Міністерство охорони здоров’я України
Національний фармацевтичний університет

МОНАТКО КАТЕРИНА ВІТАЛІЇВНА

УДК 615.453.2:582.681.71:615.015.4

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ДОСЛІДЖЕННЯ НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ ЛІОФІЛЬНОГО ПОРОШКУ КАВУНА

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата
фармацевтичних наук

Харків – 2014

Дисертацією є рукопис.
Робота виконана на кафедрі загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпропетровськ)

Науковий керівник: доктор фармацевтичних наук, професор,
ПОДПЛЕТНЯ Олена Анатоліївна
ДЗ «Дніпропетровська медична академія
МОЗ України» (м. Дніпропетровськ)
завідувач кафедри загальної
та клінічної фармації

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

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

Захист відбудеться «____» _____ 2014 р. о ____ 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 ознайомитись у бібліотеці Національного фармацевтичного університету (61168, м. Харків, вул. Блюхера, 4).

Автореферат розісланий «____» _____ 2014 р.

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

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Частота гострої ниркової недостатності (ГНН) на теперішній час досягає 200 випадків на 1 млн населення, при цьому 50% хворих потребують гемодіалізу. Нерідко ГНН переходить у хронічну стадію. На сьогодні 60 млн людей у світі страждають на хронічні хвороби нирок і є потенційними пацієнтами на лікування замісною терапією (Barsoum R.S., 2012; McClellan A.C., 2012). Нефротоксичний вплив мають отруйні гриби і деякі лікарські препарати, насамперед аміноглікозиди, застосування яких у 5-20% випадків ускладнюється помірною ГНН. У 6-8% всіх випадків ГНН розвивається на фоні застосування нестероїдних протизапальних препаратів (Nelson P.J., 2011; Zaza G., 2012; D'Agati V.D., 2012; Greka A., 2012). Несприятливі фактори екології, неякісна питна вода можуть спровокувати формування уролітіазу і нефрокальцинозу в нирках (Sharma A.P., 2010; Basiri A., 2011; Habbig S., 2011; Monico C.G., 2011).

На сучасному фармацевтичному ринку України нараховується небагато лікарських засобів з нефропротекторною дією. До них належать «Канефрон Н», «Леспенефрил», «Урохол», «Уролесан», «Фітолізин».

Сьогодні існує необхідність у нефропротекторних лікарських засобах, які здатні покращити ниркові функції, поліпшити прогноз при хронічній хворобі нирок та зменшити пошкоджуючий вплив нефротоксичних факторів. Для підвищення ефективності лікування захворювань нирок рекомендується використання фітотерапії (Бойко А.И., 2013). Лікарські рослини поєднують у собі сечогінні, протизапальні, протимікробні, спазмолітичні властивості, що особливо цінно при захворюваннях сечовидільної системи; сприяють поліпшенню кровообігу в нирках і збільшенню швидкості фільтрації сечі, зменшенню зворотного всмоктування солей у канальцях. Фітотерапія може використовуватись у ряді випадків, коли відсутні ознаки гострого процесу, а також для профілактики рецидивів хвороби при її хронічному перебігу (Чистик Т.А., 2013).

У цьому аспекті увагу дослідників привертає кавун звичайний (Citrúllus lanátus) сімейства Гарбузові (Cucurbitaceae), який здавна широко використовувався у традиційній фітотерапії. Кавун має діуретичні, антиоксидантні, протизапальні, антисептичні, літолітичні властивості (Duke J.A., 1985). Тому дослідження нефропротекторної дії ліофільного порошку м'якоті кавуна (ЛПК) є одним з перспективних напрямів фармації.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана відповідно до плану науково-дослідних робіт ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» в рамках теми 0111 U 008124 «Фармакологічний аналіз дії лікарських засобів природного походження».

Мета і задачі дослідження. *Мета* роботи – експериментально обґрунтувати доцільність створення нового нефропротекторного препарату на основі ЛПК, визначити можливі механізми його діуретичної та нефропротекторної дії.

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

1. З'ясувати особливості впливу ЛПК на функціонування нирок в інтактних тварин.
2. Дослідити нефропротекторну активність ЛПК на стан видільної функції нирок в умовах етиленгліколевої гострої ниркової недостатності, міоглобінуричної гострої ниркової недостатності, гентаміцинової та доксорубіцинової нефропатії.
3. Визначити вплив ЛПК на перебіг експериментального нефролітіазу, індукованого введенням етиленгліколю.

4. Дослідити протизапальну активність ЛПК на експериментальних моделях з використанням різних флогогенів (карагеніну, формаліну, зимозану).
5. З'ясувати антибактеріальну активність ЛПК методом дифузії в агар.
6. Оцінити рівень безпеки ЛПК при гострому та хронічному введенні щурам.

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

Предмет дослідження: діуретична, нефропротекторна, протизапальна, літолітична, антибактеріальна дія ЛПК.

Методи дослідження. Фармакологічні, токсикологічні, фізіологічні, біохімічні, гістологічні методи дослідження та методи математичної статистики.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше проведено експериментальне обґрунтування доцільності створення нового нефропротекторного препарату на основі ЛПК, визначено можливі механізми його діуретичної та нефропротекторної дії. Вперше в умовах експерименту проведено дослідження впливу ЛПК на видільну функцію нирок (ВФН) інтактних тварин. Встановлено, що ЛПК виявляє дозозалежну діуретичну, салуретичну та урикозуричну дію. Вперше вивчено дію ЛПК на перебіг експериментальної ниркової недостатності (на моделях етиленгліколевої, міоглобінуричної ГНН та гентаміцинової, доксорубіцинової нефропатії). Доведено, що ЛПК виявляє нефропротекторну та антиоксидантну дію в умовах ураження нирок нефротоксинами. Вперше проведено оцінку впливу ліофільного порошку м'якоті кавуна на перебіг експериментального нефролітіазу. Встановлено, що ЛПК має літолітичні властивості. За результатами досліджень вперше доведено протизапальну, антимікробну дію ЛПК. Встановлено безпечність ЛПК при гострому та хронічному введенні.

Практичне значення одержаних результатів. Робота є експериментально-теоретичним дослідженням, яке демонструє нефропротекторну дію ЛПК. За результатами фармакологічних та токсикологічних досліджень ЛПК доведена його низька токсичність та ефективність при лікуванні експериментальної патології нирок. Результати роботи експериментально обґрунтовують доцільність використання фітопрепарату для коригування негативного впливу нефротоксинів. Запропоновано новий лікарський засіб для корекції експериментального нефролітіазу, що підтверджено інформаційним листом про нововведення у сфері охорони здоров'я «Використання ліофільного порошку м'якоті кавуна в корекції експериментального нефролітіазу» №49-2014 (2014). Результати дисертаційної роботи впроваджено в науково-педагогічний процес кафедр фармакології, клінічної фармакології та фармакоекономіки, медичної біології, фармакогнозії та ботаніки, загальної та клінічної фармації ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», фармакології Буковинського державного медичного університету, фармакогнозії, фармакології та ботаніки Запорізького державного медичного університету, фармакогнозії з медичною ботанікою ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України».

Особистий внесок здобувача. Дисертація є особистою науковою працею автора. Внесок дисертанта у її виконання полягає у визначенні мети і задач роботи разом з науковим керівником, самостійному проведенні патентно-інформаційного пошуку, експериментальних досліджень, наукового аналізу та інтерпретації отриманих результатів, формулюванні основних положень та висновків дисертації. Автором особисто проведена статистична обробка даних, підготовка наукових праць до пуб-

лікації, написання і технічне оформлення дисертації та автореферату. У працях опублікованих у співавторстві, викладено результати власних досліджень.

Проведення визначення антибактеріальної активності ЛПК виконано на кафедрі мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» за консультативної допомоги к.мед.н. І.П. Кошової. Проведення морфологічних досліджень зразків тканин нирок виконано за консультативної допомоги лікаря-патологоанатома вищої категорії відділу патологічної анатомії КЗ «Міська багатопрофільна клінічна лікарня №4 ДОР» у м. Дніпропетровськ К.В. Циганкова.

Апробація результатів дисертації. Основні положення дисертації оприлюднені на IV Національному з'їзді фармакологів України (Київ, 2011); Міжнародній науково-практичній конференції «Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини» (Львів, 2012); Міжнародній науково-практичній конференції «Охорона та захист здоров'я людини в сучасних умовах» (Одеса, 2012); Міжнародній інтернет-конференції молодих вчених «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки» (Запорожье, 2012); Міжнародній науково-практичній конференції «Медичні науки: проблеми та досягнення сучасних наукових досліджень» (Київ, 2012); Науково-практичній конференції з міжнародною участю «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок» (Чернівці, 2012); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання експериментальної, клінічної медицини та фармації» (Луганськ, 2012); Національному конгресі «Людина та ліки – Україна» (Київ, 2013).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 18 наукових робіт, з них 4 статті – у фахових журналах, рекомендованих МОН України, 1 – у закордонному журналі, 9 тез у матеріалах з'їздів, конгресів, науково-практичних заходів, видано 1 інформаційний лист.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота викладена на 202 сторінках друкованого тексту, складається зі вступу, огляду літератури, опису матеріалів та методів дослідження, чотирьох розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків та списку використаних джерел, що включає 352 роботи (з них 91 – кирилицею, 261 - латиницею). Роботу проілюстровано 33 таблицями, 54 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Досліджено стандартизований ліофільний порошок м'якоті кавуна, отриманий у Тернопільському державному медичному університеті ім. І.Я. Горбачевського, під керівництвом д.фарм.н., проф. Л.В. Соколової, якою розроблено та апробовано технологію отримання ліофільного порошку м'якоті кавуна методом сублімації захищеної патентом України на корисну модель № 43236 (2009 р.). Як препарати порівняння були обрані: «Канефрон Н» («Bionorica CE», Німеччина), диклофенак натрію (ПАТ «Київський вітамінний завод», Україна).

Фармакологічні дослідження проведено на 73 білих мишах обох статей масою 23,8±0,6 г та 628 білих щурах (лінії Wistar) масою 203,4±1,9 г, які знаходились у стандартних умовах віварію ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України». Додержувались правил гуманного поводження з тваринами, прийнятих Європейською

конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для експериментальних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986), що засвідчено висновком комісії з біоетики ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол №13 від 17.10.2012 р.).

Скринінг доз-лідерів ЛПК за діуретичною та урикозуричною активністю проводили на інтактних щурах. Дослідженню підлягали дози ЛПК 50, 100, 150, 250, 500, 750, 1000, 1500 мг/кг та референс-препарат «Канефрон Н» у дозі 27 мг/кг, які вводили внутрішньошлунково щоденно одноразово. Оцінювали ВФН за умов спонтанного добового діурезу та водного навантаження (Берхин Е.Б., Иванов Ю.И., 1972) при одноразовому та курсовому (7 діб) введенні препаратів. Скринінг нефропротекторної активності проводили на моделі етиленгліколевої ГНН у мишей (10 мл/кг підшкірно одноразово). Оцінювали виживаність тварин протягом тижня (Штриголь С.Ю., Лісовий В.М., Зупанець І.А. та співавт., 2009). Поглиблений аналіз впливу ефективної дози ЛПК на стан видільної функції нирок (ВФН) у щурів оцінювали на 4 різних за патогенезом моделях ураження нирок відповідно до методичних рекомендацій «Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень» ДФЦ МОЗ України (Штриголь С.Ю., Лісовий В.М., Зупанець І.А. та співавт., 2009). Етиленгліколеву ГНН викликали підшкірним введенням етиленгліколю в дозі 6 мл/кг. Міоглобінуричну ГНН спричиняли внутрішньом'язовим введенням 50% водного розчину гліцерину в дозі 8 мл/кг. Гентаміцинову нефропатію викликали щоденним внутрішньом'язовим введенням гентаміцину сульфату в дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом 7 діб. Доксорубіцинову нефропатію відтворювали шляхом внутрішньочеревного введення доксорубіцину в дозі 10 мг/кг і концентрації 1 мг/мл у фізіологічному розчині.

Протизапальну дію ЛПК вивчали на моделі гострого асептичного запалення кінцівки, спричиненого субплантарним введенням 0,05 мл 1% розчину карагеніну, 0,1 мл 2% розчину формаліну та 2% суспензії зимозану (Стефанов О.В., 2002).

Моделювання оксалатного нефролітіазу здійснювали згідно з етіленгліколевою моделлю (Жариков А.Ю., 2008). Через кожні 7 днів впродовж 6 тижнів щурів поміщали в обмінні клітки для добового збирання сечі. Дослід розподілили на 2 етапи. Перший етап полягав у дослідженні профілактичної дії препаратів, другий – лікувальної дії. На першому етапі досліджувані препарати вводили з першого дня введення етиленгліколю. На другому етапі тварини отримували впродовж перших 3-х тижнів етиленгліколь, починаючи з 3 тижня експерименту щурам уводили ЛПК (150 мг/кг, 250 мг/кг) або «Канефрон Н» (27 мг/кг).

Дослідження токсикологічних характеристик ЛПК виконували згідно з методичними рекомендаціями щодо експериментального вивчення токсичної дії потенційних лікарських засобів (Стефанов О.В., 2002).

В усіх серіях дослідів з поглибленого вивчення нефропротекторної активності ЛПК визначали стан ВФН, морфологічні зміни в нирках, в окремих серіях – оцінювали показники пероксидного окиснення ліпідів. Біохімічному дослідженню підлягали плазма крові, сеча, гомогенати нирок.

Біохімічні дослідження плазми крові, сечі, гомогенатів нирок проводили за допомогою стандартних тест-наборів НПВ «Філісіт-Діагностика» (Україна) згідно із загальноприйнятими методиками (Тиц Н.У., 1997). Визначали вміст загального білка, креатиніну, сечовини, сечової кислоти, натрію, калію; в окремих серіях дослідів -

вміст кальцію та загального фосфору, активність лактатдегідрогенази, лужної фосфатази, γ-глутамілтрансферази. Визначали активність супероксиддисмутази (Чеварі С. та співавт., 1988), каталази (Королюк М.А., 1988), вміст дієнових кон'югатів (Коган В.С., 1988) та ТБК-реактивних продуктів (Андреева Л.И., 1988). Розраховували швидкість клубочкової фільтрації, реабсорбцію натрію та води, кліренс сечовини, екскрецію креатиніну, білка, натрію, калію, сечовини, сечової кислоти, кальцію, фосфору (Берхин Е.Б., Иванов Ю.И., 1972). Гематологічний аналіз здійснено стандартними методами (Камышников В.С., 2004).

Морфологічні дослідження здійснено стандартними методами світлової мікроскопії (фарбуванням препаратів гематоксиліном та еозином, імпрегнацією сріблом за гістохімічним методом Коса, мікрофотографуванням гістологічних препаратів під мікроскопом Zeiss "Primo Star" фотокамерою DCM 500). Визначали кількість та розміри кальцієвих депозитів у ниркових тканинах за допомогою морфометричної лінійки ОМОУ4.2 ГОСТ 7513-75, ціна поділки 0,01мм, ЛОМО (Стефанов О.В., 2002).

Статистичну обробку результатів проводили для середніх величин за t-критерієм Ст'юдента, для відносних величин – за кутовим перетворенням Фішера (φ). Зміни вважали статистично значущими при $p<0,05$ (Юнкеров В.И., 2002; Реброва О.Ю., 2002).

Результати та їх обговорення. На першому етапі дослідження важливо було провести *скринінг доз-лідерів ЛПК за діуретичною та урикозуричною активністю*. Встановлено, що ЛПК виявляє дозозалежну діуретичну дію, що підтверджено в умовах водного навантаження та спонтанного сечовиділення при одноразовому та курсовому введенні. У реалізації діуретичної дії важлива роль відводиться біологічно активним речовинам ЛПК. З літератури відомо, що ЛПК містить 812 мкг агрініну на 100 г порошку (Соколова Л.В., 2011), також є природним джерелом L-цитруліну (Rimando A.M., 2005; Collins J.K., 2007), кверцетину, ціанідину (Jiménez-Ferrer E., 2012). Цілком ймовірно, що зміни опосередковані вивільненням оксиду азоту (Klahr S., 2004; De Pascual-Teresa S., 2010), який розширює судини нирок за рахунок збільшення фільтрації та реалізує сечогінний ефект (Alarcón-Alonso J., 2012), попереджує ендотеліальну дисфункцію (Serraino I., 2003; Xu J.W., 2004). Ренальні ефекти оксиду азоту частково здійснюються шляхом взаємодії з ренін-ангіотензиновою системою та іншими біорегуляторами функцій нирок (Baylis C., 2008; Ohkita M., 2008).

В умовах спонтанного сечовиділення високі дози ЛПК виявляють менш виразний ефект. Найвиразнішу діуретичну активність реєстрували при введенні ЛПК у дозі 150 мг/кг, ШКФ зростала, натрійурез збільшився на 273,5% ($p<0,05$) вже після одноразового введення та на 338,2% ($p<0,05$) після семидобового.

ЛПК в дозі 250 мг/кг збільшував кліренс сечовини після одноразового введення на 235,9% ($p<0,05$), на сьому добу цей показник становив 63,44% ($p<0,05$). При введенні меншої дози ЛПК (150 мг/кг) на 1 та 7 добу кліренс становив 183,2% ($p<0,05$) та 102,8% ($p<0,05$) відповідно відносно контролю. Збільшення кліренсу сечовини свідчить про високу екскреторну здатність нирок. Достовірне збільшення екскреції сечової кислоти в дослідних групах свідчить про виражені урикозуричні властивості ЛПК.

В умовах водного навантаження найбільшу ефективність при одноразовому введенні виявила доза 150 мг/кг, яка за 2 години підвищувала діурез у інтактних тварин на 48,5% ($p<0,05$) і посилювала ШКФ (на 29,1%, $p<0,05$). При цьому виражено зростала екскреція натрію (на 223,4%, $p<0,05$) та калію (на 147,4%, $p<0,05$). Курсо-

ве введення ЛПК в дозі 150 мг/кг достовірно збільшувало порівняно з контролем діурез (на 44,4%, p<0,05) та ШКФ (на 37,9% p<0,05). Достовірне збільшення натрійурезу зберігалось при курсовому введенні на 166,7% (p<0,05), екскреція калію підвищилась несуттєво. Під впливом ЛПК в дозі 150 мг/кг та 250 мг/кг спостерігали достовірне збільшення екскреції сечової кислоти. Ймовірно, надходження аргініну та цитруліну у складі ЛПК веде до надлишкового утворення продуктів циклу сечовини, тому їх показники у плазмі крові та екскреція достовірно зростають.

Отже, у ході скринінгового дослідження виявили перспективні для подальших досліджень дози ЛПК – 150 мг/кг та 250 мг/кг, які поряд із потужними діуретичними та салуретичними властивостями виявляють виражену урикозуричну дію.

Нефропротекторна активність ЛПК. В умовах етиленгліколевої інтоксикації виживаність мишей у першу добу під впливом ЛПК в дозі 150 мг/кг та 250 мг/кг становила 25% (p<0,05) та 37,5% (p<0,05) відповідно, «Канефрону Н» – 37,5% (p<0,05). З 2-ї по 7-му добу виживаність тварин в групі становила 12,5% для ЛПК (150 мг/кг, 250 мг/кг) та «Канефрону Н». Наступним етапом став аналіз впливу ЛПК на стан ВФН щурів за умов токсичного пошкодження нирок (табл. 1).

Таблиця 1

Ефективність ліофільного порошку м'якоті кавуна при ураженнях нирок різної етіології в експерименті (M±m, n=6-8)

Показник	Контроль	МП	МП+ ЛПК, 150 мг/кг	МП+ «Канефрон Н», 27 мг/кг
Етиленгліколева гостра ниркова недостатність				
ШКФ, мл/100 за хв	0,39±0,02	0,21±0,01*	0,40±0,01#	0,28±0,01*#
Креатинін плазми крові, мкмоль/л	57,6±0,5	175,6±9,2*	161,5±5,3*	134,3±3,1*#
Вміст білка в сечі, мг/мл	0,3±0,01	2,9±0,08*	1,3±0,07*#	1,0±0,08*#
Міоглобінурична гостра ниркова недостатність				
ШКФ, мл/100 за хв	0,39±0,02	0,12±0,01*	0,27±0,02*#	0,25±0,01*#
Креатинін плазми крові, мкмоль/л	57,6±0,5	115,0±4,0*	77,3±2,3*#	93,9±2,6*#
Вміст білка в сечі, мг/мл	0,3±0,01	1,3±0,03*	0,7±0,04*#	0,6±0,02*#
Гентаміцинова нефропатія				
ШКФ, мл/100 за хв	0,39±0,02	0,05±0,01*	0,16±0,01*#	0,10±0,01*#
Вміст калію в плазмі, ммоль/л	3,7±0,03	2,6±0,06*	3,9±0,14#	3,9±0,13#
Вміст білка в сечі, мг/мл	0,3±0,01	0,7±0,03*	0,5±0,02*#	0,4±0,02*#
Доксорубіцинова нефропатія				
ШКФ, мл/100 за хв	0,39±0,02	0,15±0,0*	0,31±0,02*#	0,32±0,03#
Креатинін плазми крові, мкмоль/л	57,6±0,5	107,7±2,3*	91,3±2,6*#	93,7±3,0*#
Вміст білка в сечі, мг/мл	0,3±0,01	0,73±0,04*	0,30±0,02#	0,33±0,02*#

Примітки:

1. * – достовірні зміни відносно контролю (p<0,05);
2. # – достовірні зміни відносно МП (p<0,05);
3. n – кількість тварин у групі.

Для подальшого дослідження було обрано дозу 150 мг/кг, яка виявляла виражені діуретичні та салуретичні властивості у здорових щурів, а також не поступалась дозі 250 мг/кг за нефропротекторним впливом. За етиленгліколевої ГНН «Канефрон Н» покращував ВФН. Однак зниження ШКФ та екскреції креатиніну свідчили про ушкодження канальців, погіршення роботи фільтрувального апарату нирки. На відміну від препарату порівняння, ЛПК в дозі 150 мг/кг збільшував діурез, ШКФ та пригнічував реабсорбцію води. У нирках щурів, на відміну від модельної патології (МП), були відсутні тромби в капілярах клубочків, спостерігалось помірне повнокров'я, нерівномірно розширений просвіт канальців (Рис. 1). Коефіцієнт маси нирок не відрізнявся від контролю. Ймовірно, захисна дія ЛПК в дозі 150 мг/кг в умовах етіленгліколевої інтоксикації відбувається завдяки цитопротекторному, мембраностабілізуючому та антиоксидантному ефекту ЛПК (Соколова Л.В., 2011), що відіграє важливу роль у корекції ГНН (Горошко О.М., 2009). Відомо, що α-токоферол захищає нирки від етанол-індукованого окисного ушкодження (Mailankot M., 2009). Каротиноїди, наявні в ЛПК, реалізують мембраностабілізуючу дію (Yemelyanov A.Y., 2001). L-аргінін при ГНН позитивно впливає на швидкість кровотоку в нирках та знижує утворення активних форм кисню (Klahr S., 2004).

На тлі лікування міоглобінуричної ГНН ЛПК та «Канефроном Н» діурез достовірно зростав. ШКФ у щурів, які отримували ЛПК, збільшувалась у 2,3 разу ($p<0,05$), на тлі введення «Канефрону Н» – у 2,1 разу ($p<0,05$) (табл. 1). ЛПК знижував креатинін в плазмі на 32,8% ($p<0,05$), «Канефрон Н» – на 18,3% ($p<0,05$) відносно МП, екскреція відновлювалась до значень контролю. ЛПК посилює екскрецію натрію в 1,5 разу ($p<0,05$) та у 3,5 разу ($p<0,05$) – екскрецію калію. На тлі «Канефрону Н» екскреція натрію зростає на 19,9% ($p<0,05$), екскреція калію – у 2,4 разу ($p<0,05$). Препарати посилюють виведення водного навантаження, зменшують реабсорбцію натрію та води.

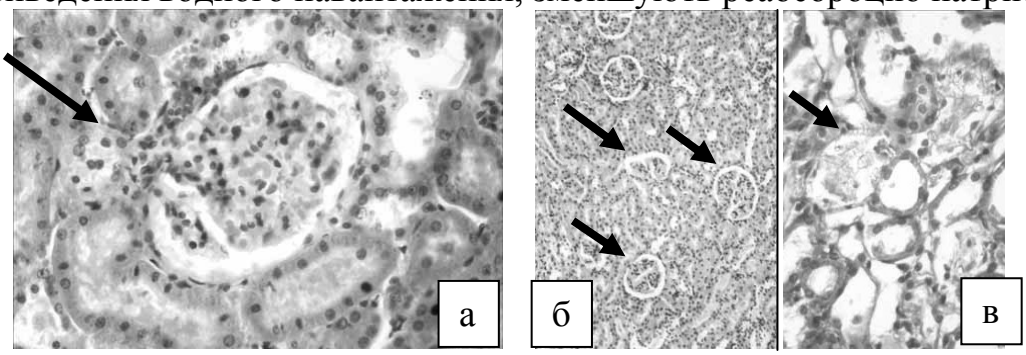

Рис. 1 Вплив ЛПК (150 мг/кг) та «Канефрону Н» (27 мг/кг) на гістоструктуру нирок щурів з етиленгліколевою гострою нирковою недостатністю.

Примітка. Препарат нирки: а) щура з МП (тромби в капілярах клубочка); б) щура з МП на тлі ЛПК (ділянки канальців з набряклим епітелієм, наявність в просвіті невеликої кількості білка, зб. × 100); в) щура з МП на тлі введення «Канефрону Н» (відкладення кристалів оксалату в просвіті дистальних канальців). Забарвлення гематоксиліном і еозином, зб. × 400.

З огляду на провідну роль процесів вільнорадикального окиснення у патогенезі міоглобінуричної ГНН (Лебедев А.А., 2002; Chander V., 2005; Горошко О.М., 2008; Штриголь С.Ю., 2009), цінним є позитивний вплив ЛПК і препарату порівняння на процеси антиоксидантного захисту щурів. У плазмі крові та гомогенатах ниркових

тканин під впливом досліджуваних препаратів збільшується активність СОД та каталази, рівень ДК та ТБК-реактантів знижується (рис. 3).

Нефропротекторна дія ЛПК в умовах міоглобінуричної ГНН підтверджена морфологічними дослідженнями (рис. 2). Відомо, що нефропротекторний ефект ЛПК на моделі міоглобінуричної ГНН реалізується за рахунок цитруліну, кверцетину та α-токоферолу. Цитрулін відновлює внутрішньониркові порушення оксигенації і нормалізує функції нирок, запобігає окисному ушкодженню, а також тяжким функціональним та морфологічним ушкодженням (Liu Y., 2013). Кверцетин за рахунок антиоксидантного потенціалу демонструє нефропротекторний ефект при експериментальному рабдоміолізі (Chander V., 2005).

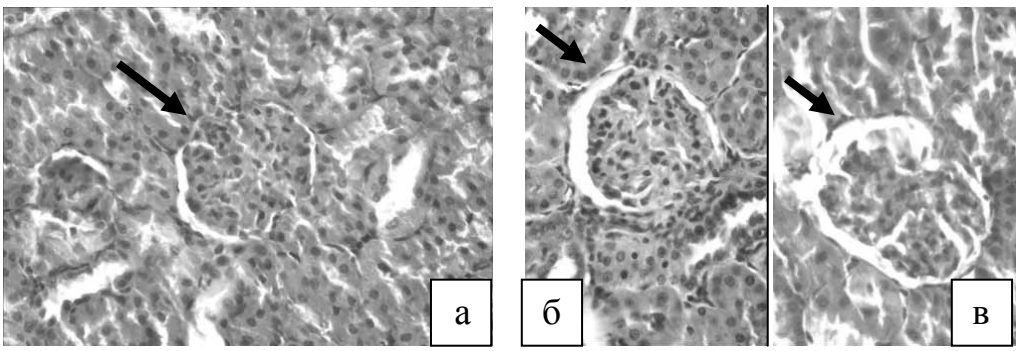

Рис. 2 Вплив ЛПК (150 мг/кг) та «Канефрону Н» (27 мг/кг) на гістоструктуру нирок щурів з гліцероловою гострою нирковою недостатністю.

Примітка. Препарат нирки: а) щура з МП (тромбоз капілярів клубочка); б) щура з МП на тлі ЛПК (недокрів'я клубочка); в) щура з МП на тлі «Канефрону Н» (недокрів'я і тромбоз капілярів клубочка). Забарвлення гематоксиліном і еозином, зб. × 400.

На моделі гентаміцинової нефропатії ЛПК та «Канефрон Н» знижували тяжкість порушень функцій нирок. Діурез достовірно збільшувався, відновлювалась ШКФ та реабсорбція води. ЛПК достовірно збільшував екскрецію натрію, знижував екскрецію калію, при цьому зберігав вміст калію у плазмі. ЛПК та «Канефрон Н» знижують вміст сечовини у плазмі, прискорюючи її екскрецію в 4 рази та 2 рази відповідно.

Курсове введення ЛПК та «Канефрону Н» попереджувало накопичення продуктів ПОЛ та посилювало антиоксидантний захист (рис. 3).

Динаміка показників екскреторної функції нирок щурів з гентаміциновою нефропатією на тлі ЛПК в дозі 150 мг/кг, свідчить, що препарат чинить виражену діуретичну дію, відновлює процеси фільтрації та реабсорбції, стимулює екскреторну здатність нирок. ЛПК нормалізує стан ВФН, відновлює ШКФ та канальцеву реабсорбцію. На тлі препарату гістологічно не відзначалось ознак спазму артеріол нирок (рис. 4).

Застосування аміноглікозидних антибіотиків призводить до зниження вмісту калію в плазмі. Вміст у хімічному складі ЛПК калію захищає нирки від ушкоджень гентаміцином, що пов'язано зі стимуляцією Na^+-K^+-АТФази в кірковому шарі нирок та зниженню вмісту гентаміцину, що накопичився в кортикальній тканині (Cronin R.E., 1991). Ймовірно, нефропротекторна дія ЛПК на моделі гентаміцинової нефропатії реалізується за рахунок аргініну, лікопіну, кверцетину, що виявляють нефропротекторні властивості, нормалізують ВФН та процеси ПОЛ в організмі тварин (Karahan I., 2005; Wu G., 2007; Abdel-Raheem I.T., 2009).

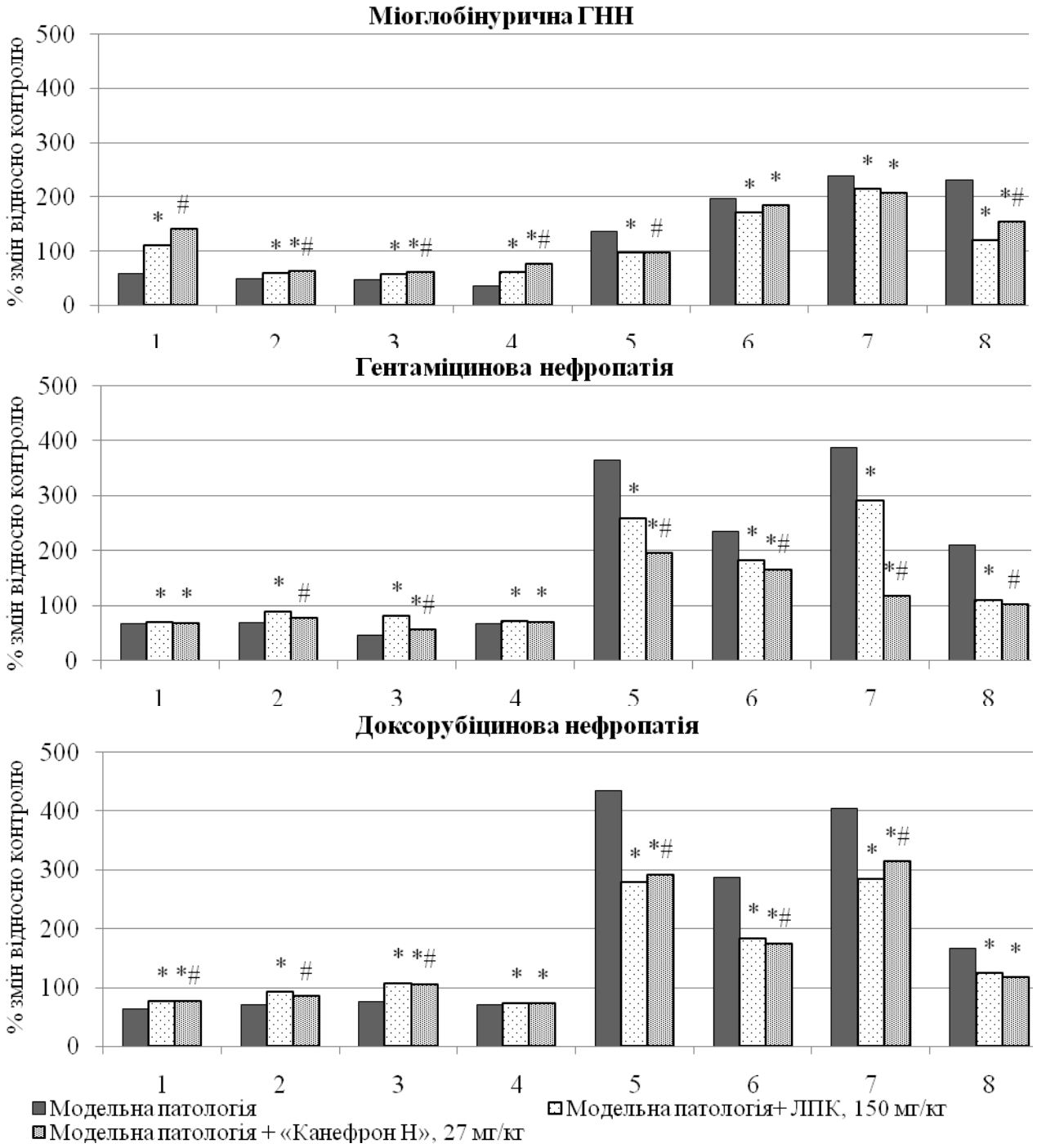

Рис. 3 Порівняльний вплив ЛПК та «Канефрону Н» на прооксидантно-антиоксидантний баланс в плазмі та гомогенатах ниркових тканин на моделях міоглобінуричної гострої ниркової недостатності, гентаміцинової та доксорубіцинової нефропатії.

Примітка. Дані наведені у % відносно контролю; 1 – активність супероксиддисмутази в плазмі, %; 2 – активність супероксиддисмутази в гомогенаті нирок, %; 3 – активність каталази в плазмі, %; 4 – активність каталази в гомогенаті нирок, %; 5 – вміст дієнових кон'югатів у плазмі, %; 6 – вміст дієнових кон'югатів у гомогенаті нирок, %; 7 – вміст тіобарбітурат-реактантів у плазмі, %; 8 – вміст тіобарбітурат-реактантів у гомогентаті нирок, %; * – достовірні зміни відносно контролю ($p<0,05$); # – достовірні зміни відносно МП ($p<0,05$).

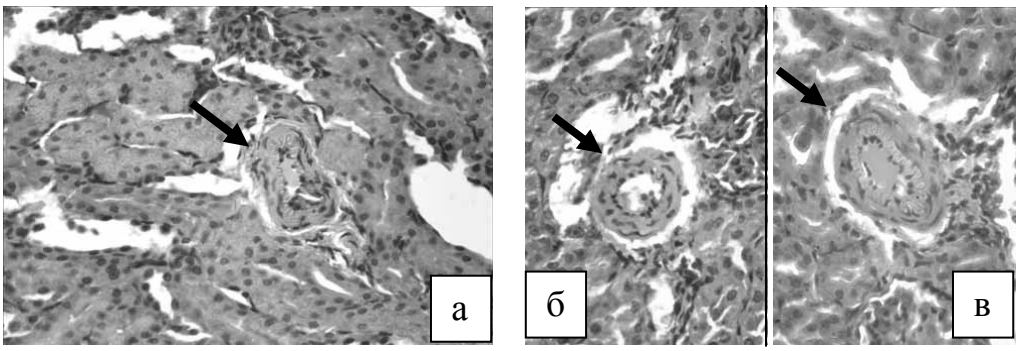

Рис. 4 Вплив ЛПК (150 мг/кг) та «Канефрону Н» (27 мг/кг) на гістоструктуру нирок щурів з гентаміциновою нефропатією.

Примітка. Препарат нирки: а) щура з МП (артеріолоспазм, зерниста і гіаліново-краплинна дистрофія епітелію канальців); б) щура з МП на тлі ЛПК (артеріола без ознак спазму, зерниста і гіаліново-краплинна дистрофія епітелію канальців); в) щура з МП на тлі «Канефрону Н» (артеріолоспазм, зерниста дистрофія епітелію канальців). Забарвлення гематоксиліном і еозином, зб. × 400.

Захисна дія ЛПК підтверджена на моделі доксорубіцинової нефропатії. На тлі ЛПК діурез відновлювався, як і ШКФ, реабсорбція натрію та води. ЛПК попереджував розвиток гіперазотемії, екскреція креатиніну та сечовини збільшувалась, при цьому знижувався показник протеїнурії. Аналогічну дію виявив референс-препарат.

ЛПК та «Канефрон Н» знижували вміст продуктів ПОЛ і підвищували активність антиоксидантних ферментів (рис. 3). На тлі введення ЛПК ознак тромбозу артеріол та вогнищевого інтерстиційного нефриту, як у групі МП, не виявилось (рис. 5).

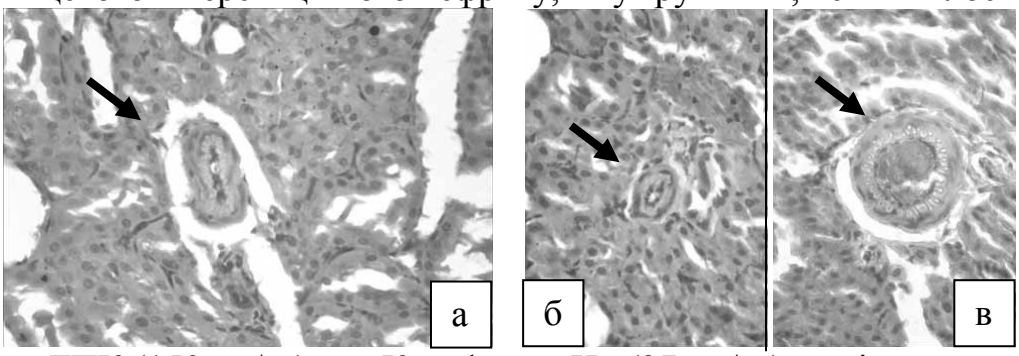

Рис. 5 Вплив ЛПК (150 мг/кг) та «Канефрону Н» (27 мг/кг) на гістоструктуру нирок щурів з доксорубіциновою нефропатією.

Примітка. Препарат нирки: а) щура з МП (артеріолоспазм, зерниста дистрофія епітелію канальців); б) щура з МП на тлі ЛПК (артеріолоспазм, розширена венула, зерниста дистрофія епітелію канальців; в) щура з МП на тлі «Канефрону Н» (тромбоз артеріоли на тлі спазму). Забарвлення гематоксиліном і еозином, зб. × 400.

Важливою характеристикою, спільною для фітонутрієнтів, що містяться в ЛПК, є їх антиоксидантна здатність (Block G., 1994; Hennekens C.H., 1994; Ланкин В.З., 1999; Зенков Н.К., 2001). Нефропротекторна акивність ЛПК на моделі доксорубіцинової нефропатії реалізується за рахунок антиоксидантів кверцетину, β-ситостеролу, каротиноїдів. За даними літератури відомо, що кверцетин при доксорубіціновой нефропатії сприяє відновленню ШКФ, знижує альбумінурію, азот сечовини крові, сечової кислоти, ТБК-реактантів, СОД, азоту сечовини і креатиніну в сечі (Peng C.C., 2012). β-ситостерол зменшує ушкодження ДНК, знижує рівень вільних радикалів у клітинах

і підвищує активність антиоксидантних ферментів (Wu G., 2007; R. Paniagua-Pérez, 2008). Каротиноїди мають високу неспецифічну реакційну здатність з'єднуватись з вільними радикалами (Ames B.N., 1993; Зенков Н.К., 2001).

Отримані результати свідчать про перспективність використання ЛПК в дозі 150 мг/кг при ураженнях нирок різної етіології. Досліджуваний препарат відновлює ВФН, покращує ШКФ, реабсорбцію натрію та води, нормалізує макро- та мікроскопічну картину нирок. Завдяки антиоксидантним властивостям відновлює прооксидантно-антиоксидантний баланс у плазмі крові та нирках, чинить нефропротекторну дію, яка за силою не поступається препарату порівняння «Канефрон Н».

Оцінка протизапальної, антимікробної та уролітолітичної дії ЛПК. Запальні захворювання сечовивідних шляхів нерідко викликають розвиток сечокам'яної хвороби та можуть супроводжуватись бактеріальною інфекцією. Метою експерименту стало дослідження протизапальних властивостей ЛПК, що може мати цінність для попередження розвитку нефролітіазу та його лікування.

Результати дослідів свідчать про значну антиексудативну дію ЛПК в дозі 150 мг/кг на моделі карагенінового набряку стоп у щурів. Одержані результати мають цінність для забезпечення нефропротекторної дії. Протизапальна активність ЛПК реалізується завдяки наявності в хімічному складі флавоноїдів (Küpeli E., 2007) та каротиноїдів (Halevy O., 1987; Santos M.S., 1998).

При формаліновому набряку ЛПК, як і препарат порівняння, продемонстрував достатньо виразні антиексудативні властивості, які пов'язані, ймовірно, зі збереженням структурної цілісності мембрани та зменшення судинної проникності.

Наші дослідження показали, що введення флогогену зимозану контрольній групі тварин призводило до вірогідного збільшення об'єму кінцівки щурів в 1,9 разу на 3 год. експерименту. Зимозан сприяє утворенню та виділенню лейкотрієнів, тому провокує локальну гостру запальну реакцію (D'Agati V.D., 2012). Через 3 год ЛПК та диклофенак натрію вірогідно зменшували набряк відносно вихідного стану лише у 1,4 та 1,3 разу відповідно. За силою дії ЛПК поступається диклофенаку натрію, але перевищує «Канефрон Н». Антиексудативна дія ЛПК на моделі зимозанового набряку свідчить про наявність антиліпоксигеназного компонента в механізмі його дії.

Наявність у хімічному складі ЛПК β-каротину, кверцетину, ціанідину, що виявляють пригнічуючий вплив на ферменти ЦОГ та ЛОГ, пояснює протизапальні властивості ЛПК. Кверцетин гальмує вивільнення гістаміну з базофілів і тучних клітин, що пов'язано з антиоксидантною та протизапальною дією (Ruiz P.A., 2007; Boots A.W., 2008). Антоціани чинять протизапальну дію, що може бути пов'язано не лише із сильною прямою антиоксидантною дією, але й з регулювальним впливом на експресію генів, що беруть участь у запальній реакції (He Y.H., 2005; Karlsen A., 2007). Ціанідин пригнічує запальний ефект зимозану у щурів та може бути перспективним у лікуванні запальних захворювань (Tsuda T., 2002; He Y.H., 2005).

Результати проведених мікробіологічних досліджень свідчать про помірну антимікробну активність ЛПК відносно музейних штамів S.aureus (зона затримки росту 16 мм). Слабка активність ЛПК виявлена відносно музейних штамів S. saprophyticus та клінічних штамів: S. saprophyticus – 15 мм, S.aureus – 14 мм. Відносно музейних штамів Escherichia coli виявлено слабку антибактеріальну дію, відносно клінічних штамів вона відсутня. ЛПК виявляє помірну антибактеріальну дію відносно музейних та клінічних

штамів S. epidermidis (зони затримки росту – 19 мм та 17 мм). Антимікробна активність була відсутня відносно музейного та клінічного штаму Pseudomonas aeruginosa. Препарат порівняння Канефрон Н показав подібні результати відносно музейних штамів: S.aureus –15 мм, S. saprophyticus – 16 мм, S. epidermidis – 19 мм, Escherichia coli – 10мм, Pseudomonas aeruginosa – 6 мм. Зони затримки росту клінічних штамів: S.aureus – 15 мм, S. saprophyticus – 17 мм, S. epidermidis – 19 мм, Escherichia coli – 10 мм. Антимікробна активність препаратів відносно музейного та клінічного штамів Candida albicans приблизно однакова 18 мм (ЛПК) та 17 мм («Канефрон Н»).

Моделювання експериментального оксалатного нефролітіазу здійснювалося відповідно до загальноприйнятої «етиленгліколевої» моделі. Профілактичне введення препаратів в усіх дослідних групах покращило перебіг патологічного процесу.

Так, ЛПК в дозі 150 мг/кг на 21 добу експерименту знижував екскрецію креатиніну в 2,8 разу, збільшував ШКФ у 2,2 разу. Екскреція кальцію та фосфору достовірно не відрізнялась від контролю. На кінець 3 тижня кількість депозитів у нирках знизилась до 66,5%, змін у розмірах депозитів порівняно з МП не спостерігали). Аналогічні зміни спостерігали при введення ЛПК в дозі 250 мг/кг (на 21 добу кількість кальцієвих депозитів значно знизилась на 86,7% ($p<0,05$), на 24,1% зменшились їх розміри).

«Канефрон Н» відновлював видільну функцію нирок щурів. На 21 добу знизилась екскреція креатиніну. ШКФ посилювалась у 2,2 разу. На 21 добу на тлі введення «Канефрону Н» кількість кальцієвих депозитів знизилась на 26,6% ($p<0,05$), зменшились їх розміри на 15,5%).

ЛПК в дозі 150 мг/кг на момент завершення експерименту підвищував активність СОД у плазмі крові тварин на 64,2% ($p<0,05$), у гомогенаті ниркових тканин – на 22,9% ($p<0,05$) порівняно з МП. Активність каталази в плазмі підвищилась на 17,5% ($p<0,05$), у гомогенаті ниркових тканин – на 20,3% ($p<0,05$). Під впливом ЛПК рівень ДК в плазмі крові майже досяг значень контролю, рівень ТБК-реактантів плазми на 25,1% перевищував їх значення. Достовірних змін вмісту ДК та ТБК-реактантів у гомогенаті нирок під впливом ЛПК не реєструвалося.

ЛПК в дозі 250 мг/кг нормалізував антиоксидантний захист. Активність СОД у плазмі підвищилась на 75,9% ($p<0,05$), каталази – на 20,9% ($p<0,05$). Активність СОД та каталази в гомогенаті зросла на 45,2% ($p<0,05$) та 10,1% відповідно. Вірогідних змін вмісту ДК та ТБК-реактантів відносно контролю не відмічали.

«Канефрон Н» на момент завершення експерименту підвищував активність СОД на 60,3% ($p<0,05$) та каталази на 15,1% ($p<0,05$) у плазмі щурів. Достовірних змін цих показників у нирках не спостерігали. Вміст ДК та ТБК-реактантів у плазмі та гомогенатах знижувався. Підтвердженням нефролітолітичних властивостей ЛПК є результати гістологічного дослідження ниркових зрізів (рис. 6).

На другому етапі щури, починаючи з 3 тижня, отримували експериментальне лікування (ЛПК або «Канефрон Н»). Підтвердженням виникнення літогенних процесів у нирках тварин, що 42 доби вживали етиленгліколь, є результати морфометрії ниркових зрізів. Як і очікувалось, у ділянці ниркового сосочка фіксували численні кальцієві депозити у полі зору та збільшення їх розмірів до 29,4±3,66 мкм ($p<0,05$).

ЛПК в дозі 150 мг/кг з 3 тижня експерименту знижував екскрецію креатиніну в 1,7 разу, відновлював екскрецію кальцію та фосфору. ЛПК на 42 добу експерименту знижував кількість кальцієвих депозитів на 95,5% та зменшував їх розміри в 12,3 разу.

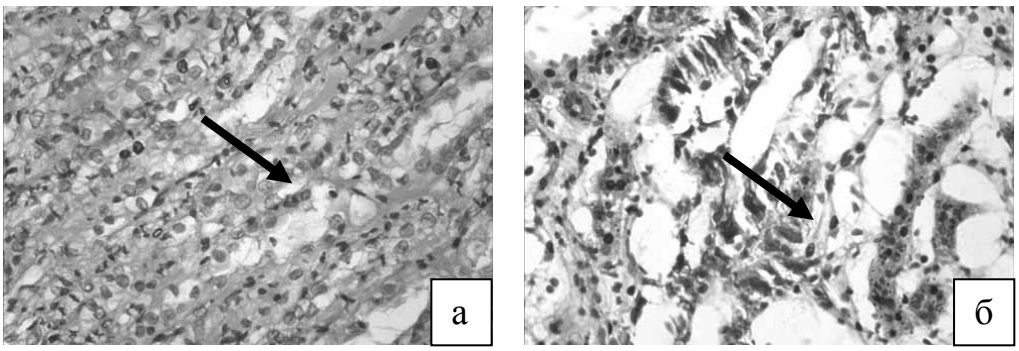

Рис. 6 Препарат нирки щура з оксалатним нефролітіазом на 3-му тижні розвитку патології: а) на тлі введення ліофільного порошку м'якоті кавуна в дозі 250 мг/кг. Інфільтрація строми макрофагами, плазматичне просочування, дрібні сольові включення; б) на тлі введення «Канефрону Н» у дозі 27 мг/кг. Вогнище інкрустації канальців солями кальцію. Забарвлення гематоксиліном і еозином, зб. ×400.

Аналогічну дію виявила доза ЛПК 250 мг/кг (кількість депозитів зменшилась у 2,9 разу, розміри – на 87,0% ($p<0,05$)).

Під впливом «Канефрону Н» відновився діурез, знизилась екскреція креатиніну на 30,9% ($p<0,05$). Екскреція кальцію та фосфору достовірно не відрізнялась від контролю. На 42 добу експерименту кількість кальцієвих депозитів та їх розміри знизились на 62,2% ($p<0,05$) та 61,6% ($p<0,05$) відповідно проти показників групи МП.

ЛПК в дозах 150 мг/кг та 250 мг/кг на момент завершення експерименту відновлював активність СОД плазми, доза 250 мг/кг активувала каталазу на 19,7% ($p<0,05$). Обрані дози ЛПК в нирках тварин підвищували активність СОД, концентрація ДК знижувалась до показників контролю. ЛПК в дозі 150 мг/кг суттєво впливав на рівень ТБК-реактантів, який знижувався в плазмі та нирках до показників контролю. ЛПК в дозі 250 мг/кг відновлював рівень ДК у плазмі та нирках щурів, що достовірно не вирізняло його від показників здорових тварин.

«Канефрон Н» підвищував активність СОД у плазмі, у нирках – на 43,1% ($p<0,05$). Активність каталази в нирках щурів мала тенденцію до збільшення. Вміст ДК та ТБК-реактантів у плазмі та нирках наближався до рівня контролю.

Морфологічне дослідження нирок щурів групи МП підтвердило факт розвитку нефролітіазу (рис. 7, а). У тварин, які отримували ЛПК в дозі 150 мг/кг та 250 мг/кг з 4 по 6 тиждень, у просвіті збиральних трубок зустрічалися дрібні окремі та згруповані сольові включення. На поверхні ниркових сосочків були сольові відкладення (рис. 7, б). Сольових конкрементів у кірковому шарі нирок не виявлялося. На тлі «Канефрону Н» у дозі 27 мг/кг з 4 по 6 тиждень, у нирковій паренхімі запально-проліферативні зміни були виразнішими порівняно з групами ЛПК (рис. 7, в).

Нефролітолітичні властивості ЛПК зумовлені вмістом вітаміну Е, селену, кверцетину, які входять до його складу. Відомо, що введення щурам з гіпероксалурією комбінації вітаміну Е і селену знижує рівень ПОЛ і синтез оксалату, активність оксидаз гліколевої кислоти, ЛДГ, ксантиноксидази, збільшує активність антиоксидантних ферментів СОД, каталази, глутатіонпероксидази і глюкозо-6-фосфатдегідрогенази, підвищує рівень антиоксидантів аскорбінової кислоти, α-токоферолу та відновленого глутатіону. Вітамін Е та селен нормалізували екскрецію з сечею оксалатів і кальцію, тим самим перешкоджали розвитку гіпероксалурії у щурів

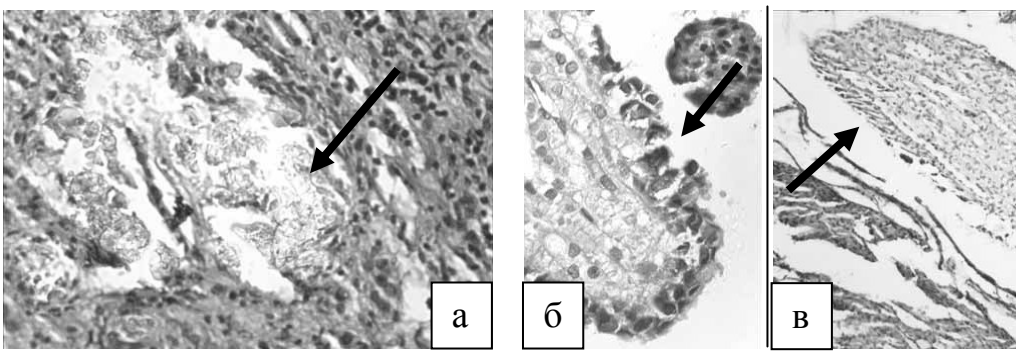

Рис. 7 Препарат нирки щура з оксалатним нефролітіазом на 6-му тижні розвитку патології: а) МП. Сольовий конкремент, зб. ×400; б) на тлі введення ЛПК в дозі 150 мг/кг. Сольові відкладення на поверхні ниркового сосочка, зб. ×400; в) на тлі введення «Канефрону Н» у дозі 27 мг/кг. Сольові відкладення на поверхні ниркових сосочків, зб. ×100. Забарвлення гематоксиліном і еозином.

(Kumar M.S., 2003). Незалежно від змін у мембранах збиральних трубок, вітамін Е не пригнічує утворення оксалату кальцію. Припускають, що селен, як і інші мінерали, прикріплюючись до поверхні кристала, зменшує утворення нових кристалів та їх агрегацію (Sakly R., 2003). Кверцетин гальмує відкладення кристалів сечової кислоти в нирках дослідних тварин (Park H.K., 2008).

Таким чином, на моделі експериментального оксалатного нефролітіазу ЛПК в дозах 150 мг/кг та 250 мг/кг чинить нефролітолітичну дію. Стимулюючи ВФН, ЛПК в дозі 150 мг/кг більш виразно зменшує кількість кальцієвих депозитів у нирках та їх розміри, виявляє антиоксидантну дію, що має значення в розвитку нефролітіазу.

Токсикологічна характеристика ліофільного порошку м'якоті кавуна. У дослідах з визначення гострої токсичності встановлено значення LD_{50}, яке становить > 15000 мг/кг. Тобто, ЛПК належить до V класу токсичності - практично нетоксичні речовини (Стефанов О.В., 2002). Застосування впродовж 90 діб у щурів не викликало загибелі тварин, не чинило токсичного впливу на їх загальний стан та зміни поведінкових реакцій, що підтверджено біохімічними, гематологічними та морфологічними дослідженнями. В ході хронічного експерименту виявили гіполіпідемічний вплив ЛПК в дозі 250 мг/кг, під впливом якої достовірно знижувався вміст в плазмі крові загальних ліпідів, холестерину, β-ліпопротеїдів.

ВИСНОВКИ

Захворювання сечовидільної системи залишаються невирішеною проблемою суспільства. Нефротоксичність лікарських препаратів, промислові та побутові речовини, неякісна питна вода, запалення можуть спровокувати розвиток гострої ниркової недостатності та сприяти формуванню нефрокальцинозу. Сьогодні існує необхідність у нефропротекторних лікарських засобах, які здатні покращити ниркові функції, поліпшити прогноз при хронічній хворобі нирок та зменшити ушкоджуючий вплив нефротоксичних факторів.

У дисертаційній роботі наведено нове рішення актуальної наукової задачі, що визначається експериментально-теоретичним обґрунтуванням доцільності та ефективності застосування ліофільного порошку м'якоті кавуна в комплексній фармакотерапії уражень нирок різної етіології, як діуретичного, нефропротекторного та неф-

ролітолітичного засобу. Розширено знання про фармакологічні ефекти ліофільного порошку м'якоті кавуна та роль окремих біологічно активних речовин у механізмі фармакологічної дії.

1. У інтактних тварин виявлено дозозалежний діуретичну дію ліофільного порошку м'якоті кавуна в умовах водного навантаження та спонтанного сечовиділення. Препарат у найбільш ефективній дозі 150 мг/кг достовірно посилював ШКФ в 1,4 разу та 1,3 разу, екскрецію натрію на 223,4% та 166,7%, а також, зменшуючи реабсорбцію води, збільшував виведення водного навантаження в 1,5 разу та 1,4 разу відповідно, в умовах спонтанного сечовиділення – достовірно посилював ШКФ в 1,9 разу та 2,7 разу, екскрецію натрію на 273,5% і 338,2% та зменшував реабсорбцію води.

2. Нефропротекторну активність ліофільного порошку м'якоті кавуна виявлено на моделях етиленгліколевої інтоксикації, міоглобінуричної гострої ниркової недостатності та гентаміцинової і доксорубіцинової нефропатій. Ліофільний порошок м'якоті кавуна в дозі 150 мг/кг зменшує виразність протеїнурії на моделі етиленгліколевої інтоксикації на 55,2% відносно модельної патології, міоглобінуричної гострої ниркової недостатності – на 46,2%, гентаміцинової нефропатії – на 28,6%, доксорубіцинової нефропатії – на 58,9%), відновлює діурез, швидкість клубочкової фільтрації, екскрецію електролітів та сечовини, макро- та мікроскопічну картину нирок. Відновлює прооксидантно-антиоксидантний баланс у плазмі крові та нирках. За виразністю нефропротекторної дії ліофільний порошок м'якоті кавуна не поступається препарату порівняння «Канефрон Н». Також препарат у дозах 150 мг/кг та 250 мг/кг збільшує виживаність тварин на 12,5% в умовах етиленгліколевої інтоксикації.

3. Профілактичне та лікувальне застосування ліофільного порошку м'якоті кавуна в дозі 150 мг/кг зменшує тяжкість перебігу експериментального нефролітіазу. Результати морфологічних досліджень свідчать про достовірне зменшення під впливом ліофільного порошку м'якоті кавуна кількості кальцієвих депозитів на 95,5% та розмірів у 12,3 разу. Референтний препарат «Канефрон Н» достовірно знижував кількість депозитів на 62,2%, у 2,6 разу – їх розміри. При профілактичному введенні препарат підвищував антиоксидантний захист (активність СОД і каталази у плазмі крові тварин підвищувалась на 64,2% ($p<0,05$) та 17,5% ($p<0,05$), у гомогенаті ниркових тканин – на 22,9% ($p<0,05$) на 20,3% ($p<0,05$) відповідно порівняно з МП) та пригнічував перекисне окиснення ліпідів (нормалізував рівень ДК та зменшував вміст ТБК-реактантів в плазмі). При лікувальному введенні зміни прооксидантно-антиоксидантного балансу були менш виразними та не вірогідними.

4. Ліофільний порошок м'якоті кавуна чинить антиексудативну дію на моделі карагенінового (в середньому об'єм запаленої кінцівки перевищував вихідні показники на 34,1% ($p<0,05$) проти 53,3% у групі модельної патології), формалінового (на 43,2% ($p<0,05$) проти 68,1%) та зимозанового набряку (на 50,9% ($p<0,05$) проти 79,6%). При цьому препарат демонструє більш виразну антиексудативну активність, ніж препарат порівняння «Канефрон Н».

5. Ліофільний порошок м'якоті кавуна чинить помірну антимікробну дію (за силою дії подібну препарату «Канефрон Н») відносно музейних штамів грампозитивних коків роду Staphylococcus (S.aureus), слабку відносно музейних штамів S. saprophyticus та клінічних штамів: S. saprophyticus, S.aureus. Відносно музейних штамів Escherichia coli виявлено слабку антибактеріальну дію, відносно клінічних

штамів антимікробна дія відсутня. ЛПК виявляє помірну антибактеріальну дію відносно музейних та клінічних штамів S. Epidermidis та Candida albicans. Антимікробна активність була відсутня відносно музейного та клінічного штаму Pseudomonas aeruginosa.

6. За токсикологічними характеристиками у гострому досліді ліофільний порошок м'якоті кавуна належить до V класу токсичності - практично нетоксичні речовини. Хронічне введення (90 діб) ліофільного порошку м'якоті кавуна (150 мг/кг та 250 мг/кг) у щурів не викликало загибелі тварин, не чинило токсичного впливу на їх загальний стан, поведінкові реакції, біохімічні та гематологічні показники. В ході хронічного експерименту виявили гіполіпідемічну дію ЛПК в дозі 250 мг/кг, під впливом якої достовірно знижувався вміст в плазмі крові загальних ліпідів, холестерину, β-ліпопротеїдів.

7. Результати проведеного дослідження обґрунтовують доцільність подальшого фармакологічного вивчення ліофільного порошку м'якоті кавуна як нефропротекторного, діуретичного, салуретичного, нефролітолітичного засобу для лікування уражень нирок різної етіології та нефролітіазу.

СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Монатко К.В. Експериментальне дослідження ліофільного порошку кавуна як потенційного засобу діуретичної дії / К.В. Монатко, О.А. Подплетня // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т. 16, № 3 (63). – Ч. 2. – С. 166-167. (Особистий внесок: проведення досліджень, аналіз результатів, написання статті)

2. Монатко К.В. Вплив ліофільного порошку кавуна на морфофункціональні зміни нирок білих щурів в умовах експериментальної гострої ниркової недостатності / К.В. Монатко, О.А. Подплетня, К.В. Циганков // Український медичний альманах. – 2012. – Том № 15, № 5 (додаток). – С. 248-251. (Особистий внесок: участь у проведені досліджень, аналізі результатів, написання статті)

3. Монатко К.В. Дослідження гострої токсичності, діуретичної та урикозуричної дії ліофільного порошку кавуна / К.В. Монатко, О.А. Подплетня // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – № 6. – С. 69-72. (Особистий внесок: проведення досліджень, аналіз результатів, написання статті)

4. Монатко К.В. Нефропротекторні властивості ліофільного порошку кавуна на моделі гентаміцинової нефропатії / К.В. Монатко, О.А. Подплетня // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2013. – Т. 11, № 1. – С. 31-33. (Особистий внесок: проведення досліджень, аналіз результатів, написання статті)

5. Експериментальне дослідження протизапальних властивостей ліофільного порошку кавуна / К.В. Монатко, О.А. Подплетня, В.Ю. Слєсарчук // Медичні перспективи. – 2012. – Т. 17, № 4. – С. 25-29. (Особистий внесок: участь у проведені досліджень, аналіз результатів, написання статті)

6. Монатко К.В. Зміни структури нирок щурів під впливом ліофільного порошку кавуна в умовах експериментальної доксорубіцинової нефропатії / К.В. Монатко, О.А. Подплетня // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – № 1. – С. 60-64. (Особистий внесок: проведення досліджень, аналіз результатів, написання статті)

7. Монатко Е.В. Влияние лиофильного порошка мякоти арбуза на процессы свободнорадикального окисления и морфологические изменения в почках крыс при

экспериментальном нефролитиазе / Е.В. Монатко, Е.А. Подплетняя // Наука и бизнес: пути развития. – 2013. – № 6 (24). – С. 85-92. (Особистий внесок: проведення досліджень, аналіз результатів, написання статті)

8. Монатко Е.В., Подплетняя Е.А. Применение лиофильного порошка мякоти арбуза в коррекции экспериментального нефролитиаза / Е.В. Монатко, Е.А. Подплетняя // Медицина и образование в Сибири. – 2013. – № 6. (Сетевое научное издание) Режим доступу до журн. : http://www.ngmu.ru/cozo/mos/article/abauthors.php?id=1178 (Особистий внесок: проведення досліджень, аналіз результатів, написання статті)

9. Вивчення діуретичних властивостей ряду доз ліофілізованого порошку кавуна звичайного при одноразовому введенні / К.В. Монатко, О.А. Подплетня, В.Ю. Слєсарчук, Л.В. Соколова // IV Національний з'їзду фармакологів України: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 10-12 жовтня 2011 р., м. Київ. - Київ, 2011. – № 5. – С. 213-214.

10. Монатко К.В. Експериментальне обґрунтування доцільності використання ліофільного порошку кавуна при гострій нирковій недостатності / К.В. Монатко, О.А. Подплетня, К.В. Циганков // Теоретичні та практичні аспекти розвитку сучасної медицини: збірник тез наукових робіт учасників міжнародної науково-практичної конференції (м. Львів, 21-22 вересня 2012 року): – Львів: ГО «Львівська медична спільнота», 2012. – С. 81-84.

11. Монатко К.В. Ліофільний порошок кавуна – перспективний засіб фітотерапії / К.В. Монатко // Охорона та захист здоров'я людини в сучасних умовах: Матеріали міжнародної науково-практичної конференції, 28-29 вересня 2012 р., м. Одеса. – Одеса: ГО «Південна фундація медицини», 2012. – С. 19-22.

12. Монатко Е.В. Исследование антимикробной активности лиофильного порошка мякоти арбуза / Е.В. Монатко, И.П. Кошевая // «Современные достижения медицинской и фармацевтической науки»: тезисы I международной интернет-конференции молодых ученых и студентов (23-25 октября 2012 г., г. Запорожье): – Запорожье, 2012. – С. 113-114.

13. Монатко К.В. Дослідження діуретичних та салуретичних властивостей ліофільного порошку м'якоті кавуна при спонтанному сечовиділенні у щурів / К.В. Монатко, О.А. Подплетня, В.Ю. Слєсарчук // «Медичні науки: проблеми та досягнення сучасних наукових досліджень»: Міжнародна науково-практична конференція (2-3 листопада 2012 р., м. Київ): – Київ: ГО «Київський медичний науковий центр», 2012. – С. 88-91.

14. Слєсарчук В.Ю. Вивчення впливу ліофільного порошку кавуна на ексудативну фазу запалення, викликаного введенням карагеніну / В.Ю. Слєсарчук, К.В. Монатко, Н.Ю. Бабаніна // «Медичні науки: проблеми та досягнення сучасних наукових досліджень»: Міжнародна науково-практична конференція (2-3 листопада 2012 р., м. Київ): – Київ: ГО «Київський медичний науковий центр», 2012. – С. 99-101.

15. Монатко К.В. Салуретична дія ліофільного порошку м'якоті кавуна / К.В. Монатко, О.А. Подплетня // «Людина та ліки, Україна» : матеріали VI Національного конгресу, 21-22 березня 2013 року, м. Київ. – Київ, 2013. – С. 46.

16. Монатко К.В. Аналіз впливу ліофільного порошку м'якоті кавуна на відкладення кальцієвих депозитів в нирках щурів при експериментальному оксалатному

нефролітіазі / К.В. Монатко, В.Ю. Слєсарчук, О.А. Подплетня // Научно-практическая конференция с международным участием «Актуальные вопросы биологии, экологии, медицины и фармакологии», 26-27 сентября 2013 года, г. Днепропетровск. – Днепропетровск, 2013. – С. 155-156.

17. Монатко К.В. Вплив ліофільного порошку м'якоті кавуна на активність ферментів в нирках щурів з оксалатним нефролітіазом / К.В. Монатко, В.Ю. Слєсарчук, А.В. Каіра // 5-та науково-практична конференція з міжнародною участю «Науково-технічний прогрес і оптимізація технологічних процесів створення лікарських препаратів», 27-28 вересня 2013 року, м. Тернопіль. - Тернопіль, 2013. – С. 375-376.

18. Подплетня О.А. Використання ліофільного порошку м'якоті кавуна в корекції експериментального нефролітіазу : інформ. лист № 49-2014 / О.А. Подплетня, С.М. Дроговоз, К.В. Монатко. – К.: Укрмедпатентінформ МОЗ України. – 2014. – 4 с.

АНОТАЦІЯ

Монатко К.В. Експериментальне дослідження нефропротекторної дії ліофільного порошку кавуна. – На правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата фармацевтичних наук за спеціальністю 14.03.05. – фармакологія. – Національний фармацевтичний університет МОЗ України, Харків, 2014.

Дисертаційна робота присвячена аналізу нефропротекторної активності ліофільного порошку м'якоті кавуна (ЛПК). В експерименті виявлено діуретичні та натрійуретичні властивості ЛПК в дозі 150 мг/кг. В умовах етиленгліколевої, міоглобінуричної гострої ниркової недостатності, гентаміцинової та доксорубіцинової нефропатії ЛПК виявляє нефропротекторну дію, а саме зберігає видільну функцію нирок, обмін електролітів, зменшує виразність протеїнурії, нормалізує макро- та мікроскопічну картину нирок. ЛПК в дозі 150 мг/кг та 250 мг/кг при профілактичному та лікувальному введенні виявляє літолітичні властивості на моделі експериментального оксалатного нефролітіазу. Результати морфологічних досліджень дозволяють зробити висновок, відносно більш виразного впливу ЛПК на кількість кальцієвих депозитів у нирках та їх розміри, ніж у референтного препарату «Канефрон Н». ЛПК виявляє антиоксидантну дію, що має значення в розвитку нефролітіазу. ЛПК має протизапальні властивості – гальмує розвиток карагенінового, формалінового та зимозанового набряків. ЛПК чинить антимікробну дію відносно музейних і клінічних штамів мікроорганізмів. За даними токсикологічних досліджень доводять безпечність ЛПК. Результати дослідження експериментально обґрунтовують доцільність створення нового нефропротекторного препарату на основі ЛПК.

Ключові слова: ліофільний порошок м'якоті кавуна, нефропротекторна активність, нефролітолітична активність, нирки.

АННОТАЦИЯ

Монатко Е. В. Экспериментальное исследование нефропротекторного действия лиофильного порошка арбуза. – На правах рукописи.

Диссертация на соискание научной степени кандидата фармацевтических наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Национальный фармацевтический университет МЗ Украины, Харьков, 2014.

Диссертационная работа посвящена анализу фармакологической активности лиофильного порошка мякоти арбуза (ЛПА) и выяснению в эксперименте его диуретических и нефропротекторный свойств, особенностей влияния на выделительную функцию у интактных животных и в условиях различных по патогенезу моделей поражения почек, а также определению влияния на течение экспериментального нефролитиаза, исследованию противовоспалительной и антибактериальной активности, а также безопасности при остром и хроническом введении крысам. Было выяснено, что в условиях водной нагрузки и спонтанного мочеотделения в дозе 150 мг/кг ЛПА оказал выраженное диуретическое действие уже после однократного введения и сохранял эффективность при повторных. При этом усиливалась скорость клубочковой фильтрации и увеличивалось выведение водной нагрузки. Исследуемый препарат выражено усиливал выведение почками натрия, калия и мочевины. Диуретическое и натрийуретическое действия ЛПА связаны, вероятно, с поступлением в организм животных предшественника оксида азота – аргинина. В основе механизма лежит увеличение клубочковой фильтрации и подавления канальцевой реабсорбции. Наряду с мощными диуретическими и салуретическими свойствами ЛПА оказывает выраженное урикозурическое действие. В условиях этиленгликолевой интоксикации ЛПА достоверно увеличивает выживаемость мышей, практически не уступая «Канефрону Н». Нефропротекторные свойства ЛПА исследовали на четырёх моделях повреждения почек, различных по патогенезу. В условиях этиленгликолевой, миоглобинурической острой почечной недостаточности, гентамициновой и доксорубициновой нефропатии ЛПА оказывает нефропротекторное действие, а именно снижает выраженность протеинурии, сохраняет выделительную функцию, обмен электролитов, мочевины. Эффективность ЛПА при поражениях почек различной этиологии в эксперименте подтверждается морфологическими исследованиями, а именно нормализацией макро- и микроскопической картины. ЛПА в дозе 150 мг/кг и 250 мг/кг при профилактическом и лечебном введении проявляет литолитические свойства на модели экспериментального оксалатного нефролитиаза. Результаты морфологических исследований позволяют сделать вывод относительно более выраженного влияния ЛПА на количество и размеры кальциевых депозитов в почках, чем у референтного препарата «Канефрон Н». У крыс, которые получали препарат сравнения, в почечной паренхиме наблюдалась более выраженная, относительно других групп, воспалительная инфильтрация с наличием плазматических клеток, которые свидетельствуют о хроническом воспалительном процессе. Стимулируя выделительную функцию, ЛПА способствует уменьшению количества кальциевых депозитов в почках и их размеров, оказывает антиоксидантное действие, что имеет значение в развитии нефролитиаза. ЛПА оказывает антиэксудативное действие на модели каррагенинового, формалинового и зимозанового отёков. При этом препарат демонстрирует антиэксудативную активность более выраженную, чем у препарата сравнения «Канефрон Н». Вероятно, механизм противовоспалительного действия ЛПА основан на ингибировании циклооксигеназы и снижении активности фермента липоксигеназы, что угнетает синтез медиаторов воспаления. ЛПА оказывает умеренное антимикробное действие (по силе действия подобное препарату «Канефрон Н») относительно музейных штаммов грампозитивных кокков рода Staphylococcus (S.aureus), слабое относительно музейных штаммов S.saprophyticus и клинических штаммов: S.saprophyticus, S.aureus. Умеренное анти-

бактериальное действие ЛПА выявлено в отношении музейных и клинических штаммов S.epidermidis. Антимикробная активность препаратов в отношении музейного и клинического штаммов Candida albicans примерно одинакова 18 мм (ЛПА) и 17 мм («Канефрон Н»). Исследования токсикологических характеристик обнаружили, что ЛПА относится к V классу веществ – практически нетоксичные вещества. Длительное применение в течение 90 суток не вызывало гибели животных, не оказывало токсического влияния на их общее состояние и изменения поведенческих реакций, что подтверждено биохимическими, гематологическими и морфологическими исследованиями. Результаты экспериментально обосновывают целесообразность создания нового нефропротекторного препарата на основе ЛПА.

Ключевые слова: лиофильный порошок мякоти арбуза, нефропротекторная активность, нефролитолитическая активность, почки.

SUMMARY

Monatko E. V. Experimental Study of Nephroprotective Effect of Watermelon Pulp Lyophilized Powder. – The manuscript.

The thesis for a Candidate Dissertation in Pharmaceutical Sciences specialized in 14.03.05 – Pharmacology. – National University of Pharmacy of the Ministry of Health Care of Ukraine, Kharkiv, 2014.

The thesis research deals with the review of the nephroprotective action of the watermelon pulp lyophilized powder (WLP). The experiment has demonstrated its diuretic and sodium-uretic properties when used in the dose of 150 mg/kg. The use of the WLP in ethylene glycol, myoglobinuric acute renal failure or gentamicin and doxorubicin nephropathy has demonstrated its nephroprotective action, specifically, by maintaining the excretory renal function, electrolyte metabolism, reducing the marked nature of proteinuria, and normalizing macro- and microscopic presentation of kidneys. In the preventive and therapeutic administration, the WLP used in the dose of 150 mg/kg and 250 mg/kg produces its litholytic effect in an experimental oxalate nephrolithiasis model. The results of morphological studies allow to conclude on a more marked effect of the WLP on the renal calcium deposit levels and sizes versus the reference Kanefron H. The WLP produces an antioxidant effect, which is critical in nephrolithiasis. The WLP has anti-inflammatory properties, demonstrated in the delayed onset of carrageenan-, formalin- and zymosan-induced edemas. The WLP has an antimicrobial effect on depository and clinical strains of microorganisms. The results of toxicological studies have demonstrates its safety. The study outcomes have provided an experimental rationale for feasibility of developing a new WLP-based nephroprotector.

Keywords: watermelon pulp lyophilized powder, nephroprotective action, nephrolitholytic action, kidneys.

Підписано до друку 05.09.2014 р. Формат 60х90/16.
Папір офсетний. Гарнітура Times ET. Друк ризографічний.
Умов. друк. арк. 0,8. Обл. – вид., арк., 0,8. Наклад 100 прим. Замов. № 138.

Надруковано з готового оригінал-макета у друкарні ВТК «Друкар» ДЗ «ДМА МОЗУ».
Єдиний державний реєстр юридичних осіб та фізичних осіб-підприємців.
Запис № 12241200000019906 від 25.01.2012 р.
49027, м. Дніпропетровськ, пл. Жовтнева, 4, пр. 106, тел. (056) 713-53-52.
e-mail: drukar_dgma@i.ua