

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ФАРМАКОЛОГІЯ

Рекомендована д.м.н., професором С.М.Дроговоз

УДК 547.455.623'233.1:616.61-008.64-036]001.8

### ДОСЛІДЖЕННЯ ГІПОАЗОТЕМІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ГЛЮКОЗАМІНУ ГІДРОХЛОРИДУ В УМОВАХ РЕНАЛЬНОЇ АЗОТЕМІЇ

І.А.Зупанець, С.К.Шебеко

Національний фармацевтичний університет

Наведені результати вивчення гіпоазотемічних властивостей глюкозаміну гідрохлориду в умовах розвитку експериментальної гострої та хронічної ниркової недостатності у білих нелінійних щурів. Отримані дані свідчать, що під впливом дослідного аміноцукру у порівнянні з групою контрольної патології відбувається посилення клубочкової фільтрації, що проявляється зниженням вмісту сечовини та креатиніну в крові тварин в 1,5-2,4 рази та підвищенням кліренсу цих речовин у 2,8-4,3 рази. Найбільшу активність гексозамін проявив на моделі хронічної ниркової недостатності на 21 добу дослідження. Таким чином, глюкозаміну гідрохлорид в умовах ренальної уремії чинить гіпоазотемічну дію і може використовуватись для лікування пацієнтів з запально-деструктивними захворюваннями нирок на тлі ниркової недостатності.

Лікування хворих з нирковою недостатністю є актуальною і до цього часу не вирішеною проблемою сучасної нефрології, однією з причин якої є відсутність у клінічній практиці засобів її специфічної терапії [3, 7]. Останнім часом увага вчених при лікуванні даної патології все більше приділяється стану компонентів базальної мембрани (БМ) нефронів та припиненню її деструкції. Важлива роль у цьому належить відновленню захисного шару БМ (представленого глікозаміногліканами), основним компонентом якого є аміноцукор глюкозамін (ГА) в ацетильованій та сульфатованій формах [9, 12, 18]. Відомо, що саме його присутність обумовлює наявність негативного заряду на поверхні БМ, який запобігає розвитку протеїнурії та сприяє нормалізації гемодинаміки у нефроні, що неминуче порушується при розвитку захворювання [10, 11, 15]. Також слід відмітити, що поверхневий шар БМ приховує її антигенні зони та перешкоджає розвитку каскаду аутоімунних реак-

цій, які лежать у патогенезі більшості запально-деструктивних захворювань нирок [13, 14, 16].

Таким чином, застосування засобів на основі аміноцукру глюкозаміну, що можуть діяти як захисні агенти стосовно БМ нирок, повинно чинити позитивний вплив на перебіг ниркової недостатності та запобігати розвитку її термінальної форми. На думку авторів, найбільш придатною речовиною для цієї мети є глюкозаміну гідрохлорид, що має значну мембранопротекторну, антиоксидантну дію, повільну протизапальну активність та є природним метаболітом людини, практично безпечним для організму [4, 9, 17].

У попередніх дослідженнях авторами встановлено, що при застосуванні глюкозаміну гідрохлориду для лікування лабораторних щурів з доксорубіциновою нефропатією він чинить виражену нефропротекторну дію [5], а також повільно нормалізує показники сечовини крові, незважаючи на те, що є азотовмісною речовиною, яка потенційно може бути донором аміногруп та сприяти підвищенню залишкового азоту [8]. Це набуває особливого значення у разі виникнення у пацієнтів такого поширеного ускладнення ниркової недостатності, як уремія, що є основним чинником токсичної дії на організм хворого [7].

У зв'язку з цим метою представленої роботи було вивчення впливу глюкозаміну гідрохлориду на показники азотистого обміну лабораторних тварин в умовах розвитку експериментальної ниркової недостатності.

#### Матеріали та методи

Дослідження виконане на 104 щурах-самцях, які утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію при вільному доступі до питної води, постійній вологості та температурному режимі. Всіх дослідних тварин було поділено таким чином: 8 щурів склали інтактну групу, а інших поділили на дві серії по 3 групи, у кожній з яких було по 16

Таблиця

Вплив глюкозаміну гідрохлориду на деякі показники азотистого обміну щурів з нирковою недостатністю (n=104)

Дослідні групи		Термін дослід, доба	Креатинін крові, мкмоль/л	Кліренс креатиніну, мл/доба	Сечовина крові, ммоль/л	Кліренс сечовини, мл/доба
інтакт		—	57,1±3,4	398,4±4,9	4,19±0,23	167,4±9,0
I серія	Гостра ниркова недостатність					
	Контрольна патологія	4	296,8±8,5*	61,0±4,4*	27,5±2,8*	31,4±2,2*
		7	274,6±12,3*	69,2±6,4*	23,0±2,4*	33,1±1,4*
	ГА гідрохлорид	4	192,0±6,7**/***	143,1±7,3**/***	20,0±1,2**	81,7±5,5**/***
		7	156,9±10,3**	198,4±9,9**/***	15,0±0,5**	100,4±6,6**/***
	Леспенефрил	4	157,0±4,6**	181,0±6,5**	16,9±1,0**	107,8±7,6**
		7	129,4±7,8**	235,9±7,6**	13,4±0,8**	130,5±6,7**
II серія	Хронічна ниркова недостатність					
	Контрольна патологія	14	204,6±9,7*	99,1±3,8*	16,5±1,2*	58,9±4,2*
		21	291,9±12,9*	60,9±4,4*	22,5±1,4*	41,1±2,9*
	ГА гідрохлорид	14	177,6±5,7**/***	190,2±8,0**/***	13,5±0,9*	82,6±4,3**/***
		21	128,6±6,9**/***	264,8±13,1**/***	9,2±0,7**	118,3±5,7**/***
	Леспенефрил	14	144,1±6,4**	232,2±4,6**	10,7±0,8**	110,7±7,1**
		21	91,8±6,1**	321,3±6,6**	7,2±0,6**	141,6±4,7**

Примітки:

1) \* —  $p \leq 0,05$  відносно інтакту;

2) \*\* —  $p \leq 0,05$  відносно контрольної групи;

3) \*\*\* —  $p \leq 0,05$  відносно тварин, які отримували референт-препарат "Леспенефрил".

тварин. У I серії експериментів моделювали гостру ниркову недостатність (ГНН) шляхом внутрішньом'язового введення 80% розчину гліцерину в дозі 9 мл/кг [2], а у II серії — хронічну ниркову недостатність (ХНН), яку викликали трикратним підшкірним введенням 0,1% розчину сулеми в дозі 4 мг/кг [1].

У кожній серії було виділено групу щурів з контрольною патологією, а також тварин, які на фоні ниркової недостатності отримували ГА гідрохлорид ("Protein Chemicals", Японія) в умовно терапевтичній дозі 50 мг/кг та референт-препарат "Леспенефрил" ("UCB Pharma", Хорватія) в дозі 1,2 мл/кг (середня терапевтична доза для людини, перерахована за методом Ю.С.Риболовлева). Препарати розчиняли у воді до об'єму 1 мл. Контрольні тварини отримували фізіологічний розчин у тій же кількості. У всіх групах досліджуваних препаратів вводили перорально щодня, у I серії протягом двох тижнів, у II серії протягом чотирьох тижнів, починаючи за тиждень до відтворення патології.

Для оцінки показників азотистого обміну та функціонального стану нирок у всіх тварин в два етапи проводили збір добової сечі за допомогою індивідуальних метаболітних кліток: у I серії — на четверту та сьому добу, а в II серії — на другий та третій тиждень експерименту. Після цього їх не-

гайно виводили з дослідів по 8 особин з кожної групи (з дотриманням міжнародних біоетичних вимог по роботі з тваринами) з метою отримання сироватки крові для біохімічних досліджень. Далі за допомогою біохімічних наборів "Lachema" (Чехія) визначали вміст сечовини і креатиніну у крові та сечі, розраховували кліренс ендogenous креатиніну та кліренс сечовини загальноприйнятими методами [6].

Одержані результати оброблялись стандартними методами варіаційної статистики з використанням критеріїв Фішера-Стьюдента.

#### Результати та їх обговорення

Дані динаміки деяких показників азотистого обміну у тварин з гострою та хронічною нирковою недостатністю наведені в таблиці. Так, при розвитку ГНН у тварин контрольної групи спостерігалось значне підвищення рівня креатиніну крові (приблизно в 4 рази) у порівнянні з інтактними тваринами. При використанні ГА гідрохлориду рівень креатиніну крові був вірогідно менший, ніж у контрольних тварин. Слід відзначити, що рівень креатиніну у щурів, які отримували леспенефрил, був вірогідно нижчим, ніж при використанні ГА тільки на 4 добу, а вже на 7 добу не мав вірогідних відмінностей. Подібна картина спостерігалась і при аналізі змін такого показника, як сечовина крові. На 4 добу дослідів в конт-

рольній групі було зареєстровано ріст сечовини приблизно в 5 разів у порівнянні з інтактними тваринами, далі цей показник трохи зменшувався. При використанні ГА рівень сечовини крові був вірогідно меншим, ніж у тварин з контрольною патологією і протягом усього експерименту не мав вірогідних відмінностей від рівня сечовини у тварин, яких лікували референт-препаратом “Леспенефрилом”.

Особливої уваги серед показників функціонального стану нирок заслуговує такий показник, як кліренс ендogenous креатиніну, оскільки він безпосередньо характеризує процеси ниркової фільтрації. У контрольній групі він протягом усього досліджування був вірогідно меншим, ніж у інтактних тварин, причому на 7 добу він був знижений у 5 разів. На відміну від цього при використанні ГА гідрохлориду цей показник був вірогідно вищим, ніж у тварин з контрольною патологією, але найвищих значень він досягав під впливом леспенефрилу, який за цим показником вірогідно перевищує всі досліджувані препарати.

Інтенсивність виведення основного продукту азотистого обміну — сечовини відображає такий показник, як кліренс сечовини, тому при вивченні ниркової недостатності йому необхідно приділяти також велику увагу. Так, у тварин з контрольною патологією цей показник був менше рівня інтактних тварин приблизно в 5 разів протягом усього експерименту. В дослідній групі, де застосовували ГА, показник кліренсу сечовини був вірогідно більшим, ніж у тварин з контрольною нирковою недостатністю, але був трохи меншим, ніж при використанні леспенефрилу.

Аналогічні зміни у показниках азотистого обміну спостерігались і в II серії експериментів. У тварин з ХНН спостерігалось значне підвищення креатиніну крові, яке на 21 добу дослідження перевищувало рівень інтактних тварин більш ніж у 5 разів. При застосуванні ГА цей показник був вірогідно меншим, ніж у контрольній групі. Слід відзначити, що рівень креатиніну у щурів, яких лікували леспенефрилом, на 21 день експерименту був вірогідно нижчим і навіть наближався до рівня інтактних тварин. Це свідчить про виражену гіпоазотемічну активність, якою володіє леспенефрил. Подібна картина спостерігалась і при аналізі змін такого показника, як сечовина крові з тією різницею, що в дослідній групі, де тварин лікували ГА гідрохлоридом, протягом усього експерименту рівень сечовини був не тільки вірогідно меншим, ніж у тварин з контрольною патологією, але й не мав відмінностей від того рівня, що спостерігався у щурів під впливом леспенефрилу. Це свідчить про позитивний вплив ГА гідрохлориду на перебіг

ХНН у щурів на рівні референт-препарату “Леспенефрилу”.

При розвитку ХНН у тварин кліренс ендogenous креатиніну був вірогідно меншим за такий у інтактних щурів протягом всього експерименту, причому на 21 добу досліджування він був знижений більш ніж у 6,5 рази. На відміну від цього при лікуванні щурів ГА цей показник був вірогідно вищим порівняно з тваринами з контрольною патологією, але найвищих значень він досягав під впливом леспенефрилу. Аналогічних змін набував кліренс сечовини. Так, у тварин з ХНН цей показник був менше рівня інтакту приблизно в 3-3,5 рази протягом всього експерименту, а у разі використання ГА був вірогідно більшим, ніж у тварин з контрольною патологією. Слід відмітити, що за цим показником щури, що отримували леспенефрил, вірогідно перевищували тварин інших дослідних груп протягом всього експерименту і на 21 добу майже досягли рівня інтактних тварин, що вказує на виражену гіпоазотемічну активність леспенефрилу. Але, незважаючи на більшу гіпоазотемічну активність та виражену діуретичну дію, у порівнянні з ГА гідрохлоридом леспенефрил має деякі недоліки, основним з яких є наявність у препараті алкоголю, що обумовлює виникнення деяких побічних ефектів та значно обмежує область застосування препарату.

На думку авторів, наявність у аміноцукру глюкозаміну гіпоазотемічної активності в умовах ренальної уремії, незважаючи на те, що він є азотомісною речовиною, можна пояснити наступним чином. По-перше, експериментальні дані свідчать про те, що концентрації ГА гідрохлориду у сироватці крові, яка виникає внаслідок його перорального введення в дослідних дозах, недостатньо для розвитку процесів його дезамінування і утворення вільного аміаку, оскільки він безперервно включається до уражених сполучнотканинних структур нирок. По-друге, глюкозамін значно покращує клубочкову гемодинаміку, що приводить до посилення виведення продуктів азотистого обміну з сечею під впливом фільтраційних процесів, а також посилює детоксикаційну функцію печінки, де переважно відбуваються процеси дезактивування вільного аміаку.

#### ВИСНОВКИ

1. Глюкозаміну гідрохлорид в умовах розвитку у лабораторних тварин гострої або хронічної ниркової недостатності проявляє виражену гіпоазотемічну активність, яку можна порівняти з активністю референт-препарату леспенефрилу.

2. Цей гексозамін є перспективним для подальшого вивчення з метою використання у терапії пацієнтів із запально-деструктивними захворюваннями нирок на тлі ниркової недостатності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Васильченко Е.А. // *Растит. ресурсы.* — 1968. — №4. — С. 83-87.

2. Гуляев В.Г. *Гипоазотемические свойства и механизм действия биофлавоноидов и антигипоксантов при лечении острой и хронической почечной недостаточности: Автореф. дис. ... докт. мед. наук.* — К., 1989. — 44 с.
3. Дудар І., Величко М. // *Ліки України.* — 2004. — №7-8. — С. 18-24.
4. Зупанец І.А. *Экспериментальное обоснование использования глюкозамина и его производных в медицине: Дис. в форме науч. докл. ... докт. мед. наук.* — Купавна, 1993. — 90 с.
5. Зупанец І.А., Шебеко С.К. // *Фармац. журн.* — 2006. — №1. — С. 96-99.
6. Камышников В.С. *Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справ. В 2-х т. Т. 1.* — 2-е изд. — Мн: Интерпрессервис, 2003. — 495 с.
7. Смирнов А.В., Каюков И.Г., Есаян А.М. и др. // *Нефрология.* — 2004. — Т. 8, №3. — С. 7-14.
8. Шебеко С.К., Зупанец І.А. // *Клінічна фармація.* — 2005. — Т. 9, №2. — С. 34-38.
9. *Aminosugars: The chemistry and biology of compounds, containing aminosugars* // Ed. T.A.Balazs, R.W.Jeanloz. — New York; London: Acad. Press, 1965. — 592 p.
10. Deen W.M., Lazzara M.J., Myers B.D. // *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* — 2001. — Vol. 281. — P. F579-F596.
11. Gambaro G., Van Der Woude F. // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2000. — Vol. 11. — P. 359-368.
12. Groffen A.J., Veerkamp J.H., Monnens L.A., Van Den Heuvel L.P. // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 1999. — Vol. 14. — P. 2119-2129.
13. Mundel P., Shankland S. // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2002. — Vol. 13. — P. 3005-3015.
16. Pavenstadt H., Kriz W., Kretzler M. // *Physiol. Rev.* — 2003. — Vol. 83. — P. 253-307.
17. Raats I.C.J., Van Den Born J., Bakker M.A.H. et al. // *Am. J. Pathol.* — 2000. — Vol. 156, №5. — P. 1749-1765.
18. Raats I.C.J., Van Den Born J., Berden J.H.M. // *Kidney Int.* — 2000. — Vol. 57. — P. 385-400.
19. Setnikar I. // *Arzneimittelforsch.* — 1993. — Vol. 43. — P. 1109-1113.
20. Westling C., Lindahl U. // *J. Biol. Chem.* — 2002. — Vol. 277, №51. — P. 49247-49255.

УДК 547.455.623'233.1:616.61-008.64-036]001.8

ИССЛЕДОВАНИЕ ГИПОАЗОТЕМИЧЕСКИХ СВОЙСТВ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА В УСЛОВИЯХ РЕНАЛЬНОЙ АЗОТЕМИИ

И.А.Зупанец, С.К.Шебеко

Приведены результаты изучения гипоазотемических свойств глюкозамина гидрохлорида в условиях развития экспериментальной острой и хронической почечной недостаточности у белых нелинейных крыс. Полученные данные свидетельствуют, что под влиянием исследуемого аminosахара происходит усиление клубочковой фильтрации, что проявляется снижением содержания мочевины и креатинина в крови животных в 1,5-2,4 раза и повышением клиренса этих веществ в 2,8-4,3 раза. Наибольшую активность данный гексозамин проявил на модели хронической почечной недостаточности на 21 сутки исследования. Таким образом, глюкозамина гидрохлорид в условиях ренальной уремии оказывает гипоазотемическое действие и может использоваться для лечения пациентов с воспалительно-деструктивными заболеваниями почек на фоне почечной недостаточности.

UDC 547.455.623'233.1:616.61-008.64-036]001.8

THE RESEARCH OF GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE HYPOAZOTEMIC PROPERTIES IN THE CONDITIONS OF RENAL AZOTEMIA

I.A.Zupanets, S.K.Shebeko

The results of studying the hypoazotemic properties of glucosamine hydrochloride in the conditions of development of experimental acute and chronic renal failure in white non-linear rats have been presented in the article. The data obtained testify that under the influence of the aminosugar investigated the intensification of the glomerular filtration occurs; it is manifested by decrease of the urea and creatinine content in the blood of animals in 1,5-2,4 times and increase of the clearance of these substances in 2,8-4,3 times. The highest activity of the given hexosamine revealed in the chronic renal failure model in the 21-th day of the research. Thus, glucosamine hydrochloride has a hypoazotemic action in the conditions of the renal uremia and it can be used for treating the patients with the kidney inflammatory-destructive diseases on the background of renal failure.