школы по детской нефрологии под эгидой IPNAи ESPN.* – Оренбург, 2010. – С. 270–292.
3. *Козлова Е.М.* Острая почечная недостаточность у новорожденных / Е.М. Козлова, Д.О. Иванов, Ю.В. Петренко // *Бюл. Федер. центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова.* – 2012. – № 6. – С. 53–69.
4. *Casino F.G.* Simple and accurate quantification of dialysis in acute renal failure patientis during either urea non-steady state or treatment with irregular or continuous schedules / F.G. Casino, M.R. Marshall // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2004. – № 19. – Р. 1454–1466.
5. *Киселев В.И.* Острая почечная недостаточность / В.И. Киселев, А.Н. Пугачев, А.Н. Толкачев // *Нефрология и диализ.* – 2005. – № 3. – С. 395.
6. Острая почечная недостаточность в структуре осложнений после вспомогательного кровообращения в кардиохирургии. / В.О. Киселев, Ю.К. Подоксенов, И.В. Пономаренко и др. // *Нефрология и диализ.* – 2005. – № 3. – С. 394–395.

7. *Ермоленко В.М.* Острая почечная недостаточность / В.М. Ермоленко, И.Е. Тарева // Нефрология : руководство для врачей. – М.: Медицина, 2000. – С. 58–96.
8. *Этиология и лечение острой почечной недостаточности у детей Юга Кузбасса / О.И. Андриянова, Ф.К. Манеров, Ю.А. Чурляев и др. //* *Мать и дитя в Кузбассе.* – 2006. – № 4. – С. 23–28.
9. *Acute Kidney Injury Network: report of an initiative to improve outcomes in acute kidney injury / R.L. Mehta, J.A. Kellum, S.V. Shah et al. // Crit. Care.* – 2007. – № 11 (2). – P. 31.
10. *Зверев Д.В.* Острая почечная недостаточность / Д.В.Зверев, Х.М. Эмирова, Т.Ю. Абасеева // *Детская нефрология / М.С. Игнатова.* – М., 2011. – С. 542–557.
11. *Acute kidney injury in critically ill newborns: What do we know? What do we need to learn? / J. David Askenazi, Namasivayam Ambalavanan, L. Stuart et al. // Pediatr. Nephrol.* – 2009. – Vol. 24. – P. 265–274.
12. *Методика експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень : метод. рекомендації / С.Ю. Штриголь, В.М. Лісовий, І.А. Зупанець та ін.* – Харків: НФаУ, 2009. – 48 с.
13. *Ермоленко Т.І.* Дослідження впливу препарату «Фларосукцин» на фільтраційно-реабсорбційну функцію нирок в умовах розвитку експериментальної ниркової недостатності / Т.І. Ермоленко // *Український журнал клінічної і лабораторної медицини.* – 2012. – Т. 7, № 4. – С. 90–93.
14. *Ермоленко Т.І.* Вивчення впливу нового уролітичного засобу на основі сукцинатів на азотвидільну функцію нирок при нирковій недостатності у щурів / Т.І. Ермоленко, І.А. Зупанець, С.К. Шебеко // *Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики.* – 2013. – № 1 (11). – С. 21–24.
15. *Ермоленко Т.І.* Вплив препарату «Фларосукцин» на перебіг експериментальної ниркової недостатності у щурів молодого віку: оцінка фільтраційно-реабсорбційної функції нирок / Т.І. Ермоленко, І.А. Зупанець, С.К. Шебеко // *Вісник фармації.* – 2013. – № 1 (73). – С. 67–69.
16. *Ермоленко Т.І.* Дослідження азотвидільної функції нирок статевонезрілих щурів на фоні застосування нового уролітичного засобу на основі сукцинатів за умов експериментального моделювання ниркової недостатності / Т.І.Ермоленко, І.А. Зупанець, І.А. Отрішко // *Запорозький медичинський журнал.* – 2013. – № 2 (77). – С. 18–20.
17. *Singh A.P.* Animal models of acute renal failure / A.P. Singh, A. Muthuraman, A.S. Laggietal // *Pharmacological Reports.* – 2012. – № 64. – P. 31–44.
18. *Liy Z. Cao.* Kidney disease and modelsofrenalpathology / Liy Z. Cao, Z. Zhang // *J. Huazhong Univ. ScienceTehnolog. Med. Science.* – 2007. – Vol. 27. – P. 83–87.
19. *Зупанець І.А.* Дослідження гострої токсичності та середньоефективних доз кверцетину при парентеральному введенні в умовах розвитку ниркової недостатності у щурів / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, Д.С. Харченко // *Фармакологія та лікарська токсикологія.* – 2009. – № 1 (8). – С. 28–33.
20. *Койро О.О.* Экспериментальная терапия ишемической острой почечной недостаточности с использованием биологически активных веществ и препаратов сняты обыкновенной / О.О. Койро // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2014. – № 5 (34). – С. 62–68.
21. *Слесарчук В.Ю.* Дослідження функціонального стану нирок щурів за умов застосування ліофільного порошку м'якоті кавуна в нормі та за гострої ниркової недостатності // *Фармакологія та лікарська токсикологія [Електроний ресурс].* – Режим доступу: <http://pharmtox-j.org.ua/node/294>
22. *Филипец Н.Д.* Сравнительная оценка нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении почек / Н.Д. Филипец, А.И. Гоженко // *Экспериментальная и клиническая фармакология.* – 2014. – Т. 77, № 1. – С. 10–12.
23. *Ермоленко Т.І.* Вивчення впливу препарату «Фларосукцин» на електролітний обмін статевонезрілих щурів за умов експериментальної ниркової недостатності / Т.І. Ермоленко, І.А. Зупанець, О.О. Андреева // *Фармацевтичний часопис.* – 2013. – № 1. – С. 186–190.
24. *Гоженко А.И.* Ренальные дисфункции у белых крыс после однократного введения гентамицина / А.И. Гоженко, М.П. Владимирова, Е.А. Топор // *Нефрология.* – 2005. – Т. 9, № 4. – С. 75–79.
25. *Рыболовлев Ю.Р.* Дозирование веществ для млекопитающих по константе биологической активности / Ю.Р. Рыболовлев, Р.С. Рыболовлев // *Журнал АМН СССР.* – 1979. – Т. 247, № 6. – С. 1513–1516.

Т.И. Ермоленко, А.В. Александрова, Д.А. Гордийчук, Ю.Н. Онашко

ДИНАМИКА АКТИВНОСТИ ОСНОВНЫХ ФЕРМЕНТОВ СЫВОРОТКИ КРОВИ КРЫС С ОСТРЫМ ПОВРЕЖДЕНИЕМ ПОЧЕК ПРИ ПРИМЕНЕНИИ НАТРИЕВОЙ СОЛИ ПОЛИ-(2,5-ДИГИДРОКСИФЕНИЛЕН)-4-ТИОСУЛЬФОКИСЛОТЫ

Установлен нефропротекторный эффект натриевой соли поли-(2,5-дигидроксифенилен)-4-тиосульфокислоты, который по большинству показателей превышает действие референс-препаратов и проявляется на всех исследуемых моделях. Комбинированная терапия с применением препарата натриевой соли поли-(2,5-дигидроксифенилен)-4-тиосульфокислоты позволит улучшить качество жизни больных и ее продолжительность.

Ключевые слова: острое повреждение почек, ферментопатия, нефропротектор, антигипоксант.

T.I. Yermolenko, A.V. Aleksandrova, D.A. Gordiychuk, Yu.M. Onashko

FARMACOLOGICAL STUDIES ACTIVITY OF SERUM ENZYMES IN RATS WITH ACUTE KIDNEY INJURY ON THE BACKGROUND OF THE SODIUM SALT OF POLY-(2,5-DYHYDROXYPHENILEN)-4-TIOSULFATE ACID

In the executed work found a nephroprotective effect of the sodium salt of poly-(2,5-dihydroxyphenilen)-4-tiosulfate acid, that are better in comparison with reference drugs indicators and manifested in all studied models. The combined therapy with the sodium salt of poly-(2,5-dihydroxyphenilen)-4-tiosulfate acid shows the improvement of the patients life quality and duration and meets the basic social needs and goals of society.

Key words: acute kidney injury, enzymopathy, nephroprotector, antihypoxant.

Поступила 15.02.17