

УДК [615.254.7:616.61-008.64]:57.084.1

Т. І. Єрмоленко, С. К. Шебеко

Національний фармацевтичний університет

ВПЛИВ ФЛАРОСУКЦИНУ НА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ СЕЧІ ЩУРІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛІТІАЗУ

Наведено результати дослідження впливу препарату Фларосукцин на біохімічні показники сечі щурів за умов розвитку оксалатного нефролітіазу. Показано, що пероральне застосування Фларосукцину у дозі 2,0 мл/кг сприяє посиленню видільної функції нирок, підвищенню добової екскреції креатиніну, зменшенню вмісту у сечі оксалат-іонів та рівня ферментурії, що свідчить про виражену уролітичну та нефропротекторну дію дослідного засобу. За ступенем впливу на більшість досліджених показників Фларосукцин вірогідно перевершував активність препарату порівняння Фітолізину.

Ключові слова: Фларосукцин, оксалатний нефролітіаз, біохімічні показники сечі, оксалати, ферментурія.

ВСТУП

Сечокам'яна хвороба (СКХ) є одним з найпоширеніших захворювань в урологічній практиці, яким страждають 10-12 % працездатного населення розвинених країн світу [1, 14]. Основною формою СКХ є оксалатний нефролітіаз, на частку якого приходиться понад 50 % всіх клінічних випадків хвороби [1].

Проблему посилює той факт, що лікування нефролітіазу сьогодні в основному базується на хірургічних та ударно-хвильових способах видалення та/або руйнування конкрементів, що не усуває причину й практично не впливає на основні ланки патогенезу СКХ і робить терапію недостатньо ефективною при частих рецидивах [2, 15]. У той же час методи фармакологічної корекції нефролітіазу досить обмежені, у зв'язку з чим пошуку нових напрямів у консервативному лікуванні даного захворювання приділяється пильна увага [2, 10].

Оригінальною розробкою у напрямі створення нових вітчизняних лікарських засобів для патогенетичної терапії СКХ є комбінований препарат «Фларосукцин» (сироп), який впроваджується у виробництво на ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (м. Київ). У складі даного засобу поєднуються компоненти лікарських рослин і ефірних олій з буферною сумішшю, що забезпечує його уролітичну, нефропротекторну, спазмолітичну та діуретичну дію.

За рахунок буферної суміші препарат підтримує рН сечі в межах 6,8-7,3. У даному діапазоні значно підвищується розчинення солей сечової кислоти, кальцій-оксалатних і змішаних конкрементів [10].

Відомо, що однією з важливих ланок патогенезу СКХ є пошкодження епітелію каналцевого апарату нефронів з наступним розвитком тубулярної дисфункції нирок [6, 10, 15]. Гіперферментурія, що виникає внаслідок цих процесів, чинить вплив на фізико-хімічні властивості сечі, створюючи умови для атипової кристалізації сечових конкрементів [6, 9]. Але продукти дестабілізації клітинних мембран нефроцитів та пов'язаний з ними рівень ферментурії можна розглядати не тільки як патогенетичний фактор ризику каменеутворення, але й як діагностичний критерій інтенсивності перебігу нефролітіазу та ефективності його фармакологічної корекції [6].

У зв'язку з вищевикладеним метою даного дослідження стало вивчення впливу препарату Фларосукцин на біохімічні показники сечі щурів за умов розвитку оксалатного нефролітіазу.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Дослідження проводили на моделі оксалатного нефролітіазу у щурів, що відтворювали шляхом щоденного (протягом 18 діб) внутрішньощлункового введення 1,0 % водного розчину етиленгліколю в об'ємі 6 мл на тварину [7, 12].

Піддослідні тварини утримувались згідно зі стандартними санітарними нормами на необхідному харчовому раціоні при вільному доступі до питної води [8]. Усі дослідження проводились у відповідності з директивою Ради ЄС 86/609 ЄЕС від 24 листопада 1986 р. про дотримання законів, постанов та адміністративних положень з питань захисту тварин, що використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [13].

У дослідженні було використано 36 білих щурів обох статей масою 220-250 г, що розподілялись на 4 дослідні групи по 9 тварин у кожній: 1 група – інтактний контроль; 2 група – контрольна патологія; 3 група – тварини, що отримували Фларосукцин в умовно-ефективній дозі 2,0 мл/кг [4]; 4 група – тварини, що одержували препарат порівняння Фітолізин у дозі 1,3 г/кг (1/5 чайної ложки пасти на 1 кг маси тіла тварини), що являє собою середньотерапевтичну дозу, перераховану з урахуванням коефіцієнтів видової чутливості [3]. При дозуванні Фітолізину 1 чайну ложку пасти розчиняли у 10 мл фізіологічного розчину та вводили отриманий розчин у дозі 2,0 мл/кг.

У ході дослідження (у вигляді вихідних даних та станом на 9-у та 18-у добу) у тварин оцінювали наступні показники: діурез, екскрецію креатиніну, екскрецію оксалат-іонів, маркери ураження тубулярного апарату нирок – активність у сечі лактатдегідрогенази (ЛДГ), γ -глутамілтрансферази (ГГТ) та N-ацетил- β -D-глюкозамінідази (НАГ) [5].

Вміст у сечі креатиніну, ЛДГ та ГГТ визначали стандартними спектрофотометричними методами за допомогою біохімічних наборів

виробництва «PLIVA-Lachema Diagnostika» (Чехія). Активність НАГ визначали за допомогою біохімічного набору «NAG Assay Kit» (кат. № BQ 062A-EAKP) виробництва «BQKITS Diagnostics» (США). З метою виключення впливу різниці у показниках діурезу тварин на рівень ферментативної активності ферментів виражали у міжнародних одиницях (МО), перерахованих на 1 ммоль креатиніну, що виділявся із сечею протягом доби. Вміст оксалатів у сечі тварин визначали спектрофотометрично ензиматичним методом за допомогою біохімічних наборів «OXALATE» (кат. № 591C-1KT) виробництва «Trinity Biotech» (Ірландія).

Отримані результати оброблялись методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента за допомогою комп'ютерних програм [6].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати дослідження показали, що під впливом літогенного агенту 1,0 % розчину етиленгліколю у щурів відбувається розвиток оксалурічної нефропатії, про що свідчить динаміка показників ниркової екскреції (табл. 1).

Так, у тварин групи контрольної патології на 9 добу дослідження відбувалось вірогідне збільшення діурезу відносно інтактної групи, що свідчить про поліурічну фазу ушкодження тубулярного апарату нирок. По закінченні експерименту на 18 добу спостережень добовий діурез зменшувався в 1,5 разу, що також мало вірогідні відмінності стосовно інтактних тварин. Екскреція креатиніну у цій групі також піддавалась

Таблиця 1

ВПЛИВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ НА ЕКСКРЕТОРНІ ПОКАЗНИКИ НИРОК ЩУРІВ З ОКСАЛАТНИМ НЕФРОЛІТІАЗОМ

Дослідна група	Доба дослідження	Діурез, мл/доба	Екскреція креатиніну, мкмоль/доба	Екскреція оксалатів, мг/доба
Інтактний контроль (n=9)	0	6,53±0,24	18,03±1,52	5,26±0,26
	9	6,51±0,19	19,12±1,61	5,52±0,27
	18	6,92±0,26	20,47±1,72	5,83±0,29
Контрольна патологія (n=9)	0	6,43±0,24	19,38±1,63	5,19±0,26
	9	7,42±0,28 ¹	12,36±1,04 ¹	16,97±0,85 ¹
	18	4,94±0,18 ¹	16,86±1,42	24,24±1,21 ¹
Фларосукцин (n=9)	0	6,60±0,25	17,55±1,48	5,32±0,27
	9	9,10±0,34 ^{1, 2}	16,05±1,35 ²	10,31±0,51 ^{1, 2}
	18	8,73±0,32 ^{1, 2}	18,16±1,53	12,48±0,62 ^{1, 2}
Фітолізин (n=9)	0	6,28±0,23	17,37±1,46	4,95±0,25
	9	8,41±0,31 ^{1, 2}	13,68±1,15 ¹	15,21±0,76 ^{1, 3}
	18	7,66±0,28 ^{1, 3}	17,16±1,44	18,36±0,91 ^{1, 2, 3}

Примітки: ¹ – відмінності вірогідні відносно інтактного контролю ($p \leq 0,05$); ² – відмінності вірогідні відносно контрольної патології ($p \leq 0,05$); ³ – відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували Фларосукцин ($p \leq 0,05$); n – кількість тварин у групі.

певним коливанням. Так, на 9 добу дослідження спостерігалось вірогідне зменшення даного показника у 1,5 разу відносно інтакту. У подальшому екскреція креатиніну нормалізувалась, досягаючи інтактного рівня, що свідчить про активацію компенсаторних механізмів у регуляції екскреторної функції нирок.

Особливої уваги у ракурсі розвитку оксалатного нефролітіазу заслуговує динаміка показників екскреції оксалат-іонів. У тварин групи контрольної патології протягом всього дослідження спостерігалось статистично достовірне збільшення виведення оксалатів. На 9 добу дослідження цей показник перевершував рівень інтактних тварин у 3,3 разу, а на 18 добу – вже у 4,7 разу.

При застосуванні у тварин Фларосукцину спостерігалось вірогідне збільшення діурезу відносно контрольної патології у 1,2 разу на 9 добу та у 1,8 разу по закінченні експерименту. Дана тенденція пояснюється діуретичними властивостями Фларосукцину і є вагомим рисом фармакодинаміки уролітичних засобів, оскільки сприяє зменшенню інтенсивності літогенних процесів у нирках. Також під впливом Фларосукцину відбувалась нормалізація екскреції креатиніну, оскільки протягом всього дослідження цей показник знаходився на інтактному рівні. Окрім того Фларосукцин чинив виражений позитивний вплив на екскрецію оксалатів, вірогідно знижуючи їх виділення у 1,6 разу на 9 добу та у 1,9 разу на 18 добу дослідження порівняно з групою контрольної патології.

Слід зазначити, що за ступенем впливу на деякі показники Фларосукцин перевершував активність препарату порівняння Фітолізину. Так він проявив вірогідно вищу діуретичну активність станом на 18 добу дослідження та більш виражено знижував інтенсивність екскреції оксалатів протягом всього експерименту (табл. 1).

Вагомим показником розвитку літогенних процесів у нирках щурів контрольної групи стала динаміка ферментурії, що характеризувалась послідовним, яскраво вираженим ростом активності в сечі всіх трьох маркерних ензимів, які свідчать про наявність деструкції ниркового епітелію та дисфункцію тубулярного апарату нирок (табл. 2).

З даних наведених у табл. 2 випливає, що під впливом етиленгліколю у тварин збільшувалась активність ЛДГ у 4,0 рази на 9 добу дослідження відносно інтактного рівня. Далі вона дещо знижувалась, перевершуючи показники інтактних тварин лише у 3,4 разу, що говорить про адаптацію нирок до патологічних умов. Дещо відрізнялась динаміка ГГТ, оскільки для цього ферменту було характерним менш інтенсивне збільшення екскреції з сечею. По мірі розвитку патології активність ГГТ поступово підвищувалась, і була у 1,4 разу більше станом на 9 добу та у 1,8 разу по закінченні експерименту. Найбільш специфічним ферментом при дисфункції тубулярного апарату нирок є НАГ. В процесі розвитку нефролітіазу у контрольній групі його активність вірогідно збільшувалась і по закінченні дослідження була у 3,0 рази вище, ніж у інтактних тварин.

Таблиця 2

ДИНАМІКА ПОКАЗНИКІВ ФЕРМЕНТУРІЇ У ЩУРІВ З ОКСАЛАТНИМ НЕФРОЛІТІАЗОМ ПІД ВПЛИВОМ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ТЕРАПІЇ

Дослідна група	Доба дослідження	Активність ферментів, МО/ммоль креатиніну		
		ЛДГ	ГГТ	НАГ
Інтактний контроль (n=9)	0	13,52±0,67	50,22±2,50	1,22±0,06
	9	14,97±0,75	46,45±2,31	1,13±0,05
	18	14,08±0,70	46,89±2,34	1,19±0,07
Контрольна патологія (n=9)	0	13,08±0,65	45,12±2,25	1,18±0,06
	9	60,42±3,01 ¹	63,74±3,18 ¹	2,77±0,14 ¹
	18	47,34±2,36 ¹	85,03±4,24 ¹	3,57±0,18 ¹
Фларосукцин (n=9)	0	14,41±0,72	49,66±2,47	1,11±0,06
	9	33,53±1,67 ^{1,2}	57,09±2,84 ^{1,2}	1,72±0,09 ^{1,2}
	18	25,16±1,25 ^{1,2}	58,42±2,91 ^{1,2}	1,50±0,07 ^{1,2}
Фітолізин (n=9)	0	15,19±0,76	48,00±2,39	1,07±0,05
	9	42,35±2,11 ^{1,2,3}	59,31±2,95 ^{1,2}	1,77±0,09 ^{1,2}
	18	39,02±1,94 ^{1,2,3}	66,51±3,31 ^{1,2}	1,91±0,09 ^{1,2,3}

Примітки: ¹ – відмінності вірогідні відносно інтактного контролю (p<0,05); ² – відмінності вірогідні відносно контрольної патології (p<0,05); ³ – відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували Фларосукцин (p<0,05); n – кількість тварин у групі.

Наочною ознакою уролітичної дії Фларосукцину виявилось вірогідне зниження під його впливом рівня ферментурії у щурів порівняно з групою контрольної патології (табл. 2). Так, під впливом даного дослідного об'єкту наприкінці дослідження спостерігалось зниження активності ЛДГ у сечі тварин у 1,9 разу, ГГТ – у 1,5 разу та НАГ – у 2,4 разу. Отримані результати свідчать про покращення функціонування та зменшення деструктивних процесів у епітелії тубулярного апарату нирок, що обумовлено уролітичною та нефропротекторною активністю Фларосукцину.

Препарат порівняння Фітолізин також чинив позитивний вплив на перебіг оксалатного нефролітіазу у щурів, вірогідно знижуючи активність ферментів сечі порівняно з групою контрольної патології. Так, на 18 добу спостережень під його впливом активність ЛДГ знижувалась у 1,2 разу, ГГТ – у 1,3 разу, а НАГ – у 1,9 разу (табл. 2).

При співставленні ступеню виразності позитивного впливу Фларосукцину та Фітолізину виявлялось, що перший чинив достовірно більш виражений вплив за показниками ЛДГ на протязі всього дослідження та показником НАГ по закінченні експерименту. За впливом на активність ГГТ обидва дослідні засоби характеризувались ідентичним ступенем впливу без вірогідних відмінностей.

Таким чином, результати проведених досліджень свідчать про наявність у препараті Фларосукцин вираженої уролітичної та нефропротекторної дії, що проявлялось у посиленні діурезу і, як наслідок, уродинаміки, підвищенні добової екскреції креатиніну, зниженні виділення із сечею оксалатів та нормалізації показників ферментурії, що, в свою чергу, говорить про відновлення функціонального стану канальцевого епітелію нирок.

ВИСНОВКИ

В умовах розвитку оксалатного нефролітіазу у щурів Фларосукцин вірогідно сприяє посиленню видільної функції нирок і при цьому зменшує вміст у сечі оксалат-іонів.

Під впливом Фларосукцину у щурів з оксалатним нефролітіазом відбувається вірогідне зменшення рівня ферментурії, що свідчить про відновлення функціонального стану епітелію тубулярного апарату нирок.

За ступенем впливу на більшість досліджених показників Фларосукцин вірогідно перевершує активність препарату порівняння Фітолізину і є перспективним засобом уролітичної та нефропротекторної дії для подальших доклінічних досліджень.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Аляев Ю.Г. Современные аспекты медикаментозного лечения больных мочекаменной болезнью / Ю.Г. Аляев, В.И. Руденко, Е.В. Философова // РМЖ. – 2006. – № 2. – С. 18-22.
2. Дзеранов Н.К. Лечение мочекаменной болезни – комплексная медицинская проблема / Н.К. Дзеранов, Д.А. Бешлиев // Consilium medicum: приложение – Урология. – 2003. – С. 18-22.
3. Доклинические исследования лекарственных средств : [метод. рек.] / под ред. А.В. Стефанова. – К.: Авиценна, 2002. – 528 с.
4. Єрмоленко Т.І. Експериментальні підходи до підбору оптимальної кількості рослинних компонентів у комбінованих уролітичних засобах / Т.І. Єрмоленко, Д.І. Зупанець, О.О. Андрєєва // Клінічна фармація. – 2011. – Т. 15, № 4. – С. 34-37.
5. Камышников В.С. Карманный справочник врача по лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – 4-е изд. – М. : МЕДпресс-информ, 2011. – 400 с.
6. Клочков В.В. Диагностическое значение энзимурии в оценке состояния функциональных почечных структур при разных видах и формах нефролитиаза / В.В. Клочков, А.В. Клочков // Российский медико-биологический вестник имени акад. И.П.Павлова. – 2010. – № 2. – С. 111-117.
7. Любарцева Л.А. Влияние комбинированного растительного препарата ренолита на течение экспериментального нефролитиаза у крыс / Л.А. Любарцева, В.Е. Соколова, М.А. Ангурская // Фармакология и токсикология. – 1975. – Вып. 10. – С. 79-82.
8. Науково-практичні рекомендації з утримання лабораторних тварин та роботи з ними / Ю. М. Кожем'якін, О. С. Хромов, М. А. Філоненко, Г. А. Сайфетдінова. – К. : Державний фармакологічний центр МОЗ України, 2002. – 155 с.
9. Папаян А. В. Маркеры функции почек и оценка прогрессирования почечной недостаточности / А. В. Папаян, В. В. Архипов, Е. А. Береснева // Терапевтический архив. – 2004. – № 4. – С. 83-90.
10. Рациональная фармакотерапия в урологии. Руководство для практикующих врачей / под ред. Н. А. Лопаткина, Т. С. Перепановой. – М. : Литтерра, 2006. – 818 с.
11. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реб-

- рова. – 3-е изд. – М. : МедиаСфера, 2006. – 312 с.
12. A comparative study on several models of experimental renal calcium oxalate stones formations in rats / J. Liy, Z. Cao, Z. Zhang [et al.] // J. Huazhong Univ. Sci. Technolog. Med. Sci. – 2007. – Vol. 27. – P. 83-87.
 13. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
 14. Medical Therapy to Facilitate Urinary Stone Passage: a meta-analysis / M. John, M.D. Hollingsworth, A.M. Mary [et al.] // The Lancet. – 2006. – Vol. 368. – P. 1171-1179.
 15. Orson W. Kidney stones: pathophysiology and medical management / W. Orson, M. D. Moe // The Lancet. – 2006. – Vol. 367. – P. 333-344.

УДК [615.254.7:616.61-008.64]:57.084.1

Т.И. Ермоленко, С.К. Шебеко

ВЛИЯНИЕ ФЛАРОСУКЦИНА НА БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МОЧИ КРЫС В УСЛОВИЯХ РАЗВИТИЯ ОКСАЛАТНОГО НЕФРОЛИТИАЗА

Представлены результаты исследования влияния препарата Фларосукцин на биохимические показатели мочи крыс в условиях развития оксалатного нефролитиаза. Показано, что пероральное применение Фларосукцина в дозе 2,0 мл/кг способствует усилению выделительной функции почек, повышению суточной экскреции креатинина, уменьшению содержания в моче оксалат-ионов и уровня ферментурии, что свидетельствует о выраженном уrolитическом и нефропротекторном действии исследуемого средства. По степени влияния на большинство исследованных показателей Фларосукцин достоверно превосходил активность препарата сравнения Фитолизина.

Ключевые слова: Фларосукцин, оксалатный нефролитиаз, биохимические показатели мочи, оксалаты, ферментурия.

UDC [615.254.7:616.61-008.64]:57.084.1

T.I. Yermolenko, S.K. Shebeko

THE INFLUENCE OF THE FLAROSUKTSIN ON URINARY BIOCHEMICAL PARAMETERS OF RATS AT THE CONDITIONS OF OXALATE NEPHROLITHIASIS DEVELOPMENT

The results of research of the influence of the medicine Flarosuksin on biochemical indices of urine of rats in conditions of oxalate nephrolithiasis are presented in the article. It has been shown that oral administration of Flarosuksin in a dose of 2,0 ml/kg enhances renal excretory function, increased daily excretion of creatinine, decrease a content of oxalate ions in urine and enzymeuria level, that indicating the expressed urolithic and nephroprotective activity of studied drug. The degree of the influence of Flarosuksin on the majority of the investigated parameters was significantly superior than activity of the preparation of comparison Phytolysinum.

Key words: Flarosuksin, oxalate nephrolithiasis, urinary biochemical parameters, oxalates, enzymeuria.

Адреса для листування:
61013, м. Харків, вул. Пушкінська, 27.
Тел. моб.: 066 242-79-10.
E-mail: olena04@ukr.net

Надійшла до редакції:
16.01.2013