

Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ДРАЧУК ВІРА МИХАЙЛІВНА

УДК 615.324:577.112.6]:616.61-008.64-08-092.9

НЕФРОПРОТЕКТОРНА АКТИВНІСТЬ ПОХІДНИХ СІРКОВМІСНИХ
АМІНОКИСЛОТ (АДЕМЕТІОНІНУ, ТАУРИНУ ТА ГЛУТАТІОНУ)
ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ГОСТРОГО ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана у Вищому державному навчальному закладі України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, м. Чернівці.

Науковий керівник:

доктор медичних наук, професор
ЗАМОРСЬКИЙ Ігор Іванович,
Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет»
МОЗ України (м. Чернівці),
завідувач кафедри фармакології

Офіційні опоненти:

доктор фармацевтичних наук, професор
МІЩЕНКО Оксана Яківна
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри клінічної фармакології Інституту
підвищення кваліфікації спеціалістів фармації

доктор медичних наук, професор
ВОЛОЩУК Наталія Іванівна
Вінницький національний медичний університет
імені М.І. Пирогова МОЗ України (м. Вінниця),
завідувач кафедри фармакології

Захист дисертації відбудеться «20» червня 2019 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.605.03 при Національному фармацевтичному університеті за адресою: 61002, м. Харків, вул. Пушкінська, 53

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Валентинівська, 4).

Автореферат розісланий «17» травня 2019 р.

Вчений секретар спеціалізованої
вченої ради
д. фарм. н., професор

Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Незважаючи на значні досягнення у медикаментозному лікуванні та впровадження методів нирково-замісної терапії, смертність від гострого пошкодження нирок (ГПН) залишається високою і становить близько 25-70% (К. С. Комиссаров и соавт., 2015; Ж. Д. Семидоцкая и соавт., 2017), а його часте поєднання з мультиорганною патологією (С. Е. Хорошилов и соавт., 2012; М. Ostermann et al., 2016) та недостатня ефективність лікування зумовлює необхідність удосконалення фармакотерапії та впровадження альтернативних засобів ефективної нефропротекції для впливу на етіологічний, патогенетичний та симптоматичний компоненти захворювання (А. В. Смирнов и соавт., 2012; Т. L. Kam et al., 2013; S. Sawhney et al., 2015; К. Makris et al., 2016). Потреба у засобах ефективної та безпечної фармакологічної корекції нефропатій різної етіології вимагає від фармацевтичної промисловості розширення напрямів ренальної протекції не тільки в Україні, а й у світі, оскільки розповсюдженість патології нирок у загальній популяції щороку невинно зростає (N. R. Hill et al., 2016; Е.-А. J. Hoste et al., 2018). У зв'язку з цим, дослідження нових високоефективних нефропротекторів не втрачає актуальності, а основними вимогами, що висувують до препаратів цього класу є безпека, здатність впливати на основні механізми розвитку пошкодження та захисту ниркової тканини, наявність антиоксидантних, протизапальних, мембранопротекторних властивостей (С. Ю. Штриголь и соавт., 2012).

Основою патогенезу ниркової патології є розвиток оксидативного стресу, який характеризується прооксидантно-антиоксидантним дисбалансом (В. В. Ratliff et al., 2016; P. Pavlakou et al., 2017; N. Krata et al., 2018) та передбачає зсув редокс-рівноваги в бік вільнорадикального окиснення з утворенням пероксидів ліпідів та білків (J. L. Gamboa et al., 2016; J. M. Dennis et al., 2017). З огляду на це, для дослідження були обрані похідні сірковмісних амінокислот (ПСА) адеметіонін, таурин та глутатіон, дія яких спрямована на посилення антиоксидантного захисту, індукцію мембранопротекторних та цитопротекторних механізмів у поєднанні з виразною детоксикуючою активністю (К. Л. Юрьев и соавт., 2012; С. Gaucher et al., 2018; S. W. Schaffer et al., 2018). На фармацевтичному ринку України досліджувані ПСА представлені препаратами адеметіоніну (Н. Б. Губергриц и соавт., 2014; Н. Н. Силивончик и соавт., 2017), таурину (Р. Д. Остапів та співавт., 2015; S. W. Schaffer et al., 2018) і глутатіону (М. К. Kantah et al., 2014; D. Buonocore et al., 2016; R. Sacco et al., 2016). За класифікаційною приналежністю вони відносяться до різних фармакологічних груп з широким спектром фармакологічної активності (В. Н. Коваленко та співавт., 2018).

До цього часу нефротропні властивості обраних ПСА (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на моделях рабдоміолітичного, гентаміцинового, ішемічно-реперфузійного ГПН в порівняльному аспекті не вивчалися. Разом з тим, зазначені цитопротекторні та антиоксидантні властивості ПСА створюють підґрунтя для дослідження їх нефропротекторного потенціалу за умов експериментального ГПН різної етіології з метою оптимізації терапії ниркової патології.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота є фрагментом міжкафедральної науково-дослідної роботи кафедр фармакології та фізіології ім. Я. Д. Кіршенבלата Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України на тему: «Дизрегуляторні порушення нейроімуноендокринних взаємовідносин та шляхи їх корекції» (№ держреєстрації 0114U002496), у якій автор є співвиконавцем.

Мета і завдання дослідження. *Мета роботи* – експериментально обґрунтувати доцільність застосування похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) як ефективних та безпечних засобів нефропротекції для оптимізації терапії гострого пошкодження нирок різної етіології.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі *завдання*:

1. Визначити умовно-ефективні дози похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) при одноразовому введенні на тлі рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок. Порівняти нефропротекторну ефективність досліджуваних засобів за критерієм виживаності при етиленгліколевій інтоксикації.

2. Дослідити ренальні ефекти адеметіоніну, таурину та глутатіону в інтактних щурів та їх вплив на морфоструктуру нирок.

3. Встановити нефропротекторні властивості адеметіоніну, таурину та глутатіону за умов профілактичного та лікувального введення на тлі рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок.

4. З'ясувати вплив адеметіоніну, таурину та глутатіону на перебіг гентаміцинової нефропатії.

5. Визначити ефективність адеметіоніну, таурину та глутатіону за умов ішемічно-реперфузійного гострого пошкодження нирок.

6. Порівняти нефропротекторну ефективність адеметіоніну, таурину та глутатіону при різних експериментальних моделях гострого пошкодження нирок.

Об'єкт дослідження – фармакологічна корекція гострого пошкодження нирок.

Предмет дослідження – нефропротекторна активність похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) при експериментальному гострому пошкодженні нирок різної етіології.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання етиленгліколевого, рабдоміолітичного, гентаміцин-індукованого, ішемічно-реперфузійного ГПН); функціональні (дослідження діурезу, концентрації в сечі та плазмі крові іонів натрію, калію, креатиніну, вмісту в сечі білка, титрованих кислот, аміаку, рН); біохімічні (визначення вмісту окисно-модифікованих білків (ОМБ), активних продуктів, що реагують з тіобарбітувою кислотою (ТБК-АП), активності каталази (КАТ), глутатіонпероксидази (ГП), сукцинатдегідрогенази (СДГ), гамма-глутамілтранспептидази (ГГТП), вмісту церулоплазміну (ЦП), вільних SH-груп); гістологічні (дослідження морфоструктури кіркової та мозкової речовини нирок методом світлової мікроскопії); статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вперше експериментально обґрунтовано доцільність застосування адеметіоніну, таурину та глутатіону як безпечних засобів нефропротекції при гострому пошкодженні нирок різного генезу.

Встановлено наявність нефропротекторної активності адеметіоніну, таурину та глутатіону і доведено прямопропорційну фармакодинамічну дозозалежність досліджуваних ПСА після одноразового введення на тлі рабдоміолітичного ГПН, визначено умовно-ефективні дози: для адеметіоніну – 20 мг/кг, таурину – 100 мг/кг, глутатіону – 30 мг/кг, при застосуванні яких відзначалося збільшення діурезу та швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), зменшення ретенційної азотемії, протеїнурії та екскреції іонів натрію. Нефропротекторну активність ПСА верифіковано за критерієм виживаності при інтоксикації етиленгліколом з виразнішим ефектом при застосуванні глутатіону 28,6% ($p < 0,05$) на 5-ту добу експерименту.

Доповнено наукові дані щодо ренальних ефектів ПСА в інтактних тварин, які реалізувались у здатності виявляти помірний діуретичний (в середньому на 22,3%, $p < 0,05$) та антипротеїнуричний (в середньому на 34,8%, $p < 0,01$) ефекти, не викликаючи деструктивних змін структури нирок, що свідчить про відсутність їх токсичного впливу на тканину нирок.

Отримано нові дані нефропротекторної активності адеметіоніну, таурину та глутатіону на моделі рабдоміолітичного ГПН як при профілактичному, так і при лікувальному застосуванні. Продемонстровано, що нефропротекторна активність препаратів реалізувалась завдяки їх коригувальному впливу на основні патогенетичні ланки патологічного процесу: розлади видільної функції нирок (збільшення діурезу в середньому на 32,7% ($p < 0,01$), ШКФ на 42,4% ($p < 0,01$), зменшення гіперкреатиніемії на 25,0% ($p < 0,01$), протеїнурії у 2,1 разу ($p < 0,01$), фракційної екскреції іонів натрію у 2,2 разу ($p < 0,01$)); на інтенсивність оксидативного стресу (зниження індексу оксидативного стресу в крові (ІОС) на 41,0% ($p < 0,01$), посилення антиоксидантного захисту – підвищення антиоксидантно-прооксидантного індексу у тканині нирок (АПІ) на 72,8% ($p < 0,01$); на енергозабезпечення нефроцитів; завдяки нормалізації фібринолітичної та протеолітичної активності нирок. Порівняно з іншими ПСА, адеметіонін (20 мг/кг) виявляв достовірно ($p < 0,05$) виразнішу нефропротекторну активність за більшістю показників, що була на рівні препарату порівняння ліпофлаону.

Отримано нові наукові дані, що за умов гентаміцинової нефропатії досліджувані ПСА виявляють нефропротекторну активність, зменшуючи токсичний вплив антибіотику, що реалізувалось відновленням ШКФ в середньому в 2,6 разу ($p < 0,01$), попередженням розвитку ретенційної азотемії (зменшення вмісту креатиніну в плазмі крові у 2,3 разу ($p < 0,01$)), зменшенням протеїнурії в 2,9 разу ($p < 0,01$), нормалізацією іонорегулювальної функції нирок; антиоксидантною (зниження ІОС у крові в 1,7 разу ($p < 0,01$)) та зростанням АПІ у тканині нирок у 2,7 разу ($p < 0,01$)) та цитопротекторною діями (зниження активності ГГТП у сечі у 3,2 разу ($p < 0,01$)), що підтверджується зменшенням кількості некротизованих епітеліоцитів з обмеженням дегенеративних змін у вигляді гідропічного набухання

та вакуолізації. Експериментально доведено виразніший ефект таурину (100 мг/кг), порівняно з іншими ПСА, з достовірною перевагою над референс-препаратом канефроном.

Експериментально доведено нефропротекторну активність адеметіоніну, таурину та глутатіону на моделі ішемічно-реперфузійного ГПН, яка верифікована нормалізацією екскреторної функції нирок та відсутністю дистрофічно-некротичних змін епітеліоцитів і опосередкована цитопротекторною (зниження активності ГГТП у сечі в середньому в 2,3 рази ($p < 0,01$)) та антиоксидантною діями (зменшення ІОС на 34,1% і збільшення АПІ на 89,4% ($p < 0,01$)) з відновленням енергосинтезуючої функції нефроцитів (збільшення активності СДГ у 2 рази). Встановлено перевагу нефропротекторної активності глутатіону над іншими ПСА та відповідність дії препарату порівняння мексидолу.

Доповнено наукові дані щодо нефропротекторної активності ПСА за різних експериментальних моделей ГПН (мультигрупове порівняння за Н-критерієм Краскела-Уоліса): адеметіонін найвищу активність за рядом показників виявляв при рабдоміолітичному ГПН, таурин – за умов гентаміцинової нефропатії, глутатіон найефективніше усував прояви ішемії-реперфузії.

Отримані результати досліджень є експериментальним обґрунтуванням доцільності подальшого вивчення адеметіоніну, таурину та глутатіону як безпечних та ефективних лікарських засобів для профілактики та корекції патології нирок.

Практичне значення отриманих результатів. Виявлена нефропротекторна активність адеметіоніну, таурину, глутатіону та встановлені їх фармакодинамічні ефекти при ГПН різного генезу, обґрунтовують доцільність оптимізації фармакотерапії ниркової патології.

Запропоновано спосіб профілактики та лікування гострого пошкодження нирок у щурів препаратом глутатіону (патент України № 138075U, 2018 р.) та застосування адеметіоніну з метою профілактики гепаторенального синдрому (методичні рекомендації, БДМУ, 2018 р.).

Результати дослідження впроваджено в науково-педагогічний та науково-дослідний процес кафедр вищих медичних (фармацевтичних) навчальних закладів України: фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол № 10 від 23.02.2018 р.), фармакології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол № 1 від 28.08.2018 р.), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ «Українська медична стоматологічна академія» (протокол № 7 від 08.11.2018 р.), фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський національний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол № 11 від 18.12.2018 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертант самостійно провела патентно-інформаційний пошук, аналіз літературних джерел за темою дисертаційної роботи. Разом із науковим керівником сформулювала мету та визначила завдання дослідження, обрала методи дослідження, самостійно виконала експериментальні дослідження, провела статистичну обробку та науковий аналіз одержаних даних, сформулювала основні положення та висновки. Співавторами наукових праць є

науковий керівник І. І. Заморський та науковці, за консультативної допомоги та участі яких проведено деякі дослідження: О. М. Горошко, Т. С. Щудрова. Особистий внесок співавторів наведено у списку опублікованих праць.

Фармакологічні дослідження проведено на кафедрах БДМУ: фармакології (завідувач кафедри проф. І. І. Заморський) та патологічної фізіології (завідувач кафедри проф. Ю. Є. Роговий), біохімічні – на кафедрі біоорганічної і біологічної хімії та клінічної біохімії (завідувач кафедри доц. Н. П. Григор'єва); гістологічні – на кафедрі патологічної анатомії (завідувач кафедри проф. І. С. Давиденко). Дисертант висловлює щирю вдячність керівникам підрозділів установи за сприяння і консультативну допомогу при виконанні фрагментів дисертаційної роботи.

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень, які викладені в дисертаційній роботі, представлені та обговорені на наукових конференціях та конгресах: науково-практичній конференції з міжнародною участю та школою молодих вчених «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну» (м. Харків, 1-3 жовтня 2014 р.); VIII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини» (м. Вінниця, 9-10 листопада 2015 р.); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Нефрологія та діаліз: up to date» (м. Чернівці, 8-9 жовтня 2015 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків, 13-16 вересня 2016 р.); V з'їзді фізіологів СНД (Сочі-Дагомис, 4-9 жовтня 2016 р.); Всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Медична наука в практику охорони здоров'я» (м. Полтава, 17 листопада 2017 р.); V Національному з'їзді фармакологів України (м. Запоріжжя, 18-20 жовтня 2017 р.); V міжнародному медико-фармацевтичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Чернівці, 4-6 квітня 2018 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 20 наукових праць, з них 10 статей: 5 – у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 2 статті в закордонному виданні, 1 патент України на корисну модель, 1 методичні рекомендації, 8 тез доповідей.

Обсяг та структура дисертації. Дисертаційна робота складається з анотацій українською та англійською мовами, вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, 5 розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків та переліку використаних джерел літератури (320 посилань, з них 136 – кирилицею, 184 – латиницею), додатків. Обсяг основного тексту роботи складає 153 сторінки, ілюстрована 22 таблицями та 43 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження виконано на 322 білих статевозрілих щурах обох статей масою 130-180 г та 35 білих статевозрілих мишах обох статей масою 18-25 г. Тварин утримували у віварію ВДНЗ України «БДМУ» на стандартному збалансованому харчовому раціоні з вільним доступом до води та їжі, у відповідності до чинних санітарно-гігієнічних норм. Дотримання біотичних норм при проведенні експериментальних досліджень на тваринах засвідчено висновком

комісії з питань біомедичної етики ВДНЗ України «Буковинського державного медичного університету» (протоколи № 8 від 15.05.2014 р. та № 8 від 17.05.2018 р.).

У дослідженнях використовували ПСА: адеметіонін (Гептрал, пор. ліоф. для приг. р-ну д/ін. по 400 мг у фл., «Abbott SpA», Італія), таурин (Taurine, «Sigma-Aldrich», США) та глутатіон (ТАД 600, пор. ліоф. для приг. р-ну д/інф. по 600 мг у фл., «Biomedica Foscama», Італія). У всіх серіях експериментів досліджувані засоби вводили лабораторним тваринам внутрішньоочеревинно (в/очер) один раз на добу у вигляді водних розчинів після приготування відповідних розведень препаратів.

Як референс-препарати використовували засоби з експериментально-доведеною нефропротекторною активністю: при рабдоміолітичному ГПН – кверцетин (Ліпофлавіон, пор. ліоф. для приг. р-ну д/ін. по 100 мг у фл, С.: 061117, ЗАТ «Біолік», Україна), який вводили в/очер дозою 296 мг/кг (8 мг/кг за кверцетином) (І. А. Зупанець та співавт., 2007; О. М. Горошко та співавт., 2009); при гентаміциновій нефропатії – Канефрон (Канефрон, кр. ор. фл. 100 мл, «Bionorica SE», Німеччина), який вводили внутрішньошлунково дозою 27 мг/кг (К. В. Монатко та співавт., 2013); при ішемічно-реперфузійному ГПН – етилметилгідроксипіридину сукцинат (Мексидол, р-н д/ін. 50 мг/мл по 2 мл, НВК «Фармасофт, РФ), який вводили в/очер дозою 100 мг/кг (С. Ю. Штриголь та співавт., 2007).

При вивченні дозозалежної активності препарати вводили в/очер один раз на добу на тлі рабдоміолітичного ГПН дозами: адеметіонін – 15 мг/кг, 20 мг/кг та 40 мг/кг; таурин – 50 мг/кг, 100 мг/кг та 150 мг/кг; глутатіон – 20 мг/кг, 30 мг/кг та 40 мг/кг. Діапазон дозувань для дослідження обирався згідно рекомендацій виробника та шляхом аналізу літератури з відповідним перерахунком на одиницю маси тіла щура за методом зворотної екстраполяції за В. М. Шумейко (2009). За результатами дослідження надалі використовували умовно-ефективні дози: для адеметіоніну – 20 мг/кг, для таурину – 100 мг/кг, для глутатіону – 30 мг/кг, які визначали за збільшенням ШКФ, зменшенням ретенційної азотемії, протеїнурії. Верифікацію нефропротекторної активності досліджуваних засобів проводили на токсичній етиленгліколевій моделі ГПН за критерієм виживаності тварин протягом 5 діб після одноразового підшкірного введення мишам етиленгліколю (Етиленгліколь, ТОВ «Химстатус», Україна) дозою 10 мг/кг (А. Pal Singh et al., 2012).

Ренальні ефекти ПСА в інтактних тварин досліджували за умов водного навантаження (внутрішньошлункового введення питної води в об'ємі 5% від маси тіла тварини) з наступним забором сечі протягом 2-ох годин. Для оцінки функціонального стану нирок визначали на спектрофотометрі СФ-46 концентрацію креатиніну в сечі та плазмі крові за реакцією з пікриновою кислотою за допомогою тест-набору реактивів ПрАТ «Реагент» (Україна), у сечі та плазмі крові визначали концентрацію іонів натрію методом фотометрії полум'я на фотометрі ФПЛ-1 (В. С. Камышников, 2009), концентрацію білка в сечі – фотоколориметрично за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, вміст у сечі титрованих кислот і аміаку – титруванням розчином натрію гідрокарбонату (В. М. Магальяс та співавт., 20014; В. С. Камышников, 2009), рН сечі – з використанням рН метру («рН-150 МИ», РФ). Стандартизацію показників проводили шляхом перерахунку на 100 г маси тіла тварин або на 100 мкл клубочкового фільтрату. Розраховували показники діяльності

нирок: ШКФ (розраховували за кліренсом ендogenous креатиніну), екскрецію білка, титрованих кислот, іонів амонію, іонів натрію та калію, реабсорбцію води, проксимальний та дистальний транспорт іонів натрію (С. И. Рябов, Ю. В. Наточин, 1997).

Рабдоміолітичне ГПН у щурів викликали шляхом одноразового внутрішньом'язового введення 50% розчину гліцеролу (Гліцерин дистильований, АТ «Галичфарм», Україна) дозою 8 мл/кг. Нефропротекторну дію ПСА оцінювали при різних режимах введення: для визначення умовно-ефективної дози препарати вводили одноразово через 40 хв після уведення гліцеролу; у профілактичному режимі – впродовж 3-х днів до моделювання ГПН; у лікувальному режимі – впродовж 7-ми днів після моделювання ГПН (A. Pal Singh et al., 2012). Гентаміцинову нефропатію відтворювали внутрішньом'язовим уведенням шурам 4% розчину гентаміцину сульфату (Гентаміцину сульфату, р-н д/ін., 40 мг/мл АТ «Галичфарм», Україна) дозою 80 мг/кг один раз на добу впродовж 6-ти днів (С. Ю. Штриголь та співавт., 2009). Ішемічно-реперфузійне ГПН відтворювали шляхом 60 хвилинної білатеральної ішемії нирок з наступною 24-годинною реперфузією (С. Ю. Штриголь та співавт., 2009; Pal Singh A. et al., 2012).

На даних моделях ГПН функціональний стан нирок оцінювали за показниками описаними вище, а стан прооксидантно-антиоксидантного балансу в крові та гомогенаті нирок визначали за: вмістом активних продуктів, що реагують із тіобарбітуровою кислотою (ТБК-АП) (И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, 1977), окисно-модифікованих білків (ОМБ) (І. Ф. Мещишен, 1998), церулоплазміну (ЦП) (В. Г. Колб, В. С. Камышников, 1982), вільних SH-груп (І. Ф. Мещишен, Н. П. Григор'єва, 2002), активністю каталази (КАТ) (М. А. Королюк и соавт., 1998), глутатіонпероксидази (ГП) (А. В. Арутюнян и соавт., 2000). У гомогенаті нирок визначали активність сукцинатдегідрогенази (СДГ) (М. И. Прохорова и соавт., 1982), показники фібринолітичної та протеолітичної активності тканини нирок (В. М. Магальяс та співавт., 2001).

Для комплексної оцінки антиоксидантної дії препаратів визначали індекс оксидативного стресу (ІОС) в крові (Л. В. Король та співавт., 2014) та антиоксидантно-прооксидантний індекс (АПІ) в тканині нирок щурів (А. П. Левицький та співавт., 2013). Активність гамма-глутамілтранспептидази (ГГТП) у сечі визначали за допомогою тест-набору реактивів ПрАТ «Реагент» (Україна). Морфологічні зміни тканини нирок вивчали методом світлової мікроскопії (фотокамера Olympus (модель С740UZ) та мікроскоп ЛЮМАМ-Р8) після забарвлення гематоксиліном та еозином (F. Venerucci, 2016) гістологічних зрізів нирок (А. П. Сорочинников, А. Е. Доросевич, 2000) з наступним аналізом у середовищі комп'ютерної програми «Відео Тест – Розмер 5.0» (ТОВ «Відеотест», РФ).

Статистичний аналіз результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistics 17.0. Достовірність різниці між показниками оцінювали з використанням параметричного t-критерію Ст'юдента (при нормальному розподілі) та непараметричного U-критерію Манна-Уїтні (при невідповідності нормальному розподілу). Критичний рівень значущості прийнятий за $p < 0,05$. При обліку результатів в альтернативній формі (виживаність) використовували кутове перетворення Фішера (А. А. Халафян, 2007). Мультигрупові відмінності аналізували

за Н-критерієм Краскела-Уоліса, кореляційний зв'язок – за коефіцієнтом кореляції Спірмена (А. Г. Кочетов и соавт., 2012).

Результати та їх обговорення. За результатами скринінгового визначення умовно-ефективних доз ПСА на тлі рабдоміолітичного ГПН встановлено, що за умов одноразового застосування адеметіоніну серед обраного діапазону доз (10 - 40 мг/кг) найефективнішою була доза 20 мг/кг за перевагою впливу на більшість показників функціонального стану нирок: зростання діурезу в 1,4 разу ($p < 0,01$), ШКФ у 2 рази ($p < 0,01$), реабсорбції води, абсолютної реабсорбції іонів натрію в 1,8 разу ($p < 0,01$), зменшення гіперкреатиніемії в 1,8 разу ($p < 0,01$), протеїнурії в 2,3 разу ($p < 0,01$) та фракційної екскреції іонів натрію в 2,9 разу ($p < 0,01$). Таурин виразніше виявляв нефропротекторну активність у дозі 100 мг/кг, що реалізувалось збільшенням ШКФ у 1,7 разу ($p < 0,01$), зниженням концентрації креатиніну в плазмі крові в 1,7 разу ($p < 0,01$), зменшенням протеїнурії в 2,4 разу ($p < 0,01$). Подальше збільшення дози (150 мг/кг) не призвело до достовірних змін показників. При застосуванні глутатіону (20-40 мг/кг), умовно-ефективною виявилась доза 30 мг/кг, при введенні якої спостерігалось збільшення діурезу на 41,2% ($p < 0,01$), зменшення ретенційної азотемії на 46,6% ($p < 0,01$), протеїнурії в 2,4 разу ($p < 0,01$), фракційної екскреції іонів натрію – в 4,2 разу ($p < 0,01$).

Наступним етапом дослідження була верифікація нефропротекторної активності ПСА при етиленгліколевій інтоксикації. Встановлено, що за умов розвитку етиленгліколевого ГПН, введення препаратів сприяло подовженню життя експериментальних тварин з найвиразнішим ефектом при уведенні глутатіону – 28,6% ($p < 0,01$) на 5 добу спостереження проти 0% у контрольній групі, що перевершило захисний вплив референс-препарату мексидолу.

Дослідження ренальних ефектів ПСА при 7-денному введенні інтактним тваринам виявило посилення сечовиділення при застосуванні таурину на 29,4% ($p < 0,01$), глутатіону на 21,7% ($p < 0,01$) за рахунок збільшення реабсорбції води за тенденції до збільшення ШКФ. Найвиразніша гіпоазотемічна дія була зафіксована в адеметіоніну, який сприяв зменшенню концентрації креатиніну в плазмі крові на 19,9% ($p < 0,05$) порівняно до групи контролю. Усі препарати виявляли антипротеїнуричний ефект, зменшуючи концентрацію білка в сечі в середньому в 1,6 разу ($p < 0,05$). Вплив досліджуваних засобів на іонорегулювальну функцію нирок характеризувався зростанням екскреції іонів натрію з сечею в середньому в 1,8 разу ($p < 0,01$), що, ймовірно, зумовлене зниженням реабсорбції цього іону, та супроводжувалось посиленням дистального транспорту в середньому в 1,3 разу ($p < 0,01$) порівняно до контрольної групи. Реалізацію клубочково-каналцевого балансу при застосуванні ПСА підтверджено кореляційною залежністю (r) між ШКФ та проксимальним транспортом іонів натрію: у групі адеметіоніну – 0,86 ($p < 0,05$); таурину та глутатіону – 0,96 ($p < 0,01$). Про активацію каналцево-каналцевого зв'язку свідчить сильна кореляційна залежність між проксимальною та дистальною реабсорбцією іонів натрію, яка дорівнювала: -0,83 ($p < 0,05$), -0,89 ($p < 0,05$) та -0,93 ($p < 0,01$), відповідно, у групі адеметіоніну, таурину та глутатіону, що вказує на збереження функціональної активності різних відділів нефрону.

На моделі рабдоміолітичного ГПН при профілактичному застосуванні (3 дні до моделювання патології) встановлено виразний нефропротекторний ефект досліджуваних ПСА, що виявлявся відновленням функціонування нефроцитів та зменшенням ступеня пошкодження ниркової тканини. Доведено, що максимальний коригувальний ефект спостерігався при лікувальному (впродовж 7-ми днів після моделювання патології) введенні, при цьому препарати демонстрували нефропротекторну активність таким чином (мультигрупове порівняння за Н-критерієм Краскела-Уоліса): адеметіонін > таурин > глутатіон.

Таблиця 1

Функціональний стан нирок щурів при лікувальному введенні похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на тлі рабдоміолітичного ГПН (M±m, n=7)

| Показник | Інтактний контроль | ГПН | ГПН + Адеметіонін, 20 мг/кг | ГПН + Таурин, 100 мг/кг | ГПН + Глутатіон, 30 мг/кг | ГПН + Ліпофлавіон, 296 мг/кг |
|------------------------------|--------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------------|------------------------------|
| Діурез, мл/2 год·100 г | 4,76±0,15 | 3,17±0,19 ^{##} | 4,67±0,11 ^{**φ} | 4,03±0,12 ^{**} | 3,92±0,08 ^{**} | 4,72±0,07 ^{**} |
| Рсг, мкмоль/л | 59,51±2,62 | 101,14±1,31 ^{##} | 70,97±1,72 ^{**} | 77,71±4,81 ^{**} | 78,89±2,91 ^{**} | 71,98±2,52 ^{**} |
| ШКФ, мкл/хв·100 г | 604,76±38,24 | 306,6±25,29 ^{##} | 497,9±25,97 ^{**φ} | 410,70±26,27 [*] | 401,70±22,23 [*] | 503,97±16,59 ^{**} |
| Uрг, г/л | 0,011±0,001 | 0,033±0,002 ^{##} | 0,012±0,001 ^{**φ} | 0,017±0,001 ^{**} | 0,018±0,001 ^{**} | 0,011±0,001 ^{**} |
| RNa ⁺ , мкмоль/хв | 87,03±5,33 | 42,82±3,43 ^{##} | 69,48±4,44 ^{**} | 58,45±3,65 [*] | 58,15±3,27 [*] | 72,16±2,79 ^{**} |
| FENa ⁺ , % | 0,28±0,02 | 1,05±0,07 ^{##} | 0,36±0,02 ^{**φ} | 0,49±0,03 ^{**} | 0,56±0,04 ^{**} | 0,35±0,01 ^{**} |
| PK ⁺ , ммоль/л | 5,93±0,53 | 7,11±0,52 | 6,29±0,55 | 6,46±0,22 | 6,96±0,38 | 6,04±0,16 |
| ГГТП, ммоль/(год×л) | 0,51±0,19 | 4,80±1,71 ^{##} | 0,92±0,20 ^{**} | 1,37±0,54 ^{**} | 1,60±0,17 ^{**} | 1,06±0,11 ^{**} |

Примітки до табл. 1, 3, 5:

1. Достовірні відмінності з даними групи: інтактного контролю – # (p<0,05), ## (p<0,01); модельної патології (ГПН) – * (p<0,05), ** (p<0,01); інших досліджуваних ПСА за критерієм Краскела-Уоліса – φ (p<0,05); препарату порівняння – ° (p<0,05);

2. n – кількість тварин у групі;

3. Рсг – концентрація креатиніну в плазмі крові; Uрг – концентрація білка в сечі; RNa⁺ – абсолютна реабсорбція іонів натрію; FENa⁺ – фракційна екскреція іонів натрію; PK⁺ – концентрація іонів калію в плазмі крові; ГГТП – активність гамма-глутамілтранспептидази в сечі.

Покращення функціонального стану нирок (табл. 1) реалізувалось відновленням діурезу в середньому на 32,7% (p<0,01), найвиразніше – за дії адеметіоніну (на 47,3%, p<0,01), що практично відповідало показникам контролю та референс-препарату ліпофлавіону та зумовлено зростанням ШКФ (з перевагою адеметіоніну на 22,6% над іншими ПСА), тоді як під впливом таурину та глутатіону ШКФ збільшувалась у 1,3 разу (p<0,05) відносно тварин групи патології.

Достовірне зменшення гіперкреатинемії у лікованих адеметіоніном тварин у 1,4 разу ($p < 0,01$), та у 1,3 разу ($p < 0,01$) на тлі дії таурину та глутатіону свідчить про їх гіпоазотемічну дію. Антипротеїнурична дія ПСА виявлялась у зменшенні концентрації білка у сечі: при застосуванні таурину в 1,9 ($p < 0,01$), глутатіону – в 1,8 разу ($p < 0,01$) та найвиразніше на тлі дії адеметіоніну – в 2,8 разу ($p < 0,01$). Достовірної різниці цих показників з групою референс-препарату не встановлено.

Під впливом адеметіоніну фіксували збільшення показника абсолютної реабсорбції іонів натрію в 1,6 разу ($p < 0,01$), при застосуванні таурину та глутатіону – в 1,4 разу ($p < 0,01$) з відповідним зменшенням показника фракційної екскреції іонів натрію з перевагою адеметіоніну на 31,4% ($p < 0,05$) над іншими ПСА, що вказує на збереження реабсорбційної функції каналців. Коригувальний вплив ПСА сприяв відновленню клубочково-каналцевого та активації каналцево-каналцевого балансів, що підтверджувалось встановленням кореляційних зв'язків між ШКФ та проксимальною і дистальною реабсорбцією, а також між проксимальним і дистальним транспортом іонів натрію. Покращення видільної функції реалізувалось у подоланні гіперкаліємії (в середньому в 3,7 разу, $p < 0,01$) та нормалізації рН сечі у всіх групах дослідних тварин.

Достовірне зниження активності ГГТП – маркеру пошкодження та некрозу епітеліоцитів (E. E. Yesis et al., 2014), в середньому в 3,7 разу ($p < 0,01$) порівняно до нелікованих тварин, свідчить про цитопротекторну активність вивчених ПСА, що підтверджується даними гістологічного дослідження (рис. 1).

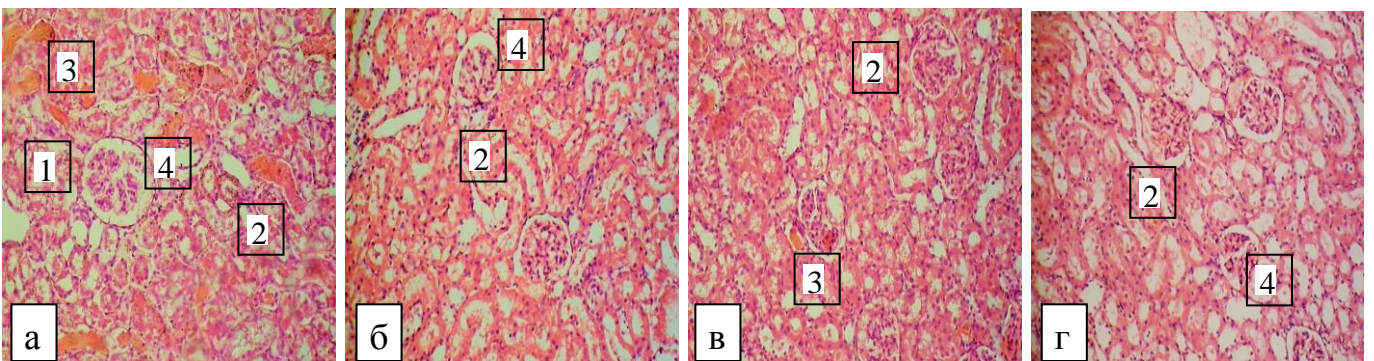


Рис. 1 Мікропрепарат нирки щура (а – модельна патологія, б – застосування адеметіоніну (20 мг/кг), в – застосування таурину (100 мг/кг), г – застосування глутатіону (30 мг/кг)) при рабдоміолітичному ГПН, 7 доба. Некроз (1), дистрофія епітеліоцитів (2), міоглобінові циліндри (3), розширення просвіту Боумена (4). Гематоксилін і еозин. Зб.×100.

Під впливом адеметіоніну, таурину та глутатіону спостерігалось зростання ферментативної (в середньому в 6,3 разу, $p < 0,01$), неферментативної (у 1,3 разу, $p < 0,01$) та сумарної фібринолітичної активності (у 1,5 разу, $p < 0,01$) поряд з посиленням протеолітичної активності щодо лізису високо- (в середньому в 1,2 разу, $p < 0,05$) та низькомолекулярних білків (у 2 рази, $p < 0,01$) і колагену (у 1,9 разу, $p < 0,01$), що свідчить про комплексний вплив досліджуваних ПСА на основні патогенетичні ланки рабдоміолітичного ГПН.

Курсове застосування досліджуваних ПСА сприяло пригніченню процесів пероксидації ліпідів та білків: вміст ТБК-АП у тканині нирок зменшився у всіх лікованих групах тварин у середньому на 16,1% ($p < 0,05$), вміст ОМБ – на 29,0 % ($p < 0,01$) та досягав рівня контролю (табл. 2). При цьому на тлі дії препаратів спостерігали посилення антиоксидантного захисту, що реалізувалось підвищенням активності ГП у тканині нирок під впливом глутатіону на 28,9% ($p < 0,01$), таурину на 31,8% ($p < 0,01$) відносно тварин з ГПН, тоді як застосування адеметіоніну сприяло підвищенню активності ферменту на 58,8% ($p < 0,01$). В усіх групах лікованих тварин активність КАТ залишалася на рівні контролю.

Таблиця 2

Вплив похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на прооксидантно-антиоксидантний баланс у тканині нирок при рабдоміолітичному ГПН у щурів ($M \pm m$, $n=7$)

| Показник | ТБК-АП, мкмоль/г | ОМБ, о.о.г./г | КАТ, мкмоль/(хв×мг) | ГП, нмоль/(хв×мг) |
|------------------------------|--------------------------|--------------------------|------------------------|----------------------------|
| Інтактний контроль | 55,05±1,23 | 14,96±0,38 | 6,22±0,27 | 293,46±11,57 |
| ГПН | 68,02±2,57 ^{##} | 21,86±0,37 ^{##} | 5,59±0,28 [#] | 192,89±5,09 ^{##} |
| ГПН + Адеметіонін, 20 мг/кг | 54,87±1,37 ^{**} | 14,93±0,34 ^{**} | 6,40±0,14 [*] | 306,29±9,28 ^{**φ} |
| ГПН + Таурин, 100 мг/кг | 56,96±2,39 [*] | 16,06±0,61 ^{**} | 6,23±0,21 | 254,23±4,85 ^{**} |
| ГПН + Глутатіон, 30 мг/кг | 59,41±1,24 [*] | 15,57±1,06 ^{**} | 6,93±0,19 [*] | 248,64±6,24 ^{**} |
| ГПН + Ліпофлавіон, 296 мг/кг | 56,03±1,12 [*] | 15,12±0,59 ^{**} | 6,61±0,15 [*] | 282,12±5,31 ^{**} |

Примітки до табл. 2, 4, 6:

1. Достовірні відмінності з даними групи: інтактного контролю – [#] ($p < 0,05$), ^{##} ($p < 0,01$); модельної патології (ГПН) – ^{*} ($p < 0,05$), ^{**} ($p < 0,01$); інших досліджуваних засобів за критерієм Краскела-Уоліса – ^φ ($p < 0,05$); препарату порівняння – [°] ($p < 0,05$);

2. n – кількість тварин у групі;

3. ТБК-АП – активні продукти, що реагують з тіобарбітуровою кислотою, ОМБ – окисно-модифіковані білки, КАТ – каталаза, ГП – глутатіонпероксидаза.

Розрахунок антиоксидантно-прооксидантного індексу дозволив виявити виразний тканинспецифічний антиоксидантний ефект адеметіоніну за збільшенням індексу в 2 рази ($p < 0,01$) порівняно до групи модельної патології, не поступаючись дії референс-препарату. Встановлена антиоксидантна активність адеметіоніну узгоджується з літературними даними (P. J. Evans et al., 1997; S. A. Lozano-Sepulveda et al., 2016; A. Antoniv et al., 2017).

Наступним етапом дисертаційного дослідження було з'ясувати вплив адеметіоніну, таурину та глутатіону на перебіг гентаміцинової нефропатії. Встановлено, що застосування досліджуваних ПСА на тлі введення антибіотику сприяло відновленню функціонального стану нирок за рахунок збільшення ШКФ в середньому в 2,6 разу ($p < 0,01$), діурезу – в 1,7 разу ($p < 0,01$), зменшення протеїнурії в 2,9 разу ($p < 0,01$) з достовірною перевагою над референс-препаратом канефроном та виразнішим ефектом таурину у порівнянні з іншими ПСА (табл. 3). Препарати попереджували розвиток ретенційної азотемії з максимальним зниженням концентрації креатиніну в плазмі крові у 2,3 разу ($p < 0,01$) при застосуванні таурину.

Нефропротекторний потенціал таурину зумовлений здатністю накопичуватись в епітеліоцитах проксимального відділу каналців, що підтверджується рядом авторів (A. Erdem et al., 2000; A. A. Shoman et al., 2013).

Таблиця 3

Функціональний стан нирок шурів при профілактично-лікувальному введенні похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на тлі розвитку гентаміцинової нефропатії, 7 доба (M±m, n=7)

| Показник | Інтактний контроль | ГН | ГН + Адеметіонін, 20 мг/кг | ГН + Таурин, 100 мг/кг | ГН + Глутатіон, 30 мг/кг | ГН + Канефрон, 27 мг/кг |
|-----------------------------------|--------------------|--------------------------|----------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Діурез, мл/2 год·100 г | 4,63±0,19 | 2,47±0,10 [#] | 4,34±0,11 ^{**} | 4,40±0,09 ^{**} | 3,96±0,21 ^{**} | 4,22±0,19 ^{**} |
| Рсг, мкмоль/л | 43,49±1,01 | 121,88±3,40 [#] | 64,06±3,95 ^{**°} | 53,94±1,62 ^{**°φ} | 69,96±2,01 ^{**°} | 79,57±2,81 ^{**} |
| ШКФ, мкл/хв·100 г | 645,4±27,5 | 201,1±6,7 [#] | 524,0±51,4 ^{**} | 574,2±23,8 ^{**°φ} | 490,5±31,3 ^{**} | 420,34±29,73 ^{**} |
| Upr, г/л | 0,017±0,002 | 0,076±0,006 [#] | 0,028±0,003 ^{**°} | 0,021±0,001 ^{**°φ} | 0,030±0,002 ^{**} | 0,040±0,004 ^{**} |
| RNa ⁺ , мкмоль/хв | 114,46±6,71 | 39,05±2,12 [#] | 95,94±10,38 ^{**} | 101,80±3,93 ^{**°φ} | 90,15±7,07 ^{**} | 79,83±6,99 ^{**} |
| FE _{Na} ⁺ , % | 0,14±0,01 | 3,80±0,26 [#] | 0,45±0,03 ^{**°} | 0,34±0,02 ^{**°φ} | 0,77±0,02 ^{**} | 0,75±0,11 ^{**} |
| PK ⁺ , ммоль/л | 5,14±0,25 | 4,24±0,26 [#] | 5,21±0,49 [*] | 5,11±0,18 [*] | 5,32±0,44 ^{**} | 4,89±0,18 |
| ГТП, ммоль/(год×л) | 0,29±0,02 | 5,37±0,23 [#] | 2,43±0,18 ^{**°} | 1,11±0,05 ^{**°} | 1,46±0,17 ^{**°} | 3,66±0,26 ^{**} |

Аналіз іонорегулювальної функції на тлі застосування адеметіоніну, таурину та глутатіону засвідчив зниження ступеня тубулярного пошкодження з відновленням реабсорбційної здатності нефроцитів, що реалізувалось збільшенням абсолютної реабсорбції іонів натрію в середньому в 2,4 разу (p<0,01), з відповідним зменшенням фракційної екскреції даного іона в 8,4 разу (p<0,01) під впливом адеметіоніну, в 11,2 разу (p<0,01) – таурину, та в 4,9 разу (p<0,01) – у групі тварин, лікованих глутатіоном, переважаючи ефективність референс-препарату канефрону.

Препарати зменшували виразність типової для гентаміцинової нефропатії гіпокаліємії в середньому на 22,9% (p<0,05) за рахунок зниження екскреції цього іону. Ренопротекторний вплив ПСА підтверджується відновленням клубочково-каналцевого балансу та компенсаторною активацією каналцево-каналцевого зв'язку: r = -0,75 (p<0,05) під впливом адеметіоніну, r = -0,87 (p<0,05) – таурину, та r = -0,85 (p<0,05) за дії глутатіону.

Ключовою ланкою патогенезу гентаміцинового ГПН є розвиток оксидативного стресу з пригніченням активності дихального ланцюга мітохондрій та енергозабезпечення тканин (P. Randjelovic et al., 2017). Про відновлення енергосинтезуючої функції мітохондрій нефроцитів у лікованих ПСА тварин свідчить підвищення активності СДГ у середньому в 3,6 разу (p<0,01) порівняно до модельної патології. Виразніший цитопротекторний ефект таурину верифіковано зниженням активності ГТП у сечі в 4,8 разу (p<0,01), тоді як на тлі дії адеметіоніну

фіксували зниження активності ферменту в 2,2 разу ($p < 0,01$), глутатіону – в 3,7 разу ($p < 0,01$), що перевершило ефект препарату порівняння канефрону. Антиоксидантна активність досліджуваних ПСА опосередкована підвищенням активності захисних ферментів у нирках: ГП у середньому в 1,5 разу ($p < 0,01$), КАТ на 16,1% ($p < 0,05$), поряд зі зменшенням вмісту продуктів перекисного окиснення ліпідів (зменшення вмісту ТБК-АП у тканині нирок у 1,5 разу, $p < 0,01$) та білків (зменшення вмісту ОМБ на 23,5%, $p < 0,01$) (табл. 4).

Таблиця 4

Вплив похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на прооксидантно-антиоксидантний баланс у тканині нирок при гентаміциновій нефропатії у щурів ($M \pm m$, $n=7$)

| Показник | ТБК-АП, мкмоль/г | ОМБ, о.о.г./г | КАТ, мкмоль/(хв×мг) | ГП, нмоль/(хв×мг) |
|----------------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|
| Інтактний контроль | 36,34±5,84 | 11,02±0,25 | 11,97±0,11 | 161,31±8,15 |
| ГН | 66,70±3,19 ^{##} | 17,04±0,52 ^{##} | 8,92±0,42 ^{##} | 101,59±7,27 ^{##} |
| ГН + Адеметіонін, 20 мг/кг | 45,09±3,37 ^{**} | 13,07±0,66 ^{**} | 10,27±0,37 [*] | 148,58±8,82 ^{**} |
| ГН + Таурин, 100 мг/кг | 40,51±1,49 ^{**} | 12,20±0,48 ^{**°} | 11,00±0,22 ^{**°} | 153,00±6,56 ^{**°} |
| ГН + Глутатіон, 30 мг/кг | 44,65±2,21 ^{**} | 13,81±0,54 ^{**} | 9,81±0,33 | 146,67±5,44 ^{**} |
| ГН + Канефрон, 27 мг/кг | 50,99±4,47 [*] | 14,59±0,74 [*] | 9,20±0,40 | 134,01±5,08 [*] |

Встановлено, що на даній моделі ГПН найпотужніший антиоксидантний потенціал має таурин, про що свідчить збільшення АПІ в 3,1 разу ($p < 0,01$) у порівнянні з модельною патологією, та достовірною перевагою на 25,9% над іншими ПСА, а також зниження ІОС в 2 рази ($p < 0,01$). Антиоксидантний ефект таурину при патології нирок підтверджено рядом дослідників (С. J. Jong et al., 2012; К. Shimada et al., 2015; Т. С. Звягіна, 2016).

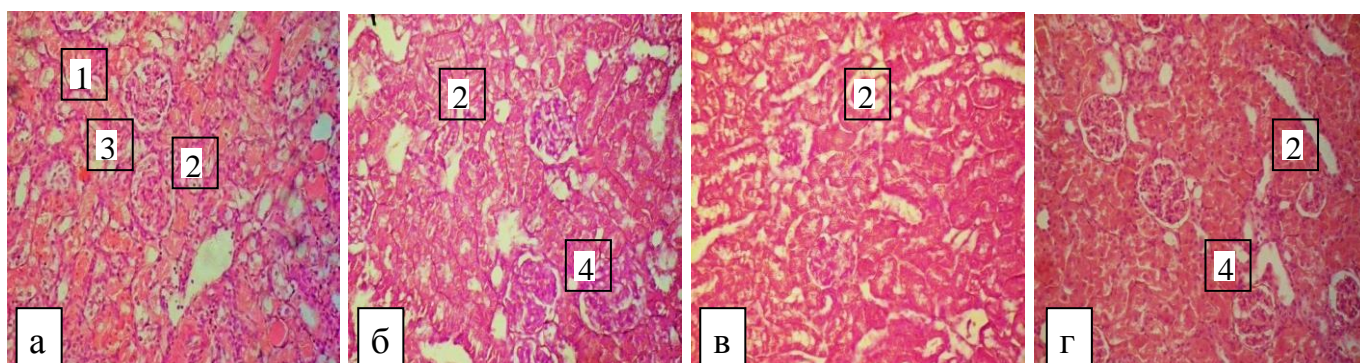


Рис. 2 Мікропрепарат нирки щура (а – модельна патологія, б – застосування адеметіоніну (20 мг/кг), в – застосування таурину (100 мг/кг), г – застосування глутатіону (30 мг/кг)) при гентаміциновій нефропатії. Некроз (1), дистрофічні зміни епітеліоцитів (2), циліндри (3), розширення просвіту Боумена (4). Гематоксилін і еозин. 3б.×100.

У тварин лікованих ПСА, гістологічно встановлено (рис. 2) зменшення кількості некротизованих епітеліоцитів та обмеження дегенеративних змін у вигляді

гідропічного набухання порівняно до тварин групи патології.

Наступним завданням роботи стало визначення ефективності адеметіоніну, таурину та глутатіону за умов ішемічно-реперфузійного ГПН. Ішемія-реперфузія зазвичай супроводжується дисфункцією мікроциркуляції, розвитком гіпоксії, оксидативного стресу, що в подальшому призводить до некрозу та апоптозу нефроцитів з переважним ураженням тубулярних епітеліальних клітин (M. Malek et al., 2015). Профілактичне застосування досліджуваних ПСА дозволило усунути прояви ішемії, що виявлялося збільшенням сечовиділення з попередженням розвитку олігурії (у середньому на 69,7%, $p < 0,01$) та відповідним зростанням ШКФ у 1,7 разу ($p < 0,01$) під впливом адеметіоніну, у 2,1 разу ($p < 0,01$) – на тлі введення таурину та в 2,7 разу ($p < 0,01$) – глутатіону порівняно до групи ішемії-реперфузії. При цьому гіпоазотемічна дія виявлялася зниженням концентрації креатиніну в плазмі крові у 1,4 ($p < 0,01$), 1,7 ($p < 0,01$) та 2,1 разу ($p < 0,01$), відповідно. Обмеження ступеня пошкодження нефроцитів у лікованих ПСА тварин супроводжувалось зниженням протеїнурії в середньому в 1,8 разу ($p < 0,01$). На даній моделі ефективність глутатіону за рядом показників функції нирок перевершувала інші ПСА та референс-препарат етилметилгідроксипіридину сукцинату (табл. 5).

Таблиця 5

Функціональний стан нирок щурів при профілактичному введенні похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов ішемічно-реперфузійного ГПН ($M \pm m$, $n=7$)

| Показник | Псевдо-оперовані тварини | I/P ГПН | I/P + Адеметіонін, 20 мг/кг | I/P + Таурин, 100 мг/кг | I/P + Глутатіон, 30 мг/кг | I/P + Мексидол, 100 мг/кг |
|-----------------------------------|--------------------------|---------------------------|-----------------------------|---------------------------|----------------------------|---------------------------|
| Діурез, мл/2 год·100 г | 4,38±0,19 | 2,38±0,11 ^{##} | 3,66±0,13 ^{**} | 4,15±0,16 ^{**} | 4,31±0,14 ^{**} | 3,91±0,14 ^{**} |
| Рсг, мкмоль/л | 63,21±6,05 | 165,37±9,23 ^{##} | 117,83±4,93 ^{**} | 96,59±2,41 ^{**} | 78,39±2,37 ^{**oφ} | 101,65±4,35 ^{**} |
| ШКФ, мкл/хв·100 г | 532,7±47,3 | 173,1±9,9 ^{##} | 296,7±8,3 ^{**} | 372,1±24,9 ^{**} | 463,7±24,2 ^{**oφ} | 342,5±12,6 ^{**} |
| Uрг, г/л | 0,016±0,002 | 0,049±0,003 ^{##} | 0,033±0,002 ^{**} | 0,025±0,002 ^{**} | 0,022±0,002 ^{**} | 0,030±0,004 ^{**} |
| RNa ⁺ , мкмоль/хв | 63,78±5,17 | 25,35±1,88 ^{##} | 40,38±1,60 ^{**} | 47,54±4,59 ^{**} | 55,73±3,80 ^{**oφ} | 45,28±2,68 ^{**} |
| FE _{Na} ⁺ , % | 0,38±0,05 | 2,46±0,13 ^{##} | 1,19±0,10 ^{**} | 0,77±0,05 ^{**} | 0,57±0,05 ^{**oφ} | 0,93±0,05 ^{**} |
| PK ⁺ , ммоль/л | 5,18±0,49 | 4,46±0,10 [#] | 4,93±0,23 ^{**} | 5,04±0,35 ^{**} | 5,25±0,13 ^{**} | 5,07±0,29 ^{**} |
| ГГТП, ммоль/(год×л) | 0,47±0,05 | 9,72±0,35 ^{##} | 6,02±0,32 ^{**} | 3,60±0,19 ^{**} | 3,05±0,27 ^{**o} | 4,38±0,37 ^{**} |

Встановлено, що досліджувані засоби попереджували порушення транспорту іонів натрію за рахунок відновлення процесів реабсорбції (у середньому в 1,9 разу, $p < 0,01$) з виразнішим коригувальним впливом глутатіону, при застосуванні якого показник абсолютної реабсорбції іонів натрію збільшувався в 2,2 разу ($p < 0,01$) порівняно до групи модельної патології; та зменшення фракційної екскреції даного іону (у 2,9 разу, $p < 0,01$) з перевагою глутатіону на 41,8% ($p < 0,05$) над іншими ПСА,

та на 38,7% ($p < 0,05$) над етилметилгідроксипіридину сукцинатом. Відновлення функціонування внутрішньониркових механізмів авторегуляції підтверджується показниками клубочково-канальцевого зв'язку: $r = 0,84$ ($p < 0,05$) у групі адеметіоніну, $r = 0,75$ ($p < 0,05$) у групі таурину, $r = 0,85$ ($p < 0,05$) у групі глутатіону, та канальцево-канальцевого балансу: $r = -0,71$ ($p > 0,05$), $r = -0,96$ ($p < 0,01$) та $r = -0,89$ ($p < 0,05$) відповідно.

Цитопротекторна активність досліджуваних препаратів верифікована зниженням активності ГГТП у сечі лікованих тварин: під впливом адеметіоніну в 1,6 разу ($p < 0,01$), таурину – в 2,7 разу ($p < 0,01$), глутатіону – в 3,2 разу ($p < 0,01$) у порівнянні до нелікованих тварин та з достовірною перевагою глутатіону над препаратом порівняння.

Ішемічно-реперфузійне пошкодження зазвичай асоційовано з підвищеною генерацією активних форм кисню, які індукують перекисне окиснення ліпідів та білків клітин, що призводить до незворотного ушкодження мембранних структур, пригнічуючи їх біоенергетичні процеси (A. Kezic et al., 2016). Про збереження енергозабезпечення нефроцитів за умов гіпоксії свідчить збільшення активності СДГ: при використанні адеметіоніну в 1,6 разу ($p < 0,01$), таурину – в 1,8 разу ($p < 0,01$), глутатіону – в 2,7 разу ($p < 0,01$), ефект якого переважав на 55,3% інші ПСА та не поступався впливу етилметилгідроксипіридину сукцинату.

За результатами дослідження встановлено, що ПСА сприяли зниженню інтенсивності перекисного окиснення ліпідів (зменшення вмісту ТБК-АП у тканині нирок у середньому на 22,7%, $p < 0,01$) та білків (зниження вмісту ОМБ у тканині нирок в 1,3 разу, $p < 0,01$). Антиоксидантний потенціал препаратів реалізувався зростанням активності ферментів у тканині нирок: ГП на 44,2% ($p < 0,01$) та КАТ на 23,2% ($p < 0,01$) (табл. 6).

Таблиця 6

Вплив похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) на прооксидантно-антиоксидантний баланс у тканині нирок за умов ішемічно-реперфузійного ГПН ($M \pm m$, $n=7$)

| Показник | ТБК-АП, мкмоль/г | ОМБ, о.о.г./г | КАТ, мкмоль/(хв×мг) | ГП, нмоль/(хв×мг) |
|---------------------------------|---------------------------|--------------------------|-------------------------|----------------------------|
| Псевдооперовані тварини | 40,36±2,83 | 8,43±0,43 | 7,13±0,35 | 217,65±9,75 |
| I/P ГПН | 70,18±2,16 ^{##} | 12,56±0,76 ^{##} | 5,29±0,23 ^{##} | 114,41±9,53 ^{##} |
| I/P ГПН + Адеметіонін, 20 мг/кг | 58,83±0,96 ^{**} | 10,40±0,72 ^{**} | 5,83±0,77 [*] | 144,64±11,90 ^{**} |
| I/P ГПН + Таурин, 100 мг/кг | 57,32±2,58 ^{**} | 9,90±0,85 ^{**} | 6,31±0,56 ^{**} | 154,03±8,48 ^{**} |
| I/P ГПН + Глутатіон, 30 мг/кг | 46,48±2,44 ^{**φ} | 8,94±0,42 ^{**} | 7,42±0,20 | 196,32±4,32 ^{**φ} |
| I/P ГПН + Мексидол, 100мг/кг | 49,01±1,39 ^{**} | 9,23±0,19 ^{**} | 7,04±0,37 ^{**} | 188,07±9,46 ^{**} |

Потужна антиоксидантна дія глутатіону, що підтверджена численними літературними публікаціями (M. Bilzer et al., 1999; F. Santangelo et al., 2004; M. Ahmadizadeh et al., 2012; Y. Shang et al., 2017), також встановлена у наших дослідженнях. Глутатіон найефективніше потенціював активність антиоксидантних ферментів, про що свідчить збільшення АПІ на 53,8% ($p < 0,01$) та зменшення ІОС у

крові на 49,6% ($p < 0,01$) відносно даних нелікованих тварин, не відрізняючись від ефекту антигіпоксанта етилметилгідроксипіридину сукцинату.

Дані функціонального аналізу підтверджуються збереженням структурної організації тканини нирок із зменшенням числа некротизованих епітеліоцитів, поширеності гідропічної дистрофії та вакуолізації, ступеня закупореності циліндрами звивистих канальців (рис. 3) з перевагою глутатіону, при застосуванні якого гістоструктура нирок наближалася до псевдооперованих тварин, а уражені нефроцити перебували у стані гідропічного набухання, що є зворотнім процесом.

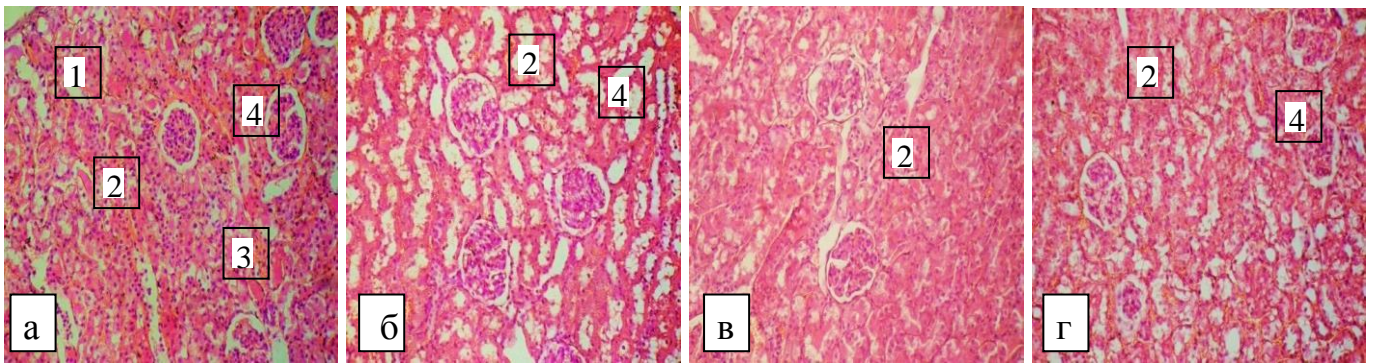


Рис. 3 Мікропрепарат нирки (а – модельна патологія, б – застосування адеметіоніну (20 мг/кг), в – застосування таурину (100 мг/кг), г – застосування глутатіону (30 мг/кг)) у щура з ішемічно-реперфузійним гострим пошкодженням нирок. Некроз епітеліоцитів (1), дистрофічні зміни епітеліоцитів (2), циліндри (3), крововиливи (4). Гематоксилін і еозин. Зб. $\times 100$.

При порівнянні нефропротекторної ефективності адеметіоніну, таурину та глутатіону на різних експериментальних моделях встановлено, що за умов рабдоміолітичного ГПН адеметіонін виявляє найвиразнішу активність за впливом на ШКФ, переважаючи ефекти таурину та глутатіону на 22,6% ($p < 0,05$; $N = 8,7$, $p < 0,01$), протеїнурію – на 31,4% ($p < 0,01$; $N = 9,5$, $p < 0,01$), зі значним зменшенням натрійурезу – на 31,1% ($p < 0,01$; $N = 9$, $p < 0,01$). Таурин демонструє найпотужнішу нефропротекцію за умов гентаміцинової нефропатії, переважаючи адеметіонін та глутатіон на 13,3% ($p < 0,05$; $N = 8,2$, $p < 0,01$) за збільшенням ШКФ, зменшенням ретенційної азотемії на 19,5% ($p < 0,05$; $N = 9,45$, $p < 0,01$) та протеїнурії – 27,5% ($p < 0,05$; $N = 8,95$, $p < 0,01$). Глутатіон найефективніше усував прояви ішемічно-реперфузійного пошкодження, про що свідчить зростання ШКФ на 38,7% ($p < 0,01$; $N = 9,6$, $p < 0,01$) у порівнянні з адеметіоніном та таурином, зниження креатинінемії на 26,9% ($p < 0,01$; $N = 7,2$, $p < 0,05$) та посилення реабсорбції іонів натрію на 26,7% ($p < 0,05$; $N = 8,1$, $p < 0,05$), відповідно.

Результати дослідження свідчать про виразну нефропротекторну активність адеметіоніну, таурину та глутатіону при патогенетично відмінних моделях ГПН, що обґрунтовує доцільність їх подальшого вивчення з метою розширення спектру терапевтичного застосування.

ВИСНОВКИ

Значна розповсюдженість гострого та хронічного пошкодження нирок актуалізує пошук альтернативних, безпечних та ефективних засобів нефропротекції, які здатні комплексно впливати на основні патогенетичні механізми розвитку ниркової патології.

У дисертаційній роботі наведено вирішення актуальної наукової задачі щодо експериментального обґрунтування доцільності та ефективності застосування похідних сірковмісних амінокислот – адеметіоніну, таурину та глутатіону як нефропротекторних засобів з антиоксидантними та мембранопротекторними властивостями, при патогенетично відмінних моделях гострого пошкодження нирок.

1. На моделі рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок при одноразовому введенні визначено умовно-ефективні дози адеметіоніну – 20 мг/кг, таурину – 100 мг/кг та глутатіону – 30 мг/кг, при яких ренопротекторна дія виявлялася позитивною динамікою показників функціонального стану нирок: збільшенням діурезу та швидкості клубочкової фільтрації, зменшенням ретенційної азотемії, протеїнурії та екскреції іонів натрію. Нефропротекторну активність верифіковано подовженням тривалості життя при інтоксикації етиленгліколем з виразнішим ефектом глутатіону (виживаність тварин 28,6% ($p < 0,05$) на 5-ту добу експерименту проти 0 % у контрольній групі).

1. Встановлено ренальні ефекти адеметіоніну, таурину, глутатіону в умовно-ефективних дозах після курсового 7-денного введення інтактним тваринам на тлі водного навантаження організму, що супроводжувались зміною каналцевого транспорту іонів та реалізувались зростанням натрійурезу в 1,9; 1,7 та 1,9 рази ($p < 0,01$), помірним зменшенням реабсорбції води та зниженням екскреції білка з сечею на 13,2; 36,1 та 18,1% ($p < 0,01$), відповідно, при застосуванні адеметіоніну, таурину та глутатіону. При цьому досліджувані засоби не викликають патологічних дегенеративних змін тканини нирок, що свідчить про відсутність нефротоксичних властивостей.

2. Доведена нефропротекторна активність похідних сірковмісних амінокислот при профілактичному введенні (впродовж 3-х діб до моделювання патології) за умов рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок, що реалізувалась зростанням швидкості клубочкової фільтрації на 62,8; 78,0 та 38,6% ($p < 0,01$), відповідно, під впливом глутатіону, адеметіоніну та таурину; зниженням ретенційної азотемії та протеїнурії. На даній моделі при лікувальному режимі введення препаратів (впродовж 7-ми днів після моделювання патології) встановлена нефропротекторна активність досліджуваних засобів з перевагою адеметіоніну над таурином та глутатіоном (мультигрупове порівняння за Н-критерієм Краскела-Уоліса). Показано, що нефропротекторний вплив адеметіоніну не поступався дії перепарату порівняння ліпофлаону та полягав в гіпоазотемічному (зниження концентрації креатиніну в плазмі крові у 1,4 рази ($p < 0,01$)) та антипротеїнуричному (зниження вмісту білка у сечі у 2,8 рази ($p < 0,01$)) ефектах, збільшенні клубочкової фільтрації в 1,6 рази ($p < 0,01$) та зниженні гіперкаліємії в 1,3 рази ($p < 0,01$) завдяки

активації каналцево-каналцевого балансу ($r = -0,87$), фібринолітичній, протинекротичній та антиоксидантній дії.

3. Встановлено, що досліджувані засоби зменшують нефротоксичний вплив гентаміцину, та підтверджується їх коригувальним впливом на екскреторну функцію нирок з відновленням швидкості клубочкової фільтрації, реабсорбції іонів натрію, попередженням розвитку гіперкреатиніємії, гіпокаліємії та антиоксидантною дією. Гістологічно доведена здатність препаратів попереджувати некротичну загибель епітеліоцитів та обмежувати поширеність дегенеративних процесів у нирках. Встановлено, що таурин на цій моделі демонструє виразнішу нефропротекторну активність порівняно з адеметіоніном, глутатіоном та референс-препаратом канефроном, що забезпечується, достовірним відносно патології, збільшенням діурезу на 78,1% ($p < 0,01$), швидкості клубочкової фільтрації в 2,9 разу ($p < 0,01$), зменшенням протеїнурії в 3,6 разу ($p < 0,01$), абсолютної реабсорбції іонів натрію в 2,6 разу ($p < 0,01$), з активацією каналцево-каналцевого балансу ($r = -0,87$) та клубочково-каналцевого зв'язку ($r = 0,96$); посиленням антиоксидантного захисту (зростання антиоксидантно-прооксидантного індексу в тканині нирок у 3,1 разу ($p < 0,01$; $N = 8,94$) та зменшенням активності гамма-глутамілтранспептидази в сечі у 4,8 разу ($p < 0,01$; $N = 10,32$), що є свідченням цитопротекторної дії.

4. За умов ішемічно-реперфузійного гострого пошкодження нирок показано здатність досліджуваних засобів попереджувати порушення функціонального стану нирок з перевагою глутатіону над таурином, адеметіоніном та препаратом порівняння мексидолом. Доведено, що глутатіон виразніше сприяв відновленню видільної функції нирок (збільшення швидкості клубочкової фільтрації в 2,7 разу ($p < 0,01$), абсолютної реабсорбції іонів натрію в 2,2 разу ($p < 0,01$), зниження протеїнурії в 2,2 разу ($p < 0,01$)); енергозабезпечення клітин, що підтверджено зростанням активності сукцинатдегідрогенази в нирках у 2,7 разу ($p < 0,01$), та виявляв цитопротекторну дію, яка реалізувалась зниженням процесів перекисного окиснення ліпідів та білків (збільшення антиоксидантно-прооксидантного індексу у тканині нирок у 2,5 разу ($p < 0,01$; $N = 7,68$), поряд зі зниженням індексу оксидативного стресу в крові тварин) та зниженням активності гамма-глутамілтранспептидази в сечі в 3,2 разу ($p < 0,01$; $N = 9,35$).

5. Встановлено, що нефропротекторна активність похідних сірковмісних амінокислот відрізняється за різних експериментальних моделей гострого пошкодження нирок. Адеметіонін виявляє найвиразнішу дію при рабдоміолітичному гострому пошкодженні нирок, що доведено за збільшенням швидкості клубочкової фільтрації на 22,6% ($p < 0,05$; $N = 8,72$), зменшенням протеїнурії на 31,4% ($p < 0,01$; $N = 9,55$) порівняно до таурину та глутатіону. Таурин демонстрував виразнішу нефропротекцію за умов гентаміцинової нефропатії, що встановлено за зменшенням ретенційної азотемії на 19,5% ($p < 0,05$; $N = 9,45$) та протеїнурії на 27,5% ($p < 0,01$; $N = 7,78$). Глутатіон найефективніше усував прояви ішемічно-реперфузійного пошкодження нирок, що доведено за зростанням швидкості клубочкової фільтрації на 38,7% ($p < 0,01$; $N = 9,63$) та зниженням гіперкреатиніємії на 26,9% ($p < 0,01$; $N = 7,22$) у порівнянні з таурином та глутатіоном.

6. Результати експериментальних досліджень доводять нефропротекторну активність адеметіоніну, таурину та глутатіону при гострому пошкодженні нирок різної етіології завдяки впливу на основні патогенетичні механізми його розвитку, що виявляється покращенням функціонального стану нирок тварин, відновленням прооксидантно-антиоксидантної рівноваги, нормалізацією енергетичного забезпечення нефроцитів та цитопротекторною дією. Одержані результати обґрунтовують доцільність проведення подальших досліджень з метою розширення спектру застосування препаратів сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) та оптимізації фармакотерапії ниркової патології.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Заморський І. І., Драчук В. М., Горошко О. М. Вплив адеметіоніну на стан прооксидантно-антиоксидантного балансу в щурів при гліцероловій гострій нирковій недостатності. *Медична та клінічна хімія*. 2015. № 3 (64). С. 29–34. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, участь у проведенні експерименту, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

2. Драчук В. М., Заморський І. І., Горошко О. М. Вплив адеметіоніну на морфологічні зміни в нирках щурів при експериментальному рабдоміолізі. *Морфологія*. 2016. № 3 (10). С. 161–164. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, відбір та підготовка біоматеріалу для гістологічного дослідження, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

3. Drachuk V. M., Zamorskii I. I., Goroshko O. M. The influence of glutathione on the prooxidant-antioxidant activity in kidneys and blood of rats with rhabdomyolytic model of acute kidney injury. *Український біофармацевтичний журнал*. 2016. № 4 (45). Р. 20–23. (Особистий внесок – постановка та участь в експерименті, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

4. Zamorskii I. I., Drachuk V. M., Goroshko O. M. The nephroprotective effects of taurine in acute kidney injury due to rhabdomyolysis. *Biophysics*. 2016. Vol. 61, N 6. P. 1036–1038. (Особистий внесок – постановка експерименту, проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

5. Zamorskii I. I., Drachuk V. M. Nephroprotective influence of ademetionine on the functional state of rats kidneys in conditions of gentamicin-induced kidney injury. *Journal of Education, Health and Sport*. 2018. Vol. 8, N 2. P. 299–304. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, участь у проведенні експерименту, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

6. Drachuk V., Zamorskii I., Shchudrova T. Comparative analysis of the nephroprotective action of ademetionine and glutathione in ischemia-reperfusion acute kidney injury. *Science Rise: Pharmaceutical Science*. 2018. N 2 (12). P. 49–55. (Особистий внесок – огляд та аналіз літературних джерел, постановка експерименту,

проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

7. Драчук В. М., Заморський І. І., Горошко А. М. Сравнительная оценка нефропротекторного действия таурина и мексидола при ишемически-реперфузионном остром повреждении почек. *Вестник фармації (Белорусь)*. 2018. № 2 (80). С. 77–83. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту, відбір та підготовка матеріалу, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

8. Драчук В. М., Заморський І. І., Горошко О. М., Копчук Т. Г. Порівняльна характеристика нефропротекторної активності таурину та канефрону при гентаміциновій нефропатії. *Одеський медичний журнал*. 2018. № 4. С. 12–17. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

9. Drachuk V. M., Zamorskii I. I., Shchudrova T. S., Goroshko O. M. The effect of derivatives of sulfur-containing amino acids (ademetionine, taurine and glutathione) on survival of animals with acute kidney injury of various genesis. *Вісник фармації*. 2018. № 3 (95). С. 59–63. (Особистий внесок – проведення експерименту, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, оформлення статті до друку).

10. Drachuk V. M., Zamorskii I. I., Shchudrova T. S., Goroshko O. M. Renal effects of the sulfur-containing aminoacid derivatives (ademetionine, taurin and glutathion) in conditionally healthy animals. *Клінічна фармація*. 2018. Т. 22, № 4. Р. 20–26. (Особистий внесок – аналіз джерел літератури, постановка експерименту та проведення біохімічних досліджень, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, підготовка статті до друку).

11. Спосіб профілактики та лікування гострого пошкодження нирок у щурів / І. І. Заморський, В. М. Драчук, О. М. Горошко. Пат. на корисну модель № 138075U Україна; заявл. 09.07.2018; опубл. 26.12.2018. Бюл. № 24. 4 с. (Особистий внесок – участь у патентному пошуку, проведенні експерименту, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, оформлення патенту).

12. Заморський І. І., Драчук В. М., Горошко О. М. Нефропротекторні ефекти адеметіоніну за умов гострої ниркової недостатності. *Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну*: матер. науково-практичної конференції з міжнародною участю та школою молодих вчених, м. Харків, 1–3 жовтня 2014 р. Харків: НФаУ, 2014. С. 47–48.

13. Драчук В. М., Заморський І. І. Нефропротекторні ефекти таурину при рабдоміолітичній гострій нирковій недостатності. *Досягнення клінічної фармакології та фармакотерапії на шляхах доказової медицини*: матер. VIII Всеукраїнської науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Вінниця, 9–10 листопада 2015 р. Вінниця: ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2015. С. 121–122.

14. Драчук В. М., Заморський І. І. Нефропротекторні ефекти глутатіону при міоглобінуричній гострій нирковій недостатності. *Нефрологія та діаліз: up to date*: матер. науково-практичної конференції з міжнародною участю, м. Чернівці, 8–9 жовтня 2015 р. № 3 (47). С. 77–78.

15. Драчук В. М., Заморський І. І., Горошко О. М. Порівняльна нефропротекторна ефективність похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну та глутатіону) при рабдоміолітичному гострому пошкодженні нирок. *Фармація XXI століття: тенденції та перспективи*: матер. VIII Національного з'їзду фармацевтів України, м. Харків, 13–16 вересня 2016 р. Харків, 2016. Т. 2. С. 50.

16. Драчук В. М., Заморський І. І. Нефропротекторное действие глутатиона при рабдомиолиз-индуцированном остром повреждении почек. *Acta Naturae*: науч. труды: V съезд физиологов СНГ. Конференция ADFLIM, Сочи–Дагомыс (Россия), 4–6 октября 2016 г., Сочи; Дагомыс, 2016. Спецвыпуск. Т. 1. С. 42.

17. Заморський І. І., Драчук В. М. Морфологічні зміни в нирках щурів при гентаміциновій нефропатії на фоні застосування таурину. *Медицина наука в практику охорони здоров'я*: матер. Всеукраїнської науково-практичної конференції молодих вчених м. Полтава, 17 листопада 2017 р. Полтава: ВДНЗУ «Українська медична стоматологічна академія», 2017. С. 65–66.

18. Заморський І. І., Драчук В. М., Горошко О. М. Нефропротекторна активність адеметіоніну за гентаміцинової нефропатії. *V Нац. з'їзд фармакологів України*: матер. тез доповідей, м. Запоріжжя, 18–20 жовтня 2017 р. Запоріжжя, 2017. С. 51–52.

19. Драчук В. М. Нефропротекторна активність препарату глутатіону при ішемічно-реперфузійному гострому пошкодженні нирок. *Матер. V міжнародного медико-фармацевтичного конгресу студентів і молодих вчених ВІМСО*, м. Чернівці, 4–6 квітня 2018 р. Чернівці: «Медуніверситет», 2018. С. 408.

20. Адеметіонін як засіб профілактики гепаторенального синдрому: методичні рекомендації. Чернівці: БДМУ, 2018. – 20 с. (Особистий внесок – участь у проведенні експерименту, статистична обробка даних, аналіз та узагальнення результатів, оформлення матеріалів до друку).

АНОТАЦІЯ

Драчук В.М. Нефропротекторна активність похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов експериментального гострого пошкодження нирок. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет, МОЗ України, Харків, 2019.

Дисертаційна робота присвячена вивченню нефропротекторних властивостей похідних сірковмісних амінокислот (адеметіоніну, таурину та глутатіону) за умов гострого пошкодження нирок різної етіології в порівняльному аспекті та встановлення механізмів їх впливу. У ході експериментальних досліджень виявлено умовно-ефективні дози для обраних препаратів: адеметіоніну – 20 мг/кг, глутатіону – 30 мг/кг та таурину – 100 мг/кг. На моделі рабдоміолітичного гострого пошкодження нирок виразніший нефропротекторний вплив демонстрував адеметіонін за здатністю усувати токсичний вплив міоглобіну. При гентаміциновій нефропатії за рядом показників переважав таурин, при ішемії-реперфузії

максимальний протекторний вплив зафіксовано у глутатіону. Нефропротекторний ефект зумовлений здатністю препаратів посилювати сечовиділення, швидкість клубочкової фільтрації, зменшувати прояви ретенційної азотемії та протеїнурії; нормалізувати іонорегулювальну функцію, що реалізувалось активацією клубочково-канальцевого та канальцево-канальцевого балансів, покращанням енергозабезпечення нирок, та підтверджується даними морфологічного дослідження. Доведено виразний антиоксидантний вплив досліджених похідних сірковмісних амінокислот, а також їх здатність відновлювати фібрино- та протеолітичну активність в нирках.

Ключові слова: нефропротекторна активність, функціональний стан нирок, гостре пошкодження нирок, похідні сірковмісних амінокислот, адеметионін, таурин, глутатіон.

АННОТАЦИЯ

Драчук В. М. Нефропротекторная активность производных серосодержащих аминокислот (адеметионина, таурина и глутатиона) в условиях экспериментального острого повреждения почек. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология.– Национальный фармацевтический университет, МЗ Украины, Харьков, 2019.

Диссертационная работа посвящена изучению нефропротекторных свойств производных серосодержащих аминокислот (адеметионина, таурина и глутатиона) в условиях острого повреждения почек различной этиологии в сравнительном аспекте с определением механизмов их действия. В ходе экспериментальных исследований установлены условно-эффективные дозы для выбранных препаратов: для адеметионина – 20 мг/кг, глутатиона – 30 мг/кг, таурина – 100 мг/кг. На модели рабдомиолитического острого повреждения почек более выраженный нефропротекторный эффект и способность устранять токсическое воздействие миоглобина продемонстрировал адеметионин. При гентамициновой нефропатии по ряду показателей преобладал таурин, при ишемии-реперфузии максимальный протекторный эффект зафиксирован для глутатиона. Нефропротекторное действие базируется на способности препаратов увеличивать мочевыделение, скорость клубочковой фильтрации, уменьшать проявления ретенционной азотемии и протеинурии; нормализовать ионорегулирующую функцию, что реализовалось активацией клубочково-канальцевого и канальцево-канальцевого балансов, улучшением энергообеспечения почек, и подтверждается данными морфологического исследования. Доказано выраженное антиоксидантное действие исследованных производных серосодержащих аминокислот, а также их способность восстанавливать фибрино- и протеолитическую активность в почках.

Ключевые слова: нефропротекторная активность, функциональное состояние почек, острое повреждение почек, производные серосодержащих аминокислот, адеметионин, таурин, глутатин.

SUMMARY

Drachuk V. M. Nephroprotective activity of the derivatives of sulfur-containing amino acids (ademetionine, taurine and glutathione) in conditions of experimental acute kidney injury. – As a manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree by the speciality 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of the Ministry of Healthcare of Ukraine, Kharkiv, 2019.

The dissertation is devoted to the study of nephroprotective properties of the derivatives of sulfur-containing amino acids (ademetionine, taurine and glutathione) under the conditions of acute kidney injury of different etiology in the comparative aspect with the establishment of the pathogenetic mechanisms of their influence.

In the course of experimental studies, the conventionally effective doses for the selected drugs were established: ademetionine 20 mg/kg, glutathione 30 mg/kg and taurine – 100 mg/kg. Renoprotective effect was confirmed by a positive dynamics in the parameters of the functional state of kidneys: an increase in diuresis and glomerular filtration rate, a decrease in retention azotemia, proteinuria and excretion of sodium ions. Pharmacological, biochemical, histological and statistical method of analysis were used. It was found, that a 7-day course of ademetionine, taurine and glutathione administration to intact animals contributed to an increase in diuresis and natriuresis, with a tendency to an enhancement of glomerular filtration rate (GFR) and a simultaneous decrease in urine protein excretion, which shows the ability of drugs to affect the tubular transport. Using an integral index of animal survival, the nephroprotective activity of the studied derivatives of sulfur-containing amino acids was verified under the conditions of ethylene glycol intoxication. It was found that in the group of animals with ethylene glycol intoxication, the highest effectiveness was demonstrated by the preparation of glutathione – 28.6% ($p < 0.05$) of animal survival at day 5 of the experiment.

An administration of the studied derivatives of sulfur-containing amino acids in a prophylactic regimen (3 days prior to the modelling of rhabdomyolytic acute kidney injury), a clear nephroprotective effect was established, manifested by an improvement of the functional state of kidneys and a decrease in the degree of damage to renal tissue. An administration in a treatment regimen (within 7 days after the modelling of rhabdomyolytic acute kidney injury) demonstrated a higher nephroprotective efficacy of ademetionine (according to multi-group comparison using Kruskal–Wallis test), as evidenced by an improvement of the excretory kidney function with an increase in GFR by 1.6 times ($p < 0,01$), diuresis – by 47,3% ($p < 0,01$), reduction of azotemia and proteinuria, as well as a restoration of the reabsorption capacity of tubular nephrocytes, confirmed by the reduction of fractional excretion of sodium ions by 2.9 times ($p < 0.01$), the maintenance of glomerular-tubular as well as normalization of tubular-tubular balance. Improvement of the excretory function was realized in reduction of hyperkalaemia (by 3.7 times ($p < 0.01$) on average) and normalization of urine pH in all experimental animals. Inhibition of the lipid and protein peroxidation process in both blood plasma and kidney tissue and enhancement of the enzymatic and non-enzymatic parts of antioxidant system manifested the antioxidant effect of ademetionine. An increase in the fibrinolysis activity and

normalization of proteolysis in kidney tissue was also established. A significant decrease in the activity of GGTP by 5.2 times ($p < 0.01$) compared to untreated animals indicates the cytoprotective activity of ademetionine, and is confirmed by histological data.

Administration of the investigational drugs in a prophylactic-therapeutic regimen resulted in a significant reduction of the degree of damage to nephrocytes in rats with gentamicin-induced nephropathy. The most pronounced effect was shown by taurine as it was evidenced by the number of indices: an increase in diuresis by 78.1% ($p < 0.01$), GFR – by 2.9 times ($p < 0.01$), a decrease in azotemia by 2.3 times ($p < 0.01$), and proteinuria – by 3.6 times ($p < 0.01$). The protective effect of taurine on epitheliocytes of proximal tubules is confirmed by an increase in reabsorption capacity and a corresponding decrease in fractional sodium excretion by 11.2 times ($p < 0.01$), an increase in absolute reabsorption of sodium ions by 2.6 times with an activation of the tubular-tubular balance ($r = -0.87$) and glomerular-tubular balance ($r = 0.96$). At the same time, under the influence of taurine an activation of the antioxidant defence (an increase in the antioxidant-prooxidant index in kidney tissue by 3.1 times) and decrease in gamma-glutamyltranspeptidase activity in urine by 4.8 times is observed. This evidences a cytoprotective effect correlating to morphological data showing a decrease in the prevalence and number of epithelial cells with signs of degeneration.

In ischemia-reperfusion kidney injury, the use of the investigated derivatives of sulfur-containing amino acids in the prophylactic regimen significantly limited epithelial cell damage, as evidenced by an increase in GFR, diuresis, a decrease in retention azotemia and proteinuria in treated animals. The protective effect on tubular cells resulted in an increase in the proximal and distal transport of sodium ions. However, a significant correlation between the GFR, proximal ($r = 0.85$, $p < 0.05$) and distal sodium transport ($r = 0.75$, $p < 0.05$) was found only in glutathione group, evidencing the adequate functioning of the intrarenal regulatory mechanisms under the influence of drug. The compensatory activation of distal transport is demonstrated by the activation of tubular-tubular balance ($r = -0.89$, $p < 0.05$). Histopathological examination confirmed biochemical data and revealed a decrease in the number of necrotic cells, as well as a degree and prevalence of hydropic degeneration and vacuolation. Among the studied drugs, glutathione had the most pronounced effect of the normalization of prooxidant-antioxidant balance. The amelioration of the energy supply of nephrocytes under the conditions of hypoxia is indicated by an increase in the succinate dehydrogenase activity in kidney tissue: in rats treated with ademetionine by 1,6 times, taurine – by 1,8 times, glutathione – by 2,7 times, mexidol – by 2,5 times, which confirms the complex protective effect of drugs, especially glutathione. In general, the effectiveness of the derivatives of sulfur-containing amino acids on this model can be placed in the following order: glutathione > taurine > ademetionine.

Key words: nephroprotective activity, functional state of kidneys, acute kidney injury, derivatives of sulfur-containing amino acids, ademetionine, taurine, glutathione

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

| | | |
|--------|---|--|
| АПІ | – | антиоксидантно-прооксидантний індекс у тканині нирок; |
| АФК | – | активні форми кисню; |
| ВРО | – | вільнорадикальне окиснення; |
| І/Р | – | ішемія-реперфузія; |
| ІОС | – | індекс оксидативного стресу у крові; |
| ГГТП | – | гамма-глутамілтранспептидаза; |
| ГПН | – | гостре пошкодження нирок; |
| ГП | – | глутатіонпероксидаза; |
| КАТ | – | каталаза; |
| НФА | – | неферментативна фібринолітична активність; |
| ОМБ | – | окисно-модифіковані білки; |
| о.о.г. | – | одиниці оптичної густини; |
| ПОЛ | – | пероксидне окиснення ліпідів; |
| ПСА | – | похідні сірковмісних амінокислот; |
| ТБК-АП | – | активні продукти, що реагують із тіобарбітуровою кислотою; |
| СДГ | – | сукцинатдегідрогеназа; |
| СФА | – | сумарна фібринолітична активність; |
| ФФА | – | ферментативна фібринолітична активність; |
| ШКФ | – | швидкість клубочкової фільтрації. |