

ВПЛИВ КВЕРЦЕТИНУ ПРИ ПАРЕНТЕРАЛЬНОМУ ВВЕДЕННІ НА ФУНКЦІОНАЛЬНІ ПОКАЗНИКИ НИРОК ЩУРІВ З НИРКОВОЮ НЕДОСТАТНІСТЮ НА ТЛІ ХРОНІЧНОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ

Д.С.Харченко, І.А.Зупанець, С.К.Шебеко, І.А.Отрішко

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: кверцетин; функціональний стан нирок; ниркова недостатність; гломерулонефрит

Наведені результати експериментального вивчення функціонального стану нирок щурів з нирковою недостатністю під впливом кверцетину при парентеральному введенні. Дослідження було проведено на моделі аутоімунного гломерулонефриту у щурів за методом Нейтманн W. у модифікації. Результати експерименту свідчать про наявність позитивного впливу парентеральної форми кверцетину на перебіг ниркової недостатності, що проявляється в зниженні проявів нефротичного та набрякового синдромів, покращенні функціонального стану нирок щурів та зниженні інтенсивності процесів деструкції у нирковій тканині. За впливом на показники функціонального стану нирок щурів з хронічною нирковою недостатністю парентеральна форма кверцетину не поступається, а за деякими показниками навіть перевищує референс-препарат “Леспенефрил”.

Актуальність нефрологічної патології є дуже важливою складовою системи охорони здоров'я як у соціально-економічному, так і в загальномедичному аспектах. З одного боку, це обумовлено постійним збільшенням кількості запально-деструктивних захворювань нирок. З іншого боку, слід зазначити, що перебіг ниркової патології порівняно з іншими є найтяжчим і пацієнти даного профілю, знаходячись переважно в молодому і працездатному віці, швидко інвалідизуються, доходючи до хронічної ниркової недостатності (ХНН), лікування якої методами замісної ниркової терапії є дорогим і в Україні малодоступним.

Слід також зазначити, що тільки на видаткові матеріали для одного сеансу “базового” гемодіалізу необхідно в середньому 1000-1250 гривень, тобто за рік на 1 хворого ця сума досягає 150-180 тисяч гривень [9]. Очікується,

що кожні 7-10 років кількість хворих з ХНН буде збільшуватися у два рази, а кількість пацієнтів, що підлягають лікуванню нирковою замісною терапією — на 7% щорічно [3, 13]. Щороку зі збільшенням кількості хворих, які страждають на ниркову недостатність, збільшуються і витрати державної системи охорони здоров'я для забезпечення даної категорії хворих лікарськими засобами і засобами ниркової замісної терапії [3, 18].

Таким чином, пошук ефективних засобів фармакологічної корекції порушення функцій нирок при ХНН є актуальним питанням сучасної нефрології і фармакології. Швидке прогресування ниркової недостатності, послаблення адаптаційних резервів організму, значне збільшення навантаження лікарськими препаратами постійно потребують від клініцистів пошуку найбільш фізіологічних, комплексно діючих засобів, які

викликають найменшу кількість побічних реакцій [3].

З огляду на вищесказане великий інтерес з точки зору лікування ниркової недостатності становлять флавоноїди, зокрема кверцетин, який володіє протизапальними, антиоксидантними, капіляророзміцнюючими, цитопротекторними, антисклеротичними та багатьма іншими властивостями, необхідними для профілактики та лікування захворювань нирок [8, 11, 14, 16, 17]. У зв'язку з цим нашу увагу привернув препарат “Корвітин”, що являє собою парентеральну форму кверцетину та широко використовується в терапії інфарктів міокарда [10].

Таким чином, метою цієї роботи було дослідження впливу парентеральної форми кверцетину на перебіг ХНН у щурів на тлі аутоімунного гломерулонефриту.

Матеріали та методи

Експериментальне дослідження фармакологічних властивостей парентеральної форми кверцетину в умовах розвитку ниркової недостатності було проведено на

70 білих нелінійних щурах-самцях, з яких 40 тварин використовувались як піддослідні, а 30 тварин — для отримання ниркового антигену.

Всі тварини були розподілені на 4 групи по 10 особин у кожній:

- 1 група — інтактний контроль;
- 2 група — контрольна патологія;
- 3 група — тварини з патологією, які отримували кверцетин у дозі 33,8 мг/кг (ЕД₅₀, визначена у щурів на тлі ХНН) [6];
- 4 група — тварини з патологією, які отримували референс-препарат “Леспенефрил” у дозі 1,2 мл/кг, що відповідає середній терапевтичній дозі для людини, перерахованій за коефіцієнтами видової чутливості [2].

Гломерулонефрит у щурів відтворювали за методом Неупманн W. (1962) [15] у модифікації (Віхерт А.М. із співавт., 1973) [1]. Імунізацію тварин проводили за допомогою 20% емульсії коркового шару нирок у сполученні з повним ад’ювантом Фрейнда (“Sigma”, США) у співвідношенні 1:1. Стимулятор та нирковий антиген змішували безпосередньо перед використанням і отриману суміш вводили тваринам у дозі 7,4 мл/кг (приблизно по 1 мл на кожного щура) в рівній кількості у п’ять ділянок тіла — підшкірно в пахові та пахвові зони, а також внутрішньоочеревинно. Така схема введення забезпечує максимальну силу імунної відповіді. Через 4 тижні, коли з’являлись перші клінічні ознаки захворювання, з метою потенціювання аутоімунного процесу введення імунізуючої суміші повторювали в тій самій дозі, яку повністю вводили внутрішньоочеревинно. Через 7-8 тижнів після повторної імунізації клінічна картина захворювання набувала розгорнутого характеру.

Тварини дослідних груп починаючи з 90 доби експерименту, отримували препарати 1 раз на добу протягом 30 діб: щурам 3 групи внутрішньоочеревинно вводили корвітин у дозі 33,8 мг/кг в необхідній кількості фізіологічного розчину, тваринам 4 групи

внутрішньошлунково вводили леспенефрил, розчиняючи його в такій же кількості фізіологічного розчину. Тварини інтактною та контрольної груп внутрішньоочеревинно отримували фізіологічний розчин в еквівалентній кількості.

Для визначення функціонального стану нирок та ступеня патологічних змін в організмі на 120 добу експерименту у щурів визначали добовий та відносний діурез, після чого їх негайно виводили з досліду з метою отримання сироватки крові та тканини нирок для біохімічних досліджень. У зібраній сечі визначали вміст білка та досліджували сечовий осад [7]. Далі визначали вміст креатиніну у крові та сечі загальноприйнятими методами [5] та розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) та канальцеву реабсорбцію (КР) за допомогою наступних формул:

$$\begin{aligned} \text{ШКФ} &= U_{\text{Cr}} \cdot V / P_{\text{Cr}}, \\ \text{КР} &= (1 - P_{\text{Cr}} / U_{\text{Cr}}) \cdot 100\%, \end{aligned}$$

де: U_{Cr} — концентрація креатиніну в сечі;

P_{Cr} — концентрація креатиніну в плазмі крові;

V — добова кількість сечі.

Інтенсивність деструктивних процесів оцінювали за вмістом ендogenous N-ацетилглюкозаміну (N-ацГА) в гомогенаті нирок, а також його загальної, вільної та зв’язаної фракцій в сироватці крові. Для цього використовували метод, заснований на взаємодії гексозаміну з реактивом Ерліха у спиртовому середовищі відповідно до нашої модифікації [4].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою комп’ютерних програм методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента та непараметричних методів аналізу [12].

Результати та їх обговорення

Спостереження за загальним станом та поведінкою тварин показало, що перші клінічні ознаки захворювання були відмічені через місяць після відтворення патології і значно посилювались піс-

ля повторного введення імунізуючої суміші. На третій місяць розвитку патології тварини були кволими, малорухливими, з погіршенням волосяного покриву, не з’їдали денну норму їжі, з вираженими проявами асцити та набряків на мордочках, що може пояснюватись затримкою рідини в організмі під впливом набрякових процесів, пов’язаних з гіпоальбумінемією.

У табл. 1 наведені деякі показники функціонального стану нирок під впливом експериментального лікування на 120 добу експерименту. Важливим показником для гломерулонефриту при розвитку ХНН є відносний діурез, оскільки він демонструє процеси затримки рідини в організмі тварини. Так, у тварин контрольної групи протягом всього досліду було відмічено вірогідне зменшення відносного діурезу у порівнянні з інтактними тваринами. При використанні кверцетину для лікування щурів показники відносного діурезу були вірогідно більшими за показники тварин з контрольною патологією, але не перевищували їх у групі тварин, які отримували референс-препарат.

Основним і найчутливішим показником функціонального стану ниркового фільтра є рівень протеїнури. У щурів з контрольною патологією було відмічено високу протеїнурію (до 144 мг/добу) (табл. 1). У всіх інших дослідних групах цей показник протягом дослідження був вірогідно меншим, ніж у контрольних тварин, особливо у 3 групі, де під впливом кверцетину було відзначено найменший рівень протеїнуриї, приблизно 63 мг/добу, що в 2,3 рази менше, ніж у групі контрольної патології, а також менше, ніж у щурів, які отримували референс-препарат “Леспенефрил”.

Певна динаміка змін спостерігалась у показниках гломерулярної фільтрації. У групі контрольної патології показник ШКФ був майже в 4 рази менший, ніж у інтактних тварин. На відміну від цього у тварин, яких лікували кверцетином, показники ШКФ хоча й були нижчими за інтакт,

Таблиця 1

Динаміка деяких показників функціонального стану нирок щурів з гломерулонефритом та нирковою недостатністю під впливом експериментальної терапії (n=40)

Умови досліджу	Діурез, мл/добу	Відносний діурез, %	Протеїнурія, мг/добу	ШКФ, мл/добу	КР, %
1 група (інтактний контроль)	7,57±0,17	50,53±0,47	2,13±0,56	401,1±15,2	98,10±0,05
2 група (контрольна патологія)	4,33±0,43*	35,99±3,7*	144,0±20,10*	101,5±11,7*	95,71±0,10*
3 група (кверцетин)	6,01±0,30**/**	45,17±1,87**	63,28±9,41**	260,9±17,9**	97,66±0,10**/**
4 група (леспенефрил)	8,34±0,51**	53,75±2,17**	79,47±9,88**	228,2±18,5**	96,20±0,40*

Примітки:

- 1) * — $p \leq 0,05$ відносно інтактних тварин;
- 2) ** — $p \leq 0,05$ відносно групи контрольної патології;
- 3) *** — $p \leq 0,05$ відносно тварин, які отримували препарат порівняння "Леспенефрил".

але були у 3 рази вищими, ніж у тварин з групи контрольної патології протягом експерименту. Це можна пояснити посиленням внутрішньоклубочкової гемодинаміки під впливом даного засобу. Слід відмітити, що у референс-препарату показник ШКФ був вірогідно вищим за такий у тварин групи контрольної патології, але нижчим, ніж у тварин 3 групи.

Також у групі контрольної патології спостерігалось значне зниження показника КР, що свідчить про пошкодження каналцевого апарату нирок. При застосуванні кверцетину відбувалось вірогідне підвищення рівня КР, яке також було виражено більше ніж під впливом препарату порівняння "Леспенефрину", з яким відмінності були маловірогідними.

У якості показника інтенсивності перебігу деструктивних процесів у нирках використовували вміст ендogenous N-ацГА у гомогенаті нирок, а також його загальної, вільної та зв'язаної фракцій у сироватці крові (табл. 2). Ці показники хоча і не є специфічними, але є достатньо інформативними для відображення процесів пошкодження структур ниркового фільтра та ефективності їх фармакотерапії [4]. Аналіз експериментальних даних показує, що протягом дослідження у щурів з ХНН було відмічено значне підвищення у порівнянні з інтактними тваринами (приблизно в 2 рази) рівня загального та зв'язаного N-ацГА у сироватці крові та зниження вільної фракції, а також його вмісту у паренхімі нирок. Ця ситуація пояснюється де-

струкцією під впливом запальних процесів мембранних структур нирок, що містять велику кількість глікопротеїнів і глікозаміногліканів, до складу яких у свою чергу входить ендogenous N-ацГА, та масовим виходом цих речовин у судинне русло [4]. Під впливом кверцетину відбувалось вірогідне підвищення вмісту N-ацГА у нирковій тканині (в 1,7 рази) та зниження його вмісту у сироватці крові, в першу чергу, за рахунок зв'язаної фракції. Це призвело до росту вмісту вільної фракції N-ацГА в 2,4 рази, що свідчить про зниження інтенсивності деструктивних процесів в організмі тварин, яке може бути охарактеризовано як наближення до рівня інтактних щурів. Подібна картина, але при значно меншому ступені проявів, спостерігається в 4 групі, де

Таблиця 2

Вміст ендogenous N-ацетилглюкозаміну у сироватці крові та паренхімі нирок щурів з гломерулонефритом та нирковою недостатністю під впливом експериментальної терапії (n=40)

Умови досліджу	Вміст ендogenous N-ацетилглюкозаміну			
	сироватка крові, ммоль/л			паренхіма нирок, мг/г
	загальний	зв'язаний	вільний	
1 група (інтактний контроль)	6,86±0,15	5,04±0,13	1,82±0,07	1,92±0,06
2 група (контрольна патологія)	13,96±0,37*	13,47±0,41*	0,50±0,13*	0,68±0,10*
3 група (кверцетин)	9,81±0,82**	8,62±0,78**	1,18±0,08**/**	1,10±0,11**/**
4 група (леспенефрил)	11,47±0,96**	10,66±0,95**	0,80±0,13*	0,72±0,10*

Примітки:

- 1) * — $p \leq 0,05$ відносно інтактної групи;
- 2) ** — $p \leq 0,05$ відносно групи контрольної патології;
- 3) *** — $p \leq 0,05$ відносно тварин, які отримували референс-препарат "Леспенефрил".

леспенефрил чинить помірний позитивний вплив, знижуючи інтенсивність деструкції у нирковій тканині, але за рівнем впливу на ці показники поступається кверцетину.

Таким чином, при використанні кверцетину у парентеральній формі для лікування лабораторних тварин з нирковою недостатністю на тлі аутоімунного гломерулонефриту відбувається не тільки зниження проявів нефротич-

ного та набрякового синдромів, але й покращення функціонального стану нирок шурів та зниження інтенсивності процесів деструкції у нирковій тканині, що обумовлює загальний позитивний вплив препарату на перебіг захворювання.

ВИСНОВКИ

1. В умовах розвитку у шурів ХНН на тлі аутоімунного гломерулонефриту при застосуванні парентеральної форми кверцетину

відбувається зниження проявів нефротичного та набрякового синдромів, покращення функціонального стану нирок та зниження інтенсивності деструктивних процесів у нирковій тканині.

2. За впливом на показники функціонального стану нирок шурів з ХНН кверцетин при парентеральному введенні не поступається референс-препарату "Леспенефрил", а за деякими показниками навіть перевищує його.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вихерт А.М., Соколова И.Р., Быковская Н.К. // *Архив патол.* — 1973. — Т. 35, №11. — С. 15-21.
2. *Доклинические исследования лекарственных средств: Метод. рекоменд.* / Под ред. А.В. Стефанова. — К: Авиценна, 2002. — 528 с.
3. Дудар І., Величко М. // *Ліки України.* — 2004. — №7-8. — С. 26-32.
4. Зупанец І.А., Шебеко С.К. // *Експерим. и клин. фармакол.* — 2006. — Т. 69, №6. — С. 40-42.
5. Зупанець І.А., Шебеко С.К., Харченко Д.С. // *Фармакол. та лікарська токсикол.* — 2009. — №1 (8). — С. 28-33.
6. Зупанець І.А., Москаленко В.Ф., Місюрьова С.В. та ін. *Клінічні лабораторні методи дослідження: Навч. посіб.* / За ред. І.А. Зупанця, В.Ф. Москаленка. — Х.: Вид-во НФАУ; Золоті сторінки, 2001. — 178 с.
7. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справочник: В 2-х т. Т. 1.* — 2-е изд. — Мн: Интерпрессервис, 2003. — 495 с.
8. Ковалев В.Б., Ковган В.В., Колчина Е.Ю. // *Укр. мед. альманах.* — 1999. — Т. 2, №4. — С. 176-182.
9. Кучма І.Л. // *Therapia.* — 2006. — № 6. — С. 25-29.
10. Максютіна М., Пилипчук Л., Безпалько Л., Шаламай А. // *Вісник фармакол. та фармації.* — 2007. — №5. — С. 31-37.
11. Оспанова Т.С., Семидоцька Ж.Д., Халанський О.А. // *Ліки.* — 1996. — №5-6. — С. 19-26.
12. Реброва О.Ю. *Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA.* — 3-е изд. — М.: МедиаСфера, 2006. — 312 с.
13. Смирнов А.В., Каюков И.Г., Есаян А.М. и др. // *Нефрол.* — 2004. — Т. 8, №3. — С. 7-14.
14. Ader P., Wessmann A., Wolffram S. et al. // *Free Radic. Biol. Med.* — 2000. — Vol. 28. — P. 1056-1067.
15. Alousi M.A., Heymann W. // *Am. J. Pathol.* — 1969. — Vol. 54, №1. — P. 47-71.
16. Garcia-Saura M.F., Galisteo M., Villar I.C. et al. // *Mol. and Cell. Biochem.* — 2005. — Vol. 270 (1-2). — P. 147-155.
17. Inal M., Altinisik M., Bilgin M.D. et al. // *Cell Biochem. and Function.* — 2002. — Vol. 20 (4). — P. 291-296.
18. Schieppfti A., Perico N., Remuzzi G. et al. // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 2003. — Vol. 18, №5. — P. 858-859.

Адреса для листування: 61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 27. Тел. (057) 706-30-72. Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 01.04.2009 р.