Міністерство охорони здоров'я України
Національний фармацевтичний університет

ДОРОШЕНКО ОКСАНА ГРИГОРІВНА

УДК 615.014.07:615.322:615.254.2/.4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ РОСЛИННОГО ЗБОРУ ІЗ ДІУРЕТИЧНОЮ ТА НЕФРОПРОТЕКТОРНОЮ ДІЄЮ

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
кандидата фармацевтичних наук

Харків – 2019

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана на кафедрі фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України».

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор
МАРЧИШИН Світлана Михайлівна,
Тернопільський національний медичний університет
імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
завідувач кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
ШТРИГОЛЬ Сергій Юрійович,
Національний фармацевтичний університет
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри фармакології

доктор фармацевтичних наук, професор
ЄРМОЛЕНКО Тамара Іванівна,
Харківський національний медичний університет,
МОЗ України (м. Харків),
завідувач кафедри фармакології та медичної рецептури

Захист відбудеться «6» грудня 2019 р. о 13 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 «4» листопада 2019 р.

Учений секретар
спеціалізованої вченої ради,
д. фарм. наук, професор Т. С. Сахарова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Обґрунтування вибору теми дослідження. Кінець XX і початок XXI століття характеризується зростанням кількості нефрологічних хворих як серед дорослого, так і серед дитячого населення. Відзначають значне збільшення числа уражень нирок на тлі ендокринних, алергічних захворювань, вживання алкоголю та наркотичних речовин. Тому питання діагностики та лікування захворювань нирок набувають дедалі більшої актуальності. Це пов'язано зі збільшенням частоти їх виникнення, тяжкістю перебігу, високою летальністю і несприятливими наслідками. Так, за даними фахової літератури, кількість хворих із нирковою недостатністю у країнах Європи, США та Японії коливається від 157 до 443 на 1 млн населення (K. T. Mills et al., 2015; V.A. Luyckx et al., 2018). Поширеність цієї патології у нашій країні становить 212 на 1 млн населення серед хворих віком понад 15 років (В. Л. Шевіна та співавт., 2014).

Проблемами сучасної нефрології є хронічна хвороба нирок (ХХН) та гостре ураження нирок (ГУН). ХХН є причиною як мінімум 2,4 мільйона смертей на рік і нині шостою найбільш швидко зростаючою причиною смерті. Епідеміологічні дослідження останніх років продемонстрували, що поширеність ХХН у різних регіонах світу досягає 8-35,5 % (N. R. Hill et al., 2019). В Україні станом на 2015 рік зареєстровано близько 500 тис. осіб, хворих на ХХН (С. А. Тихонова та співавт., 2016). Тому важливо запобігати ушкодженням нирок, прогресуванню та хронізації захворювання. Такий сприятливий вплив можуть забезпечити нефропротектори – лікарські засоби, що чинять інтегральний захисний вплив на нирки, захищають їх клітини від ушкодження та загибелі, відновлюють метаболічні процеси та функціональну активність органу, покращують прогноз захворювання (О. В. Товчига та співавт., 2012; С. Ю. Штрыголь и соавт., 2014; Casanova A. G. et al., 2017). При цьому доведено, що вартість профілактичних заходів на ранніх стадіях ХХН у рази нижча, ніж лікування пацієнта за допомогою гемодіалізу або шляхом трансплантації органу (С. А. Тихонова та співавт., 2016; C. C. Deidra et al., 2019).

Зважаючи на велику кількість доказів того, що важливу роль у патогенезі захворювань нирок відіграє ушкодження, викликане пероксидним окисненням ліпідів (В. Є. Дріянська та співавт., 2014), з метою корекції порушень функції нирок доцільно застосовувати лікарські засоби рослинного походження, які мають антиоксидантну активність, можуть покращувати функціональний стан нирок, впливаючи завдяки багатокомпонентному складу на різні ланки патогенезу захворювань нирок і сечовивідних шляхів.

Тому для підвищення ефективності лікування цих захворювань рекомендують використовувати лікарські рослини, які містять комплекс біологічно активних речовин (БАР), що виявляють діуретичні, протизапальні, антибактеріальні, спазмолітичні, мембраностабілізувальні властивості, покращують кровообіг у нирках, збільшують швидкість клубочкової фільтрації

(ШКФ) тощо (Н. В. Попова и соавт., 2011; І. П. Катеренчук та співавт., 2013; С. Ю. Штрыголь и соавт., 2014; О. А. Подплєтня та співавт., 2017).

Доцільним є застосування зборів лікарських рослин, які забезпечують комплексну дію за рахунок поєднання лікувальних ефектів різних компонентів (Самылина И. А. и соавт., 2010). Пошук і розробка нових багатокомпонентних рослинних композицій (зборів) з вітчизняної сировини і впровадження їх в медичну практику є актуальним завдання сучасної медицини і фармації.

Нами проведено вивчення 3 оригінальних фітозборів, які запропоновані Є. С. Товстухою (Є. С. Товстуха, 2010) та С. М. Марчишин (С. М. Марчишин, 2005; С. М. Марчишин., Н. О. Сушко, 2007) як діуретичні.

Збір № 1: квітки ромашки (80,0), кореневища і корені оману, насіння льону, корені вовчуга (по 60,0), трава хвоща польового, квітки нагідок (по 50,0).

Збір № 2: плоди петрушки, трава золотушника (по 100,0), плоди ялівцю, корені вовчуга, корені солодки, квітки нагідок (по 50,0).

Збір № 3: трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, кореневища і корені пирію (по 25,0), квітки цмину (20,0).

Вибір компонентів зборів зумовлений вмістом відповідних БАР, що зумовлюють їх діуретичну та нефропротекторну активність (Є. С. Товстуха, 2010).

Незважаючи на достатню кількість препаратів з діуретичними і нефропротекторними властивостями на фармацевтичному ринку України, кількість фітозборів сьогодні є незначною. Тому дані дослідження є актуальними.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами, грантами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідних програм кафедри фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» «Фармакогностичне вивчення культивованих і дикорослих лікарських рослин; фізико-хімічні дослідження продуктів перетворення 1,3-диметилксантину та стандартизація, фармакологічні і фармакотехнологічні випробування лікарських засобів» (номер Державної реєстрації 0115 U003359) та «Пошук нових видів лікарських рослин, фармакогностичне та фармакологічне обґрунтування ефективності їх біологічно активних речовин" (номер Державної реєстрації 0118 U004982).

Мета та завдання дослідження. *Мета роботи* – експериментальне обґрунтування доцільності застосування оригінальних рослинних зборів діуретичних як ефективних та безпечних засобів в профілактиці та комплексному лікуванні захворювань нирок різної етіології.

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

1. Провести фармакологічний скринінг оригінальних рослинних зборів діуретичних щодо їх впливу на видільну функцію нирок інтактних тварин та визначити умовно-ефективну дозу збору-лідера за діуретичною активністю.
2. Здійснити фітохімічні дослідження збору-лідера, ідентифікувати основні БАР та провести його стандартизацію.
3. Визначити гостру токсичність збору-лідера.

4. Дослідити нефропротекторну дію збору-лідера на моделі міоглобінуричного гострого ушкодження нирок у мишей.

5. Провести поглиблене вивчення нефропротекторної дії збору-лідера на моделі гентаміцинової нефропатії та дослідити його вплив на гістоструктуру нирок щурів.

6. Вивчити нефропротекторну активність збору-лідера на моделі гострого ішемічно-реперфузійного ушкодження нирок та дослідити його вплив на гістоструктуру нирок щурів.

7. Визначити супутні фармакологічні властивості та механізми дії збору-лідера (антиоксидантну, мембраностабілізувальну, протизапальну та антимікробну активність).

Об'єкт дослідження: фармакокорекція порушень функціонального стану нирок при їх ушкодженні різної етіології.

Предмет дослідження: діуретична та нефропротекторна активність оригінального рослинного збору-лідера при експериментальному ушкодженні нирок різної етіології.

Методи дослідження. Фармакологічні (моделювання міоглобінуричного гострого ушкодження нирок (ГУН), гентаміцин-індукованої нефропатії, ішемічно-реперфузійного ГУН, моделювання набряку лапи у щурів); функціональні (діурез мл/10 г (мл/100 г) за 2 год, ШКФ мл/хв на 10 г або 100 г, реабсорбції води, іонів натрію, фільтраційного заряду натрію, екскреції креатиніну, сечовини, калію, натрію та білка, кліренсу сечовини та коефіцієнтів калій/натрій сечі та плазми крові, маси нирок та печінки); біохімічні (визначення вмісту креатиніну, білка, сечовини, тіобарбітурової кислоти реактантів (ТБК-Р), активності супероксиддисмутази (СОД), каталази (КАТ), цитокінів IL-10, IL-1β); фітохімічні (реакції ідентифікації, тонкошарової (ТШХ) та паперової (ПХ) хроматографії, титриметрії, спектрофотометрії, газової хроматографії з мас-спектрометричним детектором (ГХ/МС), високоефективної рідинної хроматографії (ВЕРХ); гістологічні (дослідження гістоструктури кіркової та мозкової речовини нирок методом світлової мікроскопії); мікробіологічні (дослідження антимікробної активності диско-дифузійним методом та методом серійних розведень); статистичні методи.

Наукова новизна отриманих результатів. У дисертаційній роботі вперше доведена наявність діуретичної та нефропротекторної активності настою оригінального рослинного збору діуретичного (збір № 3), до складу якого входить трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, корені і кореневища пирію (по 25,0), квітки цмину (20,0). Вперше показано залежність прояву діуретичної/антидіуретичної дії в залежності від складу рослинної сировини зборів. Сечогінна та нефропротекторна дія збору № 3 забезпечується завдяки виявленим у його складі таких БАР, як сполук фенольної природи (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, кумаринів, дубильних речовин), органічних та амінокислот, а також макро- і мікроелементів. Настій збору № 1, до складу якого входить квітки ромашки (80,0), кореневища і корені оману, насіння льону, корінь вовчуга (по 60,0), трава хвоща польового, квітки нагідок (по 50,0) та настій збору №2, до складу

якого входить плоди петрушки, трава золотушника (по 100,0), плоди ялівцю, корінь вовчуга, корінь солодки, квітки нагідок (по 50,0) проявляють антидіуретичну дію за рахунок наявності в їхньому складі таких БАР, як ізофлавоноїд геністеїн, який міститься в корені вовчуга, гліцеритиновій та гліцеризиновій кислотам, які містяться в корені солодки.

Отримані нові дані щодо нефропротекторної дії настою збору № 3 в дозі 10 мл/кг на експериментальних моделях ГУН, які виявлялись достовірним зменшенням гіперазотемії, протеїнурії, нормалізацією ШКФ та діурезу ($p<0,05$).

На моделі міоглобінуричного ГУН нефропротекторна активність виявлялась за рахунок достовірного зниження вмісту креатиніну в плазмі крові майже в 2 рази ($p<0,001$), підвищення ШКФ в 2 рази ($p<0,05$) та реабсорбції води в 1,1 разу ($p<0,001$), зниження рівня протеїнурії в 1,3 разу відносно групи модельної патології. Під впливом настою збору № 3 на моделі гентаміцинової нефропатії зменшувалась протеїнурія в 1,4 разу, рівень креатиніну та сечовини в плазмі крові в 1,3 разу та 1,2 разу відповідно та ризик розвитку гіпокаліємії (5,14±0,78 ммоль/л протии 4,19±0,28 ммоль/л) відносно групи модельної патології. Незначна нефропротекторна активність настою збору № 3 виявлялась на моделі ішемічного ГУН за рахунок попередження розвитку анурії за умов водного діурезу та поліурії за умов спонтанного діурезу, зменшення рівня протеїнурії в 1,5 разу за умов водного діурезу та 1,6 разу за умов спонтанного діурезу, зменшення рівня креатиніну в плазмі крові в 1,3 разу за умов водного навантаження та 1,7 разу за умов спонтанного діурезу відносно групи модельної патології. Нефропротекторна активність підтверджена гістологічними дослідженнями, що проявлялося в зменшенні структурних змін в тубулярній структурі звивистих канальців кіркових нефронів та збільшенні інтактних у структурному плані ділянок кори на моделі гентаміцинової нефропатії та послабленні патологічних змін ниркової паренхіми, зменшенні необоротних порушень нефротелію при ішемічному ГУН. Настій збору № 3 в дозі 10 мл/кг за виразністю нефропротекторного впливу не поступався або перевершував препарат порівняння Хофітол.

Доповнено наукові дані щодо фармакодинамічних ефектів настою збору № 3. Доведено антиоксидантну дію настою збору № 3, що реалізувалася за рахунок зменшення рівня ТБК-реактантів у плазмі крові ($p<0,005$) та підвищення активності КАТ у гомогенаті нирок ($p<0,05$) у порівнянні з групою модельної патології. Настій збору № 3 збільшував вміст протизапальних та зменшував концентрацію прозапальних цитокінів плазми крові у щурів із гліцероловим ГУН; виявляв антиексудативну дію на моделі карагенінового набряку лапи у шурів, що свідчить про протизапальну активність досліджуваного збору. Середня антиексудативна активність настою збору № 3 у дозі 20 мл/кг не поступалася активності препарату порівняння натрію диклофенаку (41 % і 52 % відповідно). Встановлено антимікробну дію настою збору № 3 на грампозитивну флору (*S. Epidermidis, B. cereus, Corynebacterium spp.)* та гриби роду *Candida spp.*

Встановлено, що відповідно до класифікації токсичності речовин, настій (1:10) збору-лідера при внутрішньошлунковому введенні належить до VI класу токсичності – відносно нешкідливих речовин (LD_{50} > 15000 мг/кг).

Практичне значення отриманих результатів. Одержані дані обґрунтовують доцільність використання нового рослинного збору з діуретичною і нефропротекторною активністю для профілактики та у комплексному лікуванні захворювань нирок і сечовидільних шляхів, які супроводжуються зменшенням видільної функції нирок.

За матеріалами дисертаційної роботи запропоновано новий збір лікарських рослин з діуретичною і нефропротекторною активністю з метою профілактики та комплексного лікування захворювань нирок (патент України на корисну модель № 109891, 2016 р. та інформаційний лист МОЗ України № 41-2018, 2017 р.).

Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес на кафедрі фармакології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова (протокол № 8 від 05.02.2019 р.), кафедрі фармакології Національного медичного університету ім. О. О. Богомольця (м. Київ) (протокол № 23 від 20.05.2019 р.), кафедрі фармакології Івано-Франківського національного медичного університету (протокол № 6 від 11.01.2019 р.), кафедрі фармації ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я.Горбачевського МОЗ України» (протокол № 1 від 29.01.2019 р.), кафедрі фармакогнозії, фармакології і ботаніки Запорізького державного медичного університету (протокол № 2 від 10.01.2019 р.).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою працею. Автором особисто здійснено патентно-інформаційний пошук, проведено аналіз даних літератури за темою дисертації, особисто виконані експериментальні дослідження, проведена статистична обробка й аналіз отриманих результатів, оформлення їх у вигляді таблиць, графіків і діаграм, сформульовані висновки дисертації.

У наукових працях, опублікованих у співавторстві, дисертантом наведені результати власних експериментальних досліджень, взято участь в аналізі та узагальненні отриманих даних, у написанні статей. Співавторами наукових праць є науковий керівник С. М. Марчишин та науковці, спільно з якими проведено деякі дослідження – О. О. Койро, С. С. Наконечна, Н. І. Ткачук, Г. Р. Козир, Н. С. Чорна, О. Л. Демидяк.

Постановка мети, завдань та методології проведення досліджень, обговорення результатів проведені разом із науковим керівником. Гістологічні дослідження проведено на базі Національного фармацевтичного університету МОЗ України (м. Харків) за участю та консультативної допомоги к. біол. наук, ст. наукового співробітника ЦНДЛ Ю. Б. Лар'яновської. Мікробіологічні дослідження проведені на базі лабораторії мікробіологічних та паразитологічних досліджень ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І. Я. Горбачевського МОЗ України» за участю та під керівництвом к. мед. наук, доцента Н. І. Ткачук. Дисертант вдячний усім науковцям за консультативну та практичну допомогу.

Апробація матеріалів дисертації. Основні положення дисертаційної роботи були викладені і обговорені на XIX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених присвяченій пам'яті ректора член-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука (м. Тернопіль, 27–29 квітня 2015 р.); підсумковій науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвяченій пам'яті ректора члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука (м. Тернопіль 17 червня 2015 р.); IV Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Хімія природних сполук» (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.); XX Міжнародному медичному конгресі студентів та молодих вчених (м. Тернопіль, 25–27 квітня 2016 р.); VIII Національному з'їзді фармацевтів України «Фармація XXI століття: тенденції та перспективи» (м. Харків,13-16 вересня 2016 р.); VI науково-практичній конференції з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів» (м. Тернопіль, 10-11 листопада 2016 р.); 87 науково-практичній конференції студентів та молодих вчених із міжнародною участю «Інновації в медицині» (м. Івано-Франківськ, 22-23 березня 2018 р.); підсумковій LXI науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини» (м. Тернопіль, 7 червня 2018 р.).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 17 наукових робіт: 7 статей у фахових виданнях МОН України, у тому числі 2 статті у фаховому закордонному виданні , 1 інформаційний лист та 8 тез доповідей. Одержано 1 патент України на корисну модель.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 228 сторінках машинописного тексту, складається з анотацій, вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, трьох розділів власних досліджень, розділу «Аналіз та узагальнення результатів», висновків, списку використаних джерел та додатків. Обсяг основного тексту дисертації складає 153 сторінки друкованого тексту. Робота ілюстрована 35 таблицями та 38 рисунками. Список використаних джерел містить 330 найменувань, з них 202 кирилицею та 128 латиницею.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Матеріалом для досліджень було обрано 3 оригінальні збори діуретичні, які запропоновані Є. С. Товстухою (Є. С. Товстуха, 2010) та С. М. Марчишин (С. М. Марчишин, Н. О. Сушко, 2007).

Збір № 1: квітки ромашки (80,0), кореневища і корені оману, насіння льону, корені вовчуга (по 60,0), трава хвоща польового, квітки нагідок (по 50,0).

Збір № 2: плоди петрушки, трава золотушника (по 100,0), плоди ялівцю, корені вовчуга, корені солодки, квітки нагідок (по 50,0).

Збір № 3: трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, кореневища і корені пирію (по 25,0), квітки цмину (20,0).

Компоненти запропонованих зборів були зібрані на території Тернопільської області протягом 2015 р., листя мучниці – на території Карпат.

Фітохімічні дослідження. З метою визначення доброякісності лікарської рослинної сировини визначали її числові показники: втрату в масі при висушуванні, загальну золу та золу, не розчинну в кислоті хлористоводневій (ДФУ. 2.0).

Кількісний вміст кислот аскорбінової та органічних визначали методами титриметрії, суми фенольних сполук, суми кислот гідроксикоричних та суми флавоноїдів – спектрофотометричним методом (ДФУ 2.0; С. М. Марчишин та співавт., 2017), окиснюваних фенолів – перманганатометричним титруванням (ДФ СРСРХІ), кислот жирних та органічних – методом ГХ/МС (М. М. Кучер, І. Й. Галькевич, 2011), ідентифікацію сполук фенольної природи – методом ВЕРХ на хроматографі Agilent 1200 3 D LC System Technologies (США) (С. М. Марчишин, С. С. Козачок, 2013); макро- та мікроелементів – атомно-абсорбційної спектрофотометрії (А. И. Ермаков и соавт., 1987), вуглеводів – гравіметричним методом, якісний склад моноцукрів і сахарози – ГХ/МС (L. Husak et al., 2018; I. Chen et al., 2009; E. A. Gunter, 2001). Дослідження якісного та кількісного складу загального вмісту та вмісту вільних амінокислот у досліджуваному об’єкті здійснювали за допомогою ВЕРХ аналізу на хроматографі фірми Agilent Technologies (модель 1100) (A. Jámbor, I. Molnár-Perl, 2009).

Фармакологічні дослідження виконано відповідно до рекомендацій ДЕЦ МОЗ України «Доклінічні дослідження лікарських засобів» (за редакцією О. В. Стефанов, 2001) на 54 білих лінійних щурах самцях, 89 щурах самках та 89 мишах самцях, отриманих з розплідника віварію ЦНДЛ ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України» (посвідчення № 053/13 від 04.03.2013 р.; чинне до 03.03.2018 р.) та ЦНДЛ НФаУ (посвідчення № 058/15 від 08.12.2015 р.; чинне до 07.12.2019 р.).

У фармакологічних експериментах досліджувані збори застосовували внутрішньошлунково (в/ш) у вигляді водного настою 1:10. На етапі скринінгових досліджень настої досліджуваних зборів вводили в дозах 5 мл/кг, 10 мл/кг та 20 мл/кг. За результатами досліджень встановлено умовно-ефективну дозу збору-лідера (збору № 3), яка становила 10 мл/кг, яку використали в подальших дослідженнях. У дослідах з вивчення діуретичної дії та нефропротекторних властивостей на моделі міоглобінуричного ГУН, настій збору № 3 вводили в дозах 5 мл/кг та 10 мл/кг. Як препарат порівняння використовували настій фіточаю Урофлокс (Урофлокс чай по 1.5 г № 25 у філ.-пак., ТОВ «Тернофарм», м. Тернопіль, Україна) такого складу: квітки бузини чорної, трава звіробою, квітки липи, листя мучниці, трава хвоща польового (по 0,3 г). У дослідах із вивчення стану видільної функції нирок (ВФН) за гентаміцинової нефропатії та ішемічного ГУН, а також у дослідженнях з вивчення антиоксидантної дії та впливу на рівень про- та протизапальних цитокінів, настій збору № 3 вводили в дозах 5 мл/кг та 10 мл/кг. Як препарат рослинного походження із експериментально доведеною ефективністю на моделях етиленгліколевого та міоглобінуричного ГУН використовували референс-препарат сухий водний

екстракт листя артишоку польового (Хофітол табл. в/о, 200мг «Laboratories Rosa-Phytopharma», Франція), який вводили в/ш у дозі 100 мг/кг (О. В. Товчига, 2009).

Дослідження протизапальної дії на моделі карагенінового набряку проводили у порівнянні з натрію диклофенаком (Ортофен-ЗТ табл. в/о, 25мг ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров‘я», м. Харків, Україна,) у дозі 8 мг/кг в/ш (О. В. Стефанов, 2001).

Фармакологічний скринінг рослинних зборів проводили на інтактних тваринах, стан ВФН та умовно-ефективну дозу збору № 3оцінювали за умов спонтанного добового та/або водного діурезу (внутрішньошлункового введення питної води в об’ємі 3 % (щурі) або 5% (миші) від маси тіла тварини) з наступним забором сечі протягом 2-ох год (О. В. Стефанов, 2001; С. Ю. Штрыголь, 2007; С. Ю. Штриголь та співавт., 2008).

Гліцеролове (міоглобінуричне, рабдоміолітичне) ГУН викликали одноразовим внутрішньом’язовим введенням 50 % водного розчину гліцеролу (Гліцерин дистильований, АТ «Галичфарм», Україна) на ізотонічному розчині натрію хлориду з розрахунку 8 мл/кг маси (у дослідах на мишах) або у дозі 10 мл/кг (у дослідах на щурах) (О. В. Стефанов, 2001; С. Ю. Штриголь та співавт., 2009).

Гентаміцинову нефропатію спричиняли внутрішньом’язовим введенням один раз на день 4 % розчину гентаміцину сульфату (Гентаміцину сульфат, р-н д/ін., 40 мг/мл АТ «Галичфарм», Україна) у дозі 80 мг/кг протягом тижня (С. Ю. Штриголь та співавт., 2009).

Ішемічне ГУН у наркотизованих щурів відтворювали після серединної лапаратомії. На ниркові ніжки обох нирок накладали затискачі, після 75 хв ішемії відновлювали кровообіг та пошарово ушивали черевну порожнину. Через 24 год від початку реперфузії оцінювали стан ВФН за умов індукованого та спонтанного діурезу (С. Ю. Штриголь та співавт., 2009).

При вивченні нефротропних ефектів для біохімічних досліджень використовували сечу, сироватку або плазму крові (антикоагулянт – гепарин *in vitro*). Вміст креатиніну, сечовини в сечі та плазмі крові визначали за допомогою тест-набору реактивів ПрАТ «Реагент» (Україна), іонів натрію та калію – методом фотометрії полум’я на аналізаторі рідин ПАЖ-3 (В. С. Камышников, 2016), концентрацію білка в сечі визначали за утворенням колоїдної муті з сульфосаліловою кислотою (В. С. Камышников, 2009).

Залежно від серії досліду розраховували такі показники: ШКФ за ендогенним креатиніном, фільтраційний заряд натрію, реабсорбцію натрію та води, екскрецію креатиніну (Е. И. Берхин, Ю. И. Иванов, 1972).

Екскрецію сечовини, калію, натрію та білка визначали аналогічно екскреції креатиніну. В окремих серіях дослідів за відсутності нефропатії, коли концентрація креатиніну в крові є відносно стабільною, ниркову екскрецію креатиніну використовували як показник ШКФ. Крім того, розраховували кліренс сечовини та коефіцієнти калій/натрій сироватки крові та сечі (С. И. Рябов, Ю. В. Наточин, 1997; С. Ю. Штрыголь, 2007).

Гостру токсичність (LD_{50}) збору № 3 вивчали відповідно до рекомендацій ДЕЦ МОЗ України методом (О. В. Стефанов, 2001) у порівнянні з рослинним збором Урофлокс. Критеріями оцінки гострої токсичності була клінічна картина інтоксикації: загибель тварин, їх загальний стан, зміни маси тіла (Г. І. Мельник, 2011). Клас токсичності визначали за класифікацією H. C. Hodge, L. H. Sterner (1943).

Антиоксидантно-прооксидантний баланс вивчали за умов гліцерол-індукованого ГУН у щурів. У плазмі крові (антикоагулянт – гепарин *in vitro*) та гомогенаті нирок визначали вміст ТБК-реактантів; у нирках – активність КАТ, СОД. Вміст ТБК-реактантів вимірювали згідно (И. Д. Стальная, Т. Г. Гаришвили, 1977), активність КАТ – згідно (М. А. Королюк, 1988), активність СОД визначали за модифікованим методом (Т. В. Сирота, 1999).

Крім того, визначали вміст у сироватці крові цитокінів IL-1(набір реагентів «Интерлейкин-1-бета-ИФА-БЕСТ») та IL-10 (набір реагентів «Интерлейкин-10-ИФА-БЕСТ») імуноферментним методом, розраховували співвідношення між про- та протизапальними цитокінами. Вимірювання проводили на базі Харківського національного медичного університету на імуноферментному аналізаторі FaxStart (США) за консультативної допомоги к. біол. н. Т. В. Горбач.

Мембраностабілізувальну активність встановлювали за впливом настою збору № 3 в дозі 10 мл/кг та препарату порівняння Хофітол на осмотичну резистентність еритроцитів (А. Я. Альтгаузен, 1959) після курсового (6 днів) введення препаратів у інтактних щурів, а також на тлі гліцерол-індукованого ГУН (7-й день експерименту), яку моделювали, як зазначено вище.

Вивчення протизапальної дії проводили на моделі гострого асептичного запалення, яке відтворювали введенням 0,1 мл 1 % розчину карагеніну (О. В. Стефанов, 2001). Настій збору № 3 вводили внутрішньошлунково у профілактичному режимі протягом 5 діб у дозах 5 мл/кг, 10 мл/кг і 20 мл/кг один раз на добу. Востаннє настій вводили за 1 год до ін'єкції флогогену. Вимірювання величини набряку лапи у щурів проводили у динаміці: 1, 2, 3, 4 та 5 год після введення карагеніну.

Дослідження морфологічної структури нирок проводили на наступну добу після останнього введення 4 % розчину гентаміцину сульфату (гентаміцинова нефропатія) та на 4 добу після моделювання ішемічно-реперфузійного (I/P) ушкодження нирок за допомогою стандартних методів світлової мікроскопії (Г. А. Меркулов, 1969). Використовували світловий мікроскоп Granum, фотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Toup View.

Антимікробну активність збору вивчали диско-дифузійним методом та методом серійних розведень на базі лабораторії мікробіології та паразитології ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України» (В. В. Пуль та співавт., 2014; І. О. Ситник і співавт., 2009). Як тест-культури були вибрані музейні штами *Escherichia coli* АТСС 25922, *Pseudomonas aeruginosa* АТСС 27853, *Klebsiella pheumoniae*

ATCC 13883, *Bacillus cereus* NCTC 74, *Corynebacterium spp.* ATCC 373, *Candida albicans* ATCC 885/653, *Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990.

Результати обробляли методами варіаційної статистики за допомогою стандартного пакету статистичних програм «Statistica v. 6,0» із розрахунком середнього значення, стандартної похибки, рівень довіри (p). Достовірність міжгрупових відмінностей визначали за допомогою параметричного t-критерію Ст'юдента (при нормальному розподілі), непараметричного U-критерію Манна-Уітні (при відсутності нормального розподілу) при рівні значущості $p<0,05$. Мультигрупові відмінності аналізували за H-критерієм Краскела-Уоліса. Закономірності зв'язку між окремими показниками аналізували за коефіцієнтом кореляції Спірмена. При обліку результатів у альтернативній формі використовували кутове перетворення Фішера (А. А. Халафян, 2007).

Результати та їх обговорення. Результати фітохімічних досліджень показали, що збір-лідер (збір № 3) містить різноманітні БАР – органічні кислоти, амінокислоти, сполуки фенольної природи (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини, кумарини), полісахариди, моноцукри, жирні кислоти, а також макро- і мікроелементи.

Вміст аскорбінової кислоти у зборі № 3 становив 0,07 %, органічних кислот – 0,45 %, флавоноїдів – 1,02 %, окиснюваних фенолів – 3,60 %, кислот гідроксикоричних – 3,75 %, водорозчинних полісахаридів – 7,87 %, пектинових речовин – 11,88 %. Встановлено наявність 16 зв'язаних і вільних амінокислот; 3 ненасичені жирні кислоти – лінолеву, ліноленову та олеїнову; моносахаридів (глюкози і фруктози), дисахариду – сахарози.

Визначено та встановлено кількісний вміст індивідуальних сполук фенольної природи: складових дубильних речовин (галокатехін, епігалокатехін, катехін, епікатехін, катехін галат, епікатехін галат), вільної галової кислоти; флавоноїдів (рутин, гіперозид, кверцетин-3-глюкозид, лютеонін, апігенін); кислот гідроксикоричних (хлорогенова, розмаринова, ферулова), кумаринів (умбеліферон, скополетин, кумарин). У досліджуваному зборі ідентифіковано та встановлено кількісний вміст 5 макроелементів (Ca, K, Mg, P, Na,) та 6 мікроелементів (Mn, Fe, Cu, Zn, Cd, Se), не виявлено хрому (Cr).

Стандартизацію збору-лідера проведено за вмістом сполук фенольної природи (кислот гідроксикоричних – не менше 3 %; окиснюваних фенолів – не менше 3 %; флавоноїдів – не менше 1,02 %).

Під час проведення першого етапу – скринінгового фармакологічного дослідження діуретичної активності настоїв трьох зборів (№ 1, 2 і 3) – встановлено, що збори № 1 і № 2 виявили виразний антидіуретичний ефект (особливо в дозах 5 і 20 мл/кг). Вони зменшували гідроурез і лише збір № 2 у дозі 20 мл/кг статистично достовірно знижував натрійурез і калійурез без впливу на натрій-калієвий коефіцієнт сечі. Механізм пригнічення видільної функції нирок зумовлено посиленням канальцевої реабсорбції, оскільки екскреція креатиніну не зазнала достовірних змін. Такий ефект може бути зумовлений посиленням транспорту води, залежного від антидіуретичного гормону (И. Е.Тареева, 2000; Л. А.Пиріг та співавт., 2014).

Настій збору № 3 виявив дозозалежні сечогінні властивості. Доза 5 мл/кг настою даного збору була неефективною. Максимальне збільшення діурезу (в 1,43 разу) спостерігалось у дозі 10 мл/кг, яка також посилювала екскрецію натрію (але не калію) та збільшувала натрій-калієвий коефіцієнт сечі в 6,5 разу, що свідчить про послаблення мінералокортикоїдного контролю видільної функції нирок. Механізм сечогінного ефекту полягав у посиленні клубочкової фільтрації, про що свідчить зростання екскреції креатиніну (И. Е.Тареева, 2000; Л. А.Пиріг та співавт., 2014), що відрізняє фармакологічний ефект збору № 3 від ефекту препарату порівняння Урофлокс. Подальше збільшення дози настою збору № 3 до 20 мл/кг супроводжувалось зменшенням сечогінних властивостей. Отже, умовно ефективною можна вважати дозу збору № 3 10 мл/кг, яку використано для подальшого розширеного дослідження.

При курсовому введенні настою збору-лідера протягом 5 днів його сечогінний ефект був нестабільним; діурез не відрізнявся від такого в інтактних тварин. На тлі введення досліджуваного збору спостерігали зменшення екскреції натрію і калію у 2,6 разу у порівнянні з групою тварин інтактного контролю ($p<0,001$), практично не змінювався натрій-калієвий коефіцієнт сечі. Були відсутні достовірні міжгрупові відмінності в екскреції креатиніну. Ймовірно, зникнення діуретичного ефекту за курсового введення пов’язане з компенсаційним підвищенням реабсорбції натрію та води на тлі сталої ШКФ (И. Е.Тареева, 2000; Л. А.Пиріг та співавт., 2014).

Встановлено, що за показником гострої токсичності збір № 3 не відрізнявся від референс-препарату Урофлоксу і відноситься до VI класу токсичності за класифікацією H. C. Hodge, L. H. Sterner, (1943) – відносно нешкідливі речовини, LD_{50} > 15000 мг/кг.

На моделі міоглобінуричного ГУН настій збору № 3 виявив гіпоазотемічні властивості. Вміст креатиніну в плазмі крові зменшився під його впливом майже у 2 рази і становив 52,5 мкмоль/л, під впливом Урофлоксу – в 1,3 разу. Досліджуваний збір, на відміну від Урофлоксу, протидіяв збільшенню протеїнурії та натрійурезу, що є прогностично сприятливою ознакою перебігу ГУН. У мишей, які отримували настій збору № 3, зменшувався натрій-калієвий коефіцієнт сечі, що пов’язано зі зниженням ниркової екскреції калію.

На моделі міоглобінуричного ГУН настій збору № 3 забезпечував збереження ШКФ та концентраційну функцію канальців відносно групи інтактних тварин ($p<0,05$), зменшував рівень креатиніну в плазмі крові до рівня інтактних тварин, сприяв зменшенню коефіцієнта маси нирок, тому його можна вважати перспективним нефропротекторним засобом.

Була обрана модель гентаміцинової нефропатії, оскільки відомо, що антибіотики групи аміноглікозидів посідають провідне місце серед лікарських препаратів, які викликають гострий канальцевий некроз (J.F.P Oliveira et al., 2006) Настій збору № 3 знижував протеїнурію, не поступаючись за ефективністю препарату порівняння Хофітол (рис. 1), зменшуючи вміст білка в сечі в 1,4 разу. У дозі 10 мл/кг він протидіяв зростанню ретенційної азотемії: концентрація креатиніну й сечовини в сироватці крові тварин достовірно не

відрізнялась від такої в групі інтактного контролю. На тлі застосування настою збору № 3 екскреція сечовини мала тенденцію до зменшення порівняно з показниками інтактних тварин, а кліренс сечовини знижувався ($p<0,05$). Це може свідчити про залучення позаниркових механізмів подолання гіперазотемії.

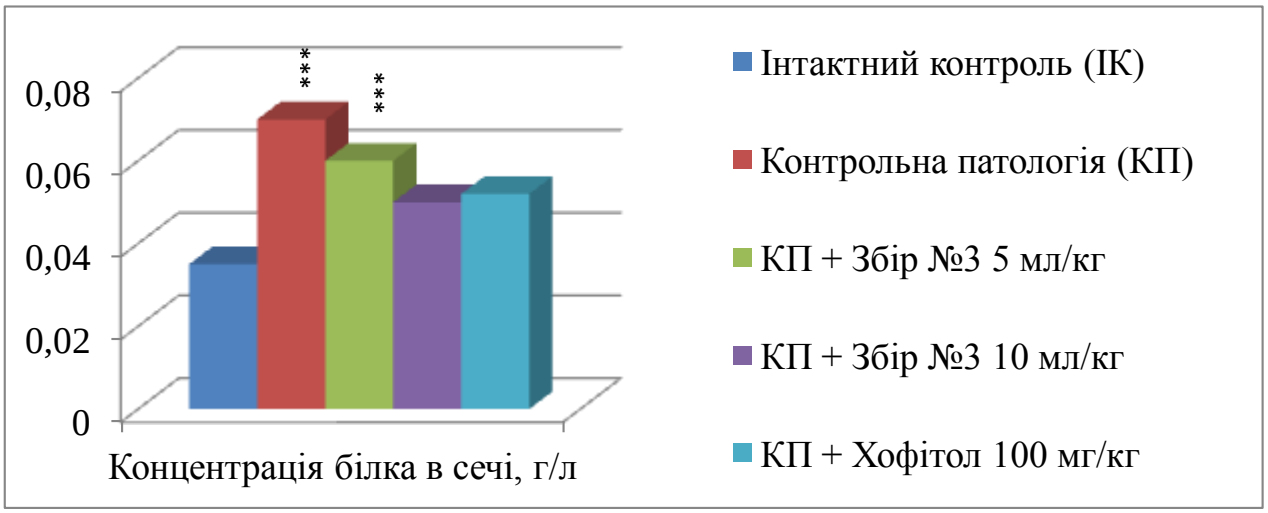

Рис. 1 Вплив настою збору № 3 та Хофітолу на вміст білка в сечі у щурів із гентаміциновою нефропатією за умов водного діурезу.

Примітка. Достовірні відмінності з групою інтактного контролю – *** ($p<0,005$); n= 6-7 тварин у кожній групі

Настій збору № 3 нормалізував концентрацію калію в крові – 5,08±0,46 ммоль/л на тлі дози 5 мл/кг, 5,14±0,78 ммоль/л на тлі дози 10 мл/кг, вплив Хофітолу на каліємію був менш виразним (4,78±0,60 ммоль/л) порівняно з показниками інтактних тварин 5,3±0,38 ммоль/л. Це може бути пов'язано з вмістом калію та магнію у рослинах, які входять до складу збору (В. С. Кисличенко та співавт., 2015). Вміст натрію у сироватці крові був зіставлюваним у всіх групах тварин, натрій/калієвий коефіцієнт також не зазнавав значущих змін.

Отже, настій збору № 3 за умов гентаміцин-індукованої нефропатії чинив нефропротекторну дію, до якої залучено діуретичні та гіпоазотемічні властивості (S. Marchyshyn et al., 2018).

Гістологічні дослідження показали, що настій збору № 3 у дозах 5 мл/кг і 10 мл/кг запобігає гентаміцин-індукованій нефротоксичності: зменшуються структурні зміни у тубулярній структурі звивистих канальців кіркових нефронів, збільшуються структурно інтактні ділянки кори нирок. Збір № 3 в обох дозах покращував морфометричні показники стану кори нирок, але в дозі 10 мл/кг ці позитивні зміни ефективніші (рис. 2).

На моделі ішемічного ГУН настій збору № 3 дозозалежно знижував летальність тварин. Виживаність в групі модельної патології склала 76,9 %, на тлі настою збору в дозі 5 мл/кг та 10 мл/кг відповідно – 87,5 % та 100%, в групі Хофітолу – 85,7 %. Настій досліджуваного збору ($p<0,005$) та Хофітол ($p<0,01$)

ефективно запобігали падінню ШКФ та реабсорбції води в навантажувальному тесті (рис. 3).

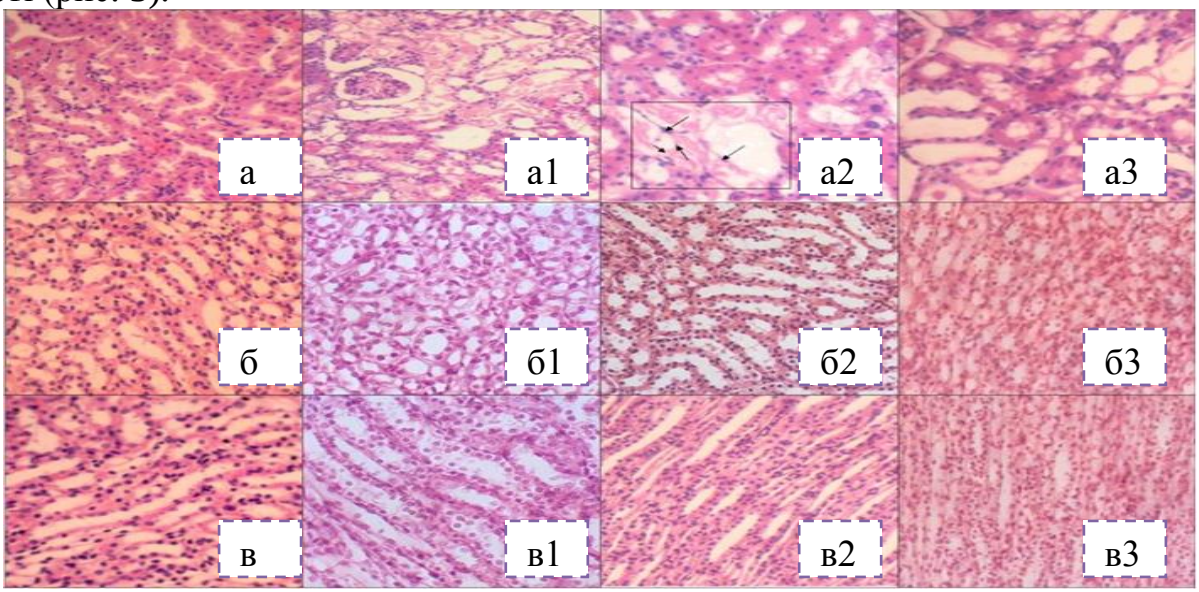

Рис. 2 Мікропрепарат нирки щура із гентаміциновою нефропатією (забарвлення гематоксилін-еозином ×200)

Нирковий клубочок та звивисті частини канальців нефронів інтактної тварини (а), модельної патології (а1), застосування настою збору № 3 10 мл/кг (стрілки – метафаза мітозу в епітеліальній клітині), (а2), застосування препарату порівняння Хофітол 100 мг/кг (а3). Прямі канальці мозкового шару інтактної тварини (б), модельної патології (б1), застосування настою збору № 3 10 мл/кг (б2), застосування препарату порівняння Хофітол 100 мг/кг (б3). Епітелій збиральних трубочок ниркового сосочку інтактної тварини (в), модельної патології (в1), застосування настою збору № 3 10 мл/кг (в2), застосування препарату порівняння Хофітол 100 мг/кг (в3).

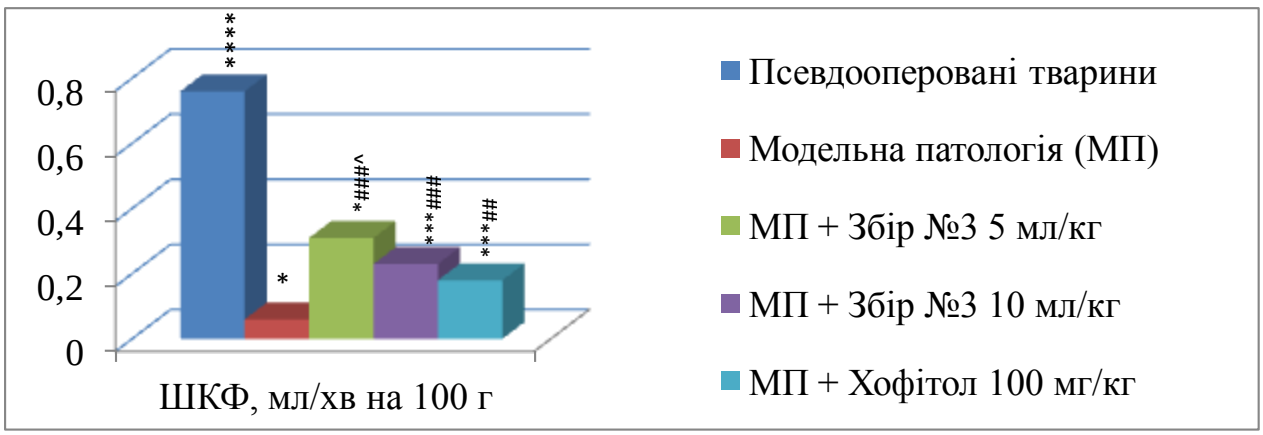

Рис. 3 Вплив настою збору № 3 на ШКФ у щурів із ішемічним ГУН за умов водного діурезу (перша доба)

Примітка. Достовірні відмінності: з групою контролю –* ($p<0,05$), *** ($p<0,005$), **** ($p<0,001$); з групою модельної патології – # ($p<0,05$), ## ($p<0,01$), ### ($p<0,005$); з групою Хофітолу, 100 мг/кг – ^ ($p<0,05$); n =6-10 тварин в кожній групі

Хоча препарати повною мірою не нормалізували ці показники, зменшувалася частота випадків олігурії, об'єм сечовиділення на тлі їх застосування не відрізнявся від показників псевдооперованих тварин. Настій збору № 3 в дозі 10 мл/кг, як і Хофітол, за умов водного діурезу зменшував екскрецію білка з сечею у 1,6 і 1,7 разу порівняно з модельною патологією ($p<0,05$).

За умов спонтанного діурезу в поліуричній фазі ГУН (протягом другої-третьої доби) у групі модельної патології реєструвалася виразна поліурія, зумовлена падінням канальцевої реабсорбції води. ШКФ дещо знижувалася, проте достовірно не відрізнялася від такої у псевдооперованих тварин. Аналогічно збільшувався об'єм сечовиділення на тлі настою збору № 3 та у тварин, які отримували Хофітол. Поліурія за виразністю не відрізнялася від такої у тварин групи модельної патології. Найменшою вона була у щурів, які отримували настій у дозі 10 мл/кг, що, ймовірно, пов'язано з інтенсивнішою реабсорбцією води на тлі відновленої до фізіологічного рівня ШКФ (табл. 1).

Таблиця 1

Вплив настою збору №3 та Хофітолу на видільну функцію нирок у щурів із ішемічним ГУН (друга–третя доба) за умов спонтанного діурезу (M±m)

Умови досліду, препарати	Контроль – псевдо-оперовані щурі (n=8)	Модельна патологія (n=10)	ГУН + настій збору №3, 5 мл/кг (n=7)	ГУН + настій збору №3, 10 мл/кг (n=6)	ГУН + Хофітол 100 мг/кг (n=6)
Діурез, мл/100 г за добу	2,33±0,47	7,33± 1,31***	9,55± 1,73***	6,09± 1,19**	6,77± 2,47*
ШКФ, мл/хв на 100 г	0,36±0,05	0,27±0,05	0,30±0,03	0,39± 0,05$^{\#\wedge}$	0,27± 0,02
Фільтраційний заряд Na^+, мкмоль/хв на 100 г	57,7±6,9	51,5±7,2	48,0±2,4	57,8±6,9$^{\wedge}$	40,3± 2,4
Реабсорбція Na^+, %	99,8±0,06	99,9±0,02	99,8±0,15	99,9±0,1	99,9±0,02
Реабсорбція води, %	99,6±0,1	97,0± 1,0***	97,6± 0,8***	98,9±0,2**	98,2± 0,7***

Примітка. Достовірні відмінності: з групою контролю – * ($p<0,05$), ** ($p<0,01$), *** ($p<0,005$); з групою модельної патології – $^{\#}$ ($p<0,05$); з групою Хофітолу, 100 мг/кг – $^{\wedge}$ ($p<0,05$); ГУН – гостре ушкодження нирок; n – кількість тварин у групі.

На моделі ішемічного ГУН захисна дія настою збору № 3 була досить слабкою. Він дозозалежно запобігав анурії, нормалізував парціальні функції нирок, чинив помірну антипротеїнуричну та гіпоазотемічну дію в олігуричну

фазу ГУН. Вплив препарату на поліурію при спонтанному сечовиділенні був невиразним.

Протягом експерименту в усіх групах тварин з ішемічним ГУН реєстрували накопичення в крові продуктів білкового обміну – креатиніну та сечовини. Настій збору № 3 і референс-препарат Хофітол виявляли гіпоазотемічну активість, яка була більш виразнішою при застосуванні досліджуваного збору в дозі 10 мл/кг ($p<0,05$). На третю добу концентрація креатиніну в сироватці крові становила 82,6±10,4 мкмоль/л, а сечовини – 14,8±2,5 ммоль/л проти 138,4±17,7 мкмоль/л та 19,7±5,6 ммоль/л відповідно у тварин групи модельної патології (рис. 4).

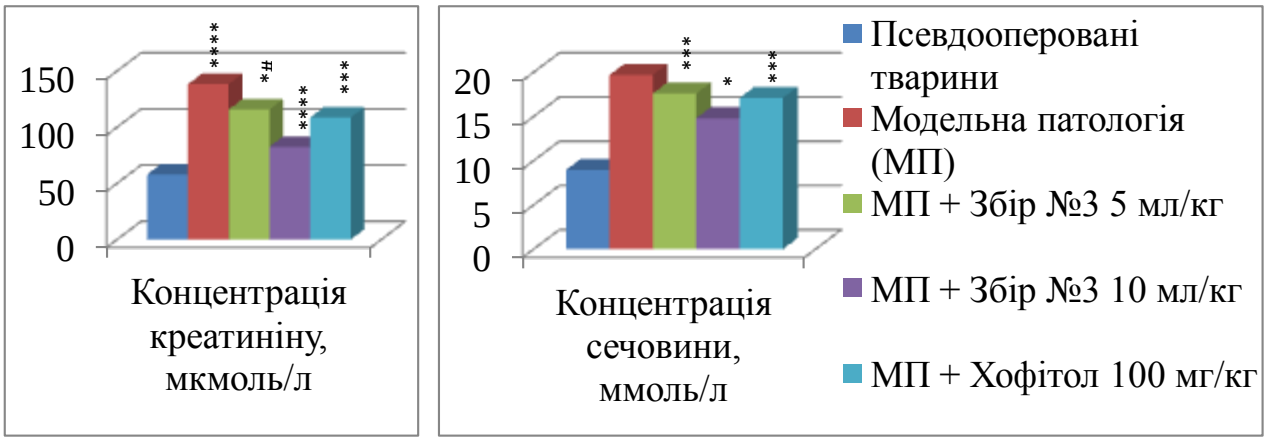

Рис. 4 Вплив настою збору № 3 та Хофітолу на концентрацію креатиніну і сечовини в сироватці крові щурів із ішемічним ГУН (на третю добу)

Примітка. Достовірні відмінності: з групою контролю – *($p<0,05$), ***($p<0,005$), **** ($p<0,001$); з групою модельної патології – # ($p<0,05$); n=6-8 тварин в кожній групі

Таким чином, на жорсткій моделі ішемії-реперфузії нирок настій збору № 3 чинив дозозалежну нефропротекторну дію, перевершуючи Хофітол за деякими показниками – концентрація креатиніну на першу добу склала 158,6±32,7 мкмоль/л ($p<0,001$) і 182,9±22,5 мкмоль/л ($p<0,001$) відповідно проти 55,5±4,1 мкмоль/л у групі псевдооперованих щурів; на другу-третю добу – 82,6±10,4 мкмоль/л ($p<0,05$) і 108,8±10,6 мкмоль/л($p<0,005$) проти 58,2±5,2 мкмоль/л у групі псевдооперованих тварин.

При гістологічному дослідженні встановлено, що настій досліджуваного збору у дозі 5 мл/кг вірогідно не впливав на виразність некротичних змін нефроцитів звивистих (кіркових) і прямих (мозкового шару) канальців. Проте відмічено вірогідне зменшення проявів вакуольної дистрофії епітелію прямих канальців та збільшення виразності сплощення клітин. У дозі 10 мл/кг досліджуваний збір вірогідно знижував некроз нефротелію в обох шарах нирок і збільшував прояви вакуольної дистрофії (у корі – невірогідно) та сплощення епітелію канальців. Отже, настій збору № 3 у дозі 10 мл/кг зменшував необоротні порушення нефротелію.

До реалізації нефропротекторних властивостей настою збору № 3 може долучатися протизапальна активність БАР. Результати дослідження показали,

що вищу антиексудативну дію настій збору № 3 виявив у дозі 20 мл/кг. Ефект зберігався протягом усього терміну спостереження і дорівнював у середньому 41 %. Середнє значення антиексудативної активності препарату порівняння диклофенаку натрію за 5 годин дорівнювало 52 % (рис. 5).

З метою вивчення можливих механізмів нефропротекторної дії настою збору № 3 досліджено його вплив на вміст про- та протизапальних цитокінів у плазмі крові щурів з гліцероловим ГУН. Імуноферментним методом визначали в плазмі крові рівень IL-1β та IL-10. Вміст IL-1β у тварин групи модельної патології складав 54,0±0,5 нг/мл проти 50,8±0,5 нг/мл у інтактних щурів ($p<0,005$). Сприятливий вплив настою збору № 3 у дозі 10 мл/кг та Хофітолу на перебіг патологічного процесу підтверджується зменшенням вмісту в плазмі крові IL-1β до 38,2±0,3 нг/мл та 42,4±0,5 нг/мл відповідно. У тварин, які отримували настій збору № 3 та Хофітол, вміст IL-10 зростав у 3,8 разу та 5 разів відповідно порівняно із цим показником в інтактних тварин, тимчасом як у тварин групи модельної патології його концентрація зростала лише в 1,5 разу. Отже, настій збору-лідера та Хофітол збільшують вміст протизапальних та зменшують концентрацію прозапальних цитокінів плазми крові у щурів із гліцероловим ГУН, що може брати участь у механізмі нефропротекторної активності.

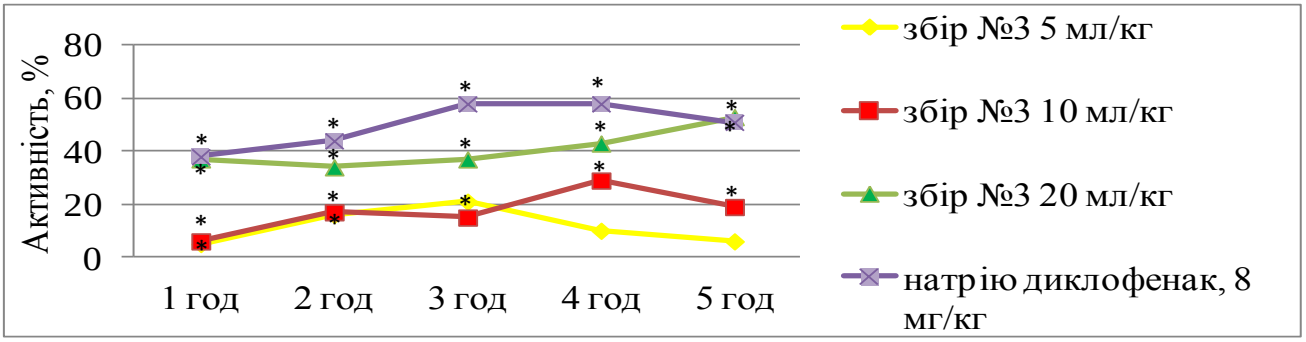

Рис. 5 Антиексудативна активність збору № 3 на моделі карагенінового набряку у щурів

Примітка. Метод Крускала-Уоліса та критерій Мана-Уітні; * – відхилення вірогідні щодо значень групи КП, при $p<0,05$; n=6 – кількість тварин в групі

При дослідженні антиоксидантної дії досліджуваного збору встановлено, що під впливом настою збору № 3 на моделі гліцерол-індукованого ГУН на тлі нормалізації коефіцієнтів маси нирок та печінки знижувався вміст ТБК-реактантів у плазмі крові на 23 % ($p<0,05$), підвищувалася активність КАТ у гомогенаті нирок на 44 % ($p<0,05$) у порівнянні з групою тварин модельної патології. Дані показники не поступалися або перевершували аналогічні у препарату порівняння Хофітол у дозі 100 мг/кг.

Настій збору № 3 і препарат порівняння Хофітол не мали значущого впливу на осмотичну резистентність еритроцитів в інтактних щурів та у тварин з міоглобінуричним ГУН.

Результати вивчення антимікробної дії збору на різні мікроорганізми показали, що він виявляє бактеріостатичну дію тільки на грампозитивну флору (*S. Epidermidis, B. cereus, Corynebacterium spp.)* та гриби роду *Candida spp*.

Отже, дослідження показали, що збір № 3 виявляє діуретичні, нефропротекторні, протизапальні, антиоксидантні, антимікробні властивості, що було підтверджено біохімічними, морфологічними та мікробіологічними показниками. Широкий спектр фармакологічних ефектів досліджуваний збір чинить за рахунок значної кількості БАР, які виявлено під час фітохімічного дослідження.

Таким чином, результати фармакологічного вивчення збору № 3 з діуретичними і нефропротекторними властивостями підтверджують доцільність його впровадження як засобу для застосування у комплексній фармакотерапії захворювань нирок. Вагомим обґрунтуванням впровадження у медичну практику збору № 3 є достатня сировинна база рослин, які входять до його складу.

ВИСНОВКИ

З урахуванням значущості захворювань нирок як однієї з найактуальніших проблем охорони здоров'я виникає потреба у вдосконаленні їх профілактики та лікування. Перспективним є створення лікарських засобів на основі рослинної сировини, що дозволить використовувати їх безпечно тривалими курсами, знизити кількість проявів побічних ефектів та підвищити ефективність синтетичних препаратів.

Дисертаційна робота присвячена вирішенню актуального наукового завдання, яке полягає в експериментальному обґрунтуванні доцільності використання нового оригінального рослинного збору з діуретичною і нефропротекторною активністю у лікуванні та профілактиці захворювань нирок. Розширено знання про безпечність та фармакологічні ефекти збору, до складу якого входить трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, корені і кореневища пирію, квітки цмину. Показано зв’язок між фармакологічною активністю досліджуваного збору та його хімічним складом.

1. У результаті фармакологічного скринінгу зборів лікарських рослин, до складу яких входять квітки ромашки, кореневища і корені оману, насіння льону, корінь вовчуга, трава хвоща польового, квітки нагідок (збір № 1), плоди петрушки, трава золотушника, плоди ялівцю, корінь вовчуга, корінь солодки, квітки нагідок (збір № 2), трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, корені і кореневища пирію, квітки цмину (№ 3) встановлено, що в широкому діапазоні доз настій (1:10) збору № 1 і збору № 2 виявляють антидіуретичну дію в мишей за рахунок посилення канальцевої реабсорбції. Настій (1:10) збору № 3 (збір-лідер за діуретичною активністю) у дозі 10 мл/кг чинить діуретичну дію за рахунок посилення клубочкової фільтрації. Встановлено умовно-ефективну дозу, яка склала 10 мл/кг маси тіла тварини.

2. Фітохімічними дослідженнями оригінального рослинного збору-лідера за діуретичною активністю ідентифіковано та визначено кількісний вміст

біологічно активних речовин, що зумовлюють його фармакологічну дію: аскорбінової (0,07 %) та органічних (0,45) кислот; 16 амінокислот, з яких 8 є незамінними; 3 ненасичених жирних кислот (лінолевої, ліноленової, олеїнової); полісахаридів, серед яких 7,87 % водорозчинних та 11,88 % пектинових речовин; окиснюваних фенолів (3,60 %), флавоноїдів (1,02 %); гідроксикоричних кислот (3,75 %); визначено елементний склад (5 макро- та 6 мікроелементів). Збір № 3 стандартизовано за вмістом сполук фенольної природи – суми флавоноїдів, суми гідроксикоричних кислот та поліфенолів.

3. Відповідно до класифікації Hodge та Sterner настій збору № 3 при внутрішньошлунковому введенні належить до VI класу токсичності – відносно нешкідливих речовин (LD_{50} > 15000 мг/кг).

4. Нефропротекторна дія збору № 3 на моделі міоглобінуричного ГУН виявляється за рахунок достовірного зниження вмісту креатиніну в плазмі крові майже в 2 рази ($p<0,001$), підвищення ШКФ в 2 рази ($p<0,05$) та реабсорбції води в 1,1 разу ($p<0,001$), зниження рівня протеїнурії в 1,3 разу відносно групи модельної патології.

5. На моделі гентаміцин-індукованої нефропатії у щурів доведено дозозалежний нефропротекторний ефект досліджуваного збору, який виявляється зменшенням канальцевої реабсорбції води, виразності протеїнурії (концентрація білка в сечі зменшилася у 1,4 разу), азотемії (концентрація креатиніну і сечовини в плазмі крові зменшилася у 1,3 разу та 1,2 разу відповідно), запобіганням розвитку гіпокаліємії (5,14±0,78 ммоль/л проти 4,19±0,28 ммоль/л) відносно групи модельної патології. Гістологічними дослідженнями показано, що у дозах 5 мл/кг і 10 мл/кг настій збору № 3 запобігає розвитку гентаміцин-індукованій нефротоксичності: зменшуються структурні зміни у тубулярній структурі звивистих канальців кіркових нефронів, збільшуються структурно інтактні ділянки кори.

6. Настій збору № 3 чинив помірний нефропротекторний ефект на моделі ішемічного ГУН у щурів: збільшувалась виживаність, яка на тлі настою збору в дозі 10 мг/кг становила 100 % у порівнянні з групою модельної патології ($p<0,05$); запобігав анурії (підвищував діурез у 1,4 разу за умов водного навантаження) та попереджав розвитку поліурії (зменшував діурез в 1,2 разу за умов спонтанного діурезу), виявляв помірну антипротеїнуричну активність (зменшував рівень білка в 1,5 разу за умов водного навантаження та 1,6 разу ($p<0,05$) за умов спонтанного діурезу), вираженість гіперкреатинінемії зменшувалась під впливом настою збору № 3 в дозі 10 мл/кг в 1,3 разу за умов водного навантаження та в 1,7 разу ($p<0,05$) за умов спонтанного діурезу відносно групи модельної патології, нормалізував парціальні функції нирок. Гістологічно визначено, що досліджуваний збір у дозі 10 мл/кг на моделі ішемічного ГУН у щурів дещо послаблював патологічні зміни ниркової паренхіми. Препарат порівняння Хофітол за виразністю позитивного впливу на стан нефротелію вірогідно поступався збору № 3. Настій досліджуваного збору у дозі 10 мл/кг чинив сприятливий вплив на антиоксидантно-прооксидантний баланс у щурів з гліцерол-індукованим ГУН – знижував вміст ТБК-реактантів у плазмі крові на 23 % ($p<0,005$); підвищував активність каталази в нирках на

44 % ($p<0,05$), перевершуючи за активністю препарат порівняння Хофітол. У щурів, які отримували настій збору № 3, спостерігалася нормалізація коефіцієнтів маси нирок та печінки ($p<0,05$). Настій збору № 3 не проявляв мембраностабілізувальної дії (не впливав на осмотичну резистентність еритроцитів в інтактних щурів та у тварин з міоглобінуричним ГУН).

7. Настій збору № 3 та Хофітол збільшували вміст протизапальних та зменшували концентрацію прозапальних цитокінів плазми крові у щурів із гліцероловим ГУН, що вказує на протизапальну активність цих засобів. Настій збору № 3 у дозі 10 мл/кг та Хофітол сприяють зменшенню вмісту в плазмі крові IL-1β відповідно до 38,2±0,3 нг/мл та 42,4±0,5 нг/мл проти 54,0±0,5 нг/мл у тварин модельної патології. У тварин, які отримували настій збору № 3 та Хофітол, вміст IL-10 зростав у 3,8 рази та 5,0 разів відповідно, а у тварин групи модельної патології його концентрація зростала лише в 1,5 рази. На моделі карагенінового набряку настій збору № 3 чинив достовірну ($p<0,05$) антиексудативну дію у всіх досліджуваних дозах. Найвищу антиексудативну активність (у середньому 41 %) настій збору № 3 виявляв в дозі 20 мл/кг, що підтверджує наявність протизапальної дії, яка долучається до реалізації його нефропротекторної активності.

8. Настій збору № 3 проявив антимікробну активність. Доведена його антимікробна дія на грампозитивну мікрофлору (*S. Epidermidis, B. cereus, Corynebacterium spp.)* та гриби роду *Candida spp,* що дозволить рекомендувати застосування збору в комплексній терапії інфекційних захворювань сечовидільної системи.

9. Одержані результати обґрунтовують доцільність подальших досліджень і створення нових вітчизняних фітозасобів з діуретичними і нефропротекторними властивостями.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Койро О. О., Чорна Н. С. Дослідження впливу оригінальних фітозборів на видільну функцію нирок в експерименті. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 1. С. 76-79 (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті).

2. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Койро О. О. Дослідження ренальних ефектів та нефропротекторної активності оригінального фітозбору у мишей. *Фітотерапія. Часопис*. 2015. № 4. С. 46-49 (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті).

3. Дорошенко О. Г., Марчишин С. М. Фітохімічне дослідження збору діуретичного. *Медична та клінічна хімія.* 2016. Т. 18, № 3 (68). С. 50-53 (Особистий внесок – участь у написанні огляду літератури, проведення експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, оформлення статті).

4. Marchyshyn S., Doroshenko O., Koyro O., Nakonechna S. Investigation of antioxidant and membrane stabilizing activity of plant collection with nephroprotective properties. *The Pharma Innovation Journal*. 2017. № 6 (12). P. 383-385 (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті).

5. Дорошенко О.Г., Марчишин С.М., Ткачук Н.І. Дослідження антимікробної активності збору діуретичного. *Український біофармацевтичний журнал.* 2017. № 5 (52). С. 58-61 (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті).

6. Marchyshyn S., Doroshenko O., Nakonechna S., Koyro O. Original medicinal plant collection reduces nephrotoxicity of gentamicin in rats. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. № 7(4). P. 145-148 (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті).

7. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Наконечна С. С., Койро О. О. Вплив діуретичного фітозбору на перебіг ішемічної гострої ниркової недостатності у щурів / *Фітотерапія. Часопис*. 2018. № 1. С. 35-40 (Особистий внесок – проведення частини експериментальних досліджень, обробка та аналіз результатів, участь в оформленні статті).

8. Пат. № 109891 Україна, МПК (2016.01) A23F 3/34 A61K 36/52, A61K 36/533 A61K 36/704 A61K 36/73 A61P 13/10. Збір лікарських рослин з діуретичною і нефропротекторною дією / Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Козир Г. Р., Койро О. О., Чорна Н. С.: заявник і патентовл. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Козир Г. Р., Койро О. О., Чорна Н. С. u2016 03360; заявл. 31.03.2016; опубл. 12.09.2016, Бюл. №17*(*Особистий внесок – брала участь в патентному пошуку, проведені досліджень та оформленні патенту).

9. Дорошенко О. Вміст речовин первинного синтезу в зборі діуретичному. XIX *Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених, присвячений пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука*: матер. XIX конгр., м. Тернопіль, 27–29 квітня 2015 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2015. С. 348.

10. Дорошенко О.Г., Марчишин С. М., Койро О. О. Вплив фітозбору на перебіг міоглобінуричної гострої ниркової недостатності в мишей. *«Здобутки клінічної та експериментальної медицини»* : матеріали підсумкової науково-практичної конференції, присвяченої пам'яті ректора члена-кореспондента НАМН України, професора Леоніда Якимовича Ковальчука (м.Тернопіль, 17 червня 2015 р.) / Терноп. держ. мед. ун-т ім. І. Я. Горбачевського. – Тернопіль : ТДМУ, 2015. – С. 193.

11. Дорошенко О., Романів Н., Гладун Т. Вміст дубильних речовин у зборі діуретичному. *XX Міжнародний медичний конгрес студентів та молодих вчених*: матер. XX конгр., м. Тернопіль, 25–27 квітня 2016 р. Тернопіль, «Укрмедкнига», 2016. С. 338.

12. Дорошенко О. Г., Марчишин С. М., Койро О. О. Ренальні ефекти та нефропротекторна активність оригінального фітозбору. *Хімія природних*

сполук: матер. IV Всеукраїнської науково-практичної конф. з міжнародною участю (м. Тернопіль, 21-22 квітня 2016 р.) / редкол. : С. М. Марчишин, Л. С. Фіра, К. А. Посохова, О. М. Олещук. Тернопіль: ТДМУ, 2016. С. 76-77.

13. Дорошенко О. Г., Марчишин С. М., Койро О. О. Використання оригінального фітозбору для розробки лікарського засобу нефропротекторної дії. *Фармація XXI століття : тенденції та перспективи :* матеріали VIII Нац. з'їзду фармацевтів України (Харків, 13-16 вересня, 2016 р.): у 2 т. Т. 2 / М-во охорони здоров'я України, Нац. фармац. ун-т; кол.: В.П. Черних (голова) та ін.; С.Ю. Данильченко та ін. Харків: НФаУ, 2016. С. 29.

14. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г. Дослідження карбонових кислот у зборі діуретичному. *Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів* : матеріали VI наук.-практ. конф. з міжнар. участю (10-11 листопада 2016 р.). Тернопіль : ТДМУ, 2016. С. 60-61.

15. Марчишин С. М., Дорошенко О. Г., Демидяк О. Л. Дослідження протизапальної дії збору діуретичного. *«Здобутки клінічної та експериментальної медицини»* : матеріали підсумкової LXI науково-практичної конференції (Тернопіль, 7 червня 2018р.). Тернопіль: Укрмедкнига. 2018. С. 247-248.

16. Дорошенко О. Г. Вплив настою оригінального фітозбору на цитокіновий профіль у щурів із міоглобінуричною гострою нирковою недостатністю. «*Інновації в медицині*»: тези 87 науково-практ. конф. студентів та молодих вчених із міжнародною участю 22-23 березня 2018 р. Івано-Франківськ. 2018. С. 81.

17. Дорошенко О. Г., Марчишин С. М. Інноваційні перспективи використання оригінального нефропротекторного фітозасобу. Інформаційний лист про нововедення в сфері охорони здоров'я № 41-2018. Укрмедпатентінформ МОЗ України. Випуск з проблеми «Фармація». К., 2018 р. 2 с.

АНОТАЦІЯ

Дорошенко О. Г. Експериментальне вивчення рослинного збору із діуретичною та нефропротекторною дією. – На правах рукопису.

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

Проведено фармакологічне скринінгове вивчення оригінальних рослинних зборів щодо їх впливу на видільну функцію нирок інтактних тварин і визначено найперспективніший збір за діуретичною активністю, до складу якого входять трава споришу, трава суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, кореневища і корені пирію (по 25,0), квітки цмину (20,0). Вивчено хімічний склад збору-лідера за діуретичною дією (збір № 3); встановлено наявність та визначено кількісний вміст сполук фенольної природи (флавоноїдів, гідроксикоричних кислот, дубильних речовин, кумаринів), полісахаридів, органічних кислот, аміно- та жирних кислот, макро- і мікроелементів, які забезпечують його фармакологічну дію.

Встановлено, що збір № 3 у дозі 10 мл/кг виявляє нефропротекторні, діуретичні, антиоксидантні, протизапальні властивості у дозі 20 мл/кг; чинить антимікробну дію на грампозитивну мікрофлору (*B. cereus, Corynebacterium spp., S. epidermidis)* та гриби роду *Candida spp*.

Наявність нефропротекторної дії доведено на моделі міоглобінуричного ушкодження у мишей, гентаміцин-індукованої нефропатії та ішемічного ушкодження нирок в щурів. Збір № 3 виявляє помірну антипротеїнуричну та гіпоазотемічну активність. Нефропротекторну активність збору № 3 підтверджено гістологічно.

Досліджуваний збір відноситься до VI класу токсичності за класифікацією Hodge та Sterner – відносно нешкідливі речовини, LD_{50} > 15000 мг/кг.

Ключові слова: збір № 3, біологічно активні речовини, нирки, нефропротекторна активність, антиоксидантна дія, антимікробна активність, протизапальна дія.

АННОТАЦИЯ

Дорошенко О. Г. Экспериментальное изучение растительного сбора с диуретическим и нефропротекторным действием. – На правах рукописи. Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – Фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2019.

Проведено фармакологическое скрининговое исследование оригинальных растительных сборов по влиянию на выделительную функцию почек интактных животных. Определен перспективный в аспекте диуретической активности сбор, в состав которого входят трава спорыша, трава земляники, листья ореха, листья толокнянки, листья крапивы, корневища и корни пырея (по 25,0), цветки бессмертника (20,0).

Изучен химический состав диуретического сбора-лидера (сбора № 3); установлено наличие и определено количественное содержание соединений фенольной природы (флавоноидов, кислот гидроксикоричных, дубильных веществ, кумаринов), полисахаридов, органических, в том числе аскорбиновой, кислот, амино- и жирных кислот, макро- и микроэлементов, которые обеспечивают его фармакологическое действие.

Скрининговые исследования настоя сбора № 3 показали, что его эффект зависит от продолжительности приема: при однократном введении наблюдается мочегонное действие, выраженность которого уменьшается при курсовом применении. Установлено, что настой сбора (1:10) № 3 оказывает мочегонное действие за счет усиления клубочковой фильтрации и условно эффективная доза составляет 10 мл/кг. Последняя была использована в расширенном исследовании его нефротропного эффекта.

Установлено, что исследуемый сбор в дозе 10 мл/кг проявляет нефропротекторные, диуретические, антиоксидантные свойства; в дозе 20 мл/кг обладает противовоспалительным действием. Настой сбора № 3 оказывает

антимикробное действие в отношении грамположительной микрофлоры (*B. cereus, Corynebacterium spp., Candida spp., S. epidermidis*), что обосновывает его применение в комплексной терапии инфекционных заболеваний мочевыделительной системы.

Нефропротекторное действие настоя сбора № 3 доказано на модели миоглобинурического поражения почек у мышей. Установлено, что исследуемый сбор достоверно снижает уровень креатинина в плазме крови почти в 2 раза по сравнению с показателем животных модельной патологии (с 102,4 мкмоль/л до 52,5 мкмоль/л) до уровня интактного контроля (50,9 мкмоль/л). Сбор нормализует скорость клубочковой фильтрации, реабсорбцию воды, способствует уменьшению коэффициента массы почек, коорый приближается к таковому у интактных животных. Настой сбора № 3 имеет преимущества перед референс-препаратом Урофлоксом – отсутствие выраженного натрийуреза и протеинурии, уменьшение коэффициента массы почек.

На модели гентамицин-индуцированной нефропатии исследуемый сбор способствует уменьшению канальцевой реабсорбции воды, выраженности протеинурии, азотемии. Настой сбора № 3 предупреждает развитие гипокалиемии, нормализуя концентрацию калия в крови – 5,08±0,46 ммоль/л на фоне дозы 5 мл/кг, 5,14±0,78 ммоль/л под влиянием дозы 10 мл/кг. У крыс группы модельной патологии концентрация калия в сыворотке крови составляла 4,19±0,28 ммоль/л против 5,30±0,38 ммоль/л в интактных животных ($p < 0,05$). Содержание натрия в сыворотке крови было сопоставимо во всех группах животных, натрий/калиевый коэффициент также не претерпевал значимых изменений. На фоне применения настоя сбора № 3 концентрация креатинина и мочевины в сыворотке крови животных достоверно не отличалась от таковой в группе интактного контроля. Таким образом, настой сбора № 3 в условиях гентамицин-индуцированной нефропатии оказывает нефропротекторное действие, в механизме которого участвуют диуретические и гипоазотемические свойства.

На модели ишемического поражения почек у крыс под влиянием настоя сбора № 3 увеличивается выживаемость, предупреждается анурия. Сбор проявляет умеренную антипротеинурическую и гипоазотемическую активность.

Нефропротекторная активность сбора подтверждена гистологически.

Под влиянием настоя сбора № 3 на модели глицерин-индуцированного поражения почек установлена антиоксидантная активность, которая реализовалась за счет снижения содержания ТБК-реактантов в плазме крови на 23 % ($p <0,05$), повышения активности каталазы в гомогенате почек на 44% ($p <0,05$) по сравнению с группой животных модельной патологии.

Исследуемый сбор относится к VI классу токсичности по классификации Hodge и Sterner – относительно безвредные вещества, LD50> 15000 мг/кг.

Ключевые слова: сбор № 3, биологически активные вещества, почки, нефропротекторная активность, антиоксидантное действие, антимикробная активность, противовоспалительное действие.

SUMMARY

Doroshenko O.H. Experimental study of plant collection with diuretic and nephroprotective action. – The manuscript.

The thesis for a Candidate of Pharmaceutical Sciences Degree (PhD) in specialty 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of Ministry of Health of Ukraine, Kharkiv, 2019.

A pharmacological screening research of original plant collections was conducted concerning their influence on the excretory function of the kidneys of intact animals and was identified the most perspective plant collection with diuretic activity, containing Polygoni avicularis herba, Fragariae herba, Juglandis folium, Uvae ursi folia, Urticae folia, Elymi repensis rhizomata et radices (25,0 for each) and Helichrysi arenarii Flores (20,0). The chemical composition of diuretic plant collection (plant collection № 3) was studied; the quantitative content of compounds of phenolic nature (flavonoids, hydroxycinnamic acid, tannins, coumarins), polysaccharides, organic acids, including ascorbic, amino and fatty acids, macro-and microelements that provide its pharmacological action were established and determined.

It was established that the researched plant collection in a dose of 10 ml/kg manifests nephroprotective, diuretic, antioxidant, in a dose of 20 ml/kg anti-inflammatory properties; has a pronounced antimicrobial effect on gram-positive microflora (*B. cereus, Corynebacterium spp., S. epidermidis)* and active against fungi of *Candida spp.).*

The presence of nephroprotective effect is proven on the model of myoglobinuric acute kidney damage in mice, on the model of gentamicin-induced nephropathy and ischemic acute kidney damage in rats. The infusion of plant collection № 3 manifests moderate antiproteinuric and hypoazotemic activity. Histological studies confirm the nephroprotective activity of the plant collection № 3.

The researched plant collection belongs to VI class toxicity by Hodge and Sterner classification – relatively harmless substance LD_{50}> 15000 mg/kg.

Keywords: plant collection № 3, biologically active substances, kidneys, nephroprotective activity, antioxidant effect, antimicrobial activity, anti-inflammatory action.

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

БАР – біологічно активні речовини;
ВЕРХ – високоефективна рідинна хроматографія;
ВФН – видільна функція нирок;
год – година;
ГУН – гостре ураження нирок;
ГХ – газова хроматографія;
ГХ/МС – газова хроматографія з мас-спектрометричним детектором;
ДФУ – Державна Фармакопея України;
ІК – інтактний контроль;
І/ Р – ішемія / реперфузія;
КАТ - каталаза
КП – контрольна патологія;
МП – модельна патологія;
ПХ – паперова хроматографія;
СОД – супероксиддисмутаза;
ТБК-Р – тіобарбітурової кислоти реактанти;
ТШХ – тонкошарова хроматографія;
хв – хвилина;
ХХН – хронічна хвороба нирок;
ЦНДЛ – центральна науково-дослідна лабораторія;
ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації.