

ДОСЛІДЖЕННЯ ФАРМАКОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДЕЯКИХ ПОХІДНИХ ГЛЮКОЗАМІНУ В УМОВАХ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО АУТОІМУННОГО ГЛОМЕРУЛОНЕФРИТУ

С.К.Шебеко, І.А.Зупанець

Національний фармацевтичний університет

Ключові слова: аміноцукри; глюкозаміну гідрохлорид; N-ацетилглюкозамін; експериментальний аутоімунний гломерулонефрит

Пошук ефективних засобів патогенетичного лікування хронічних гломерулонефритів є актуальною і до цього часу невирішеною проблемою сучасної нефрології. Відомо, що важливим компонентом базальної мембрани нефронів є аміноцукор глюкозамін, що входить до складу її захисного шару, утвореного глікозаміногліканами. У зв'язку з цим глюкозамін та деякі його похідні проявляють виражені нефропротекторні властивості, підтверджені в ході експериментальних досліджень на тваринах з доксорубіциновою нефропатією. У даній роботі наведені результати вивчення фармакологічних властивостей глюкозаміну гідрохлориду та N-ацетилглюкозаміну в умовах розвитку у щурів експериментального аутоімунного гломерулонефриту. У рамках дослідження було визначено вплив даних субстанцій на функціональні показники нирок та деякі клінічні показники крові тварин з гломерулонефритом. Результати експерименту свідчать про те, що у порівнянні з контрольними препаратами дослідні засоби вірогідно знижують прояви нефротичного та набрякового синдромів, посилюють клубочкову фільтрацію і канальцеву реабсорбцію, а також покращують клінічні показники крові. Подібний комплекс фармакологічної активності дозволяє рекомендувати представлені гексозаміни для використання у комплексній терапії пацієнтів з хронічними гломерулонефритами.

Актуальною проблемою сучасної медицини є лікування хворих на хронічні гломерулонефрити, що пов'язано з відсутністю у клінічній практиці ефективних засобів патогенетичної терапії [8]. Однією з ланок патогенетичних механізмів розвитку гломерулонефритів є порушення структурно-функціональної організації базальної мембрани (БМ) нефронів. Про це свідчить достовірне підвищення концентрації глікозаміногліканів та їх мономерів у сироватці крові та сечі хворих на хронічні гломерулонефрити, яке є результатом запально-деструктивних процесів у нирках [7]. Тому одним з напрямків терапії даної патології повинно бути застосування засобів, що чинять протекторну дію стосовно БМ [15,

17]. Таким чином, пошук засобів з подібним типом активності є актуальною задачею сучасної експериментальної фармакології.

Важливою структурною особливістю базальної мембрани є наявність захисного шару, утвореного глікозаміногліканами, що обумовлюють зарядоселективність ниркового фільтра, сприяють нормалізації гемодинаміки у нефроні [13, 14], приховують антигенні зони БМ і таким чином перешкоджають розвитку аутоімунних реакцій, що лежать у патогенезі більшості імунозапальних захворювань нирок [11, 16]. У свою чергу, основним компонентом глікозаміногліканів є аміноцукор глюкозамін (ГА), який у вигляді O-сульфатованих та N-ацетильованих похідних обумовлює більшість спе-

цифічних властивостей захисного шару БМ [10, 12, 14]. Слід відмітити, що вміст даного гексозаміну у нирках має вагомий характер, тому що на 12% базальні мембрани складаються з глюкозаміновмісних макромолекул (гепаран-сульфату, хондроїтин-4-сульфату, агрину, перлекану та ін.) [2, 12, 17]. Глюкозамін є природним гексозаміном, який входить до складу різноманітних біополімерів до структури більшості біологічних мембран, міжклітинної речовини та інших елементів сполучнотканинного походження живих організмів, таким чином виконуючи пластичну функцію [3, 10]. Він є речовиною практично безпечною для організму людини, володіє вираженою мембранопротекторною дією, а також проявляє повільну антиоксидантну та протизапальну активність [2].

Протягом останнього часу авторами проведено вивчення впли-

Таблиця 1

Вплив дослідних аміноцукрів на деякі показники, що характеризують функціональний стан нирок щурів на тлі аутоімунного гломерулонефриту (n=72)

Умови досліджу	Термін досліджу, доба	Відносний діурез, %	Протеїнурія, мг/добу	ШКФ, мл/добу	Канальцева реабсорбція, %	МКН, %
Інтактний контроль	60	50,89±0,48	1,92±0,37	404,9±10,8	98,06±0,08	0,303±0,005
	90	50,86±0,63	1,55±0,27	415,5±13,3	98,00±0,04	0,302±0,003
Контрольна патологія	60	57,65±0,96**	54,81±4,96**	216,6±11,2**	95,86±0,21**	0,354±0,005**
	90	47,25±1,01**	45,60±5,15**	208,0±15,0**	95,3±0,29**	0,384±0,006**
ГА гідрохлорид, 50 мг/кг	60	53,38±0,69*	27,82±1,63*	304,6±10,1*	97,47±0,09*	0,324±0,003*
	90	50,35±0,89*/***	15,58±1,94*/***	279,7±7,9*	96,70±0,11*	0,329±0,004*
N-ацетил ГА, 50 мг/кг	60	53,83±0,90*	30,11±1,60*	287,5±13,0*	97,12±0,15*	0,324±0,004*
	90	51,79±0,60*/***	21,60±2,06*	266,9±9,4*	96,37±0,13*	0,353±0,006*
Преднізолон, 1,9 мг/кг	60	48,26±0,59	16,18±1,08*	320,0±18,3*	97,62±0,10*	0,312±0,005*
	90	44,83±0,65	27,22±2,27*	247,1±15,24	96,26±0,34	0,330±0,005*
Фраксипарин, 170 ОД/кг	60	55,52±0,32	38,21±2,22*	285,7±12,7*	96,53±0,15	0,306±0,003*
	90	45,40±0,78	32,33±1,75*	267,2±10,9*	95,95±0,28	0,349±0,002*

Примітки:

- 1) * — $p \leq 0,05$ відносно контрольної групи;
- 2) ** — $p \leq 0,05$ відносно інтакту;
- 3) *** — $p \leq 0,05$ відносно референт-препаратів.

ву деяких похідних глюкозаміну на перебіг доксорубіцинової нефропатії у лабораторних щурів. У ході даного дослідження було визначено, що такі похідні як глюкозаміну гідрохлорид та N-ацетилглюкозамін (N-ацетил ГА) знижують прояви нефротичного та набрякового синдромів, нормалізують функціональні показники нирок та негативні зміни біохімічних показників організму щурів, тобто чинять виражену нефропротекторну дію [4, 9]. Особливої уваги заслуговує те, що в ході розвитку нефропатії було відмічено зниження вмісту ендогенних гексозамінів у паренхімі нирок та їх відповідне підвищення у сироватці крові тварин [3]. Це вказує на високу інтенсивність перебігу мембранодеструктивних процесів у нирковій тканині. В той же час при лікуванні тварин дослідними субстанціями спостерігалось відновлення ендогенних резервів аміноцукрів і нормалізація їх співвідношення у нирках та крові, що вказує на зниження руйнування структурних елементів нирок [3].

Отже, можна зробити висновок, що глюкозаміну гідрохлорид

та N-ацетилглюкозамін є сполуками потенційно придатними для лікування хворих на хронічні гломерулонефрити, в зв'язку з чим великий науковий інтерес представляє дослідження впливу розглянутих субстанцій на перебіг аутоімунного гломерулонефриту у лабораторних тварин, що й є метою даної роботи.

Матеріали та методи

Експериментальні дослідження виконані на 72 білих нелінійних щурах-самцях з початковою масою 150-170 г, що утримувались на стандартному харчовому раціоні віварію при вільному доступі до питної води, постійній вологості та температурному режимі.

Аутоімунний гломерулонефрит у щурів відтворювали за методом Neumann W. у модифікації (Віхерт А.М. та співавт., 1973) шляхом імунізації тварин за допомогою 20% емульсії коркового шару нирок у сполученні з повним ад'ювантом Фрейнда ("Sigma", США) у співвідношенні 1:1 [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 піхвові зони, а також внутрішньоочеревинно.

Всі тварини були розділені на 6 експериментальних груп по 12 тварин у кожній: інтактні тварини; щури з контрольною патологією; тварини з гломерулонефритом, які отримували ГА гідрохлорид ("Protein Chemicals", Японія) в умовно терапевтичній дозі 50 мг/кг; тварини, яких лікували N-ацетил ГА ("Protein Chemicals", Японія) в умовно терапевтичній дозі 50 мг/кг; щури, які на тлі гломерулонефриту отримували референт-препарати "Преднізолон" у дозі 1,9 мг/кг (ЕД₅₀ за протизапальною активністю) та "Фраксипарин" у дозі 170 ОД/кг (середня терапевтична доза для людини, перерахована за методом Ю.С.Риболовлева). Всі препарати вводили щоденно 1 раз на добу перорально окрім фраксипарину, який вводився підшкірно. Введення дослідних засобів проводили протягом двох місяців, починаючи через місяць після відтворення патології.

Таблиця 2

Динаміка деяких клінічних показників крові щурів з аутоімунним гломерулонефритом під впливом експериментальної терапії (n=72)

Умови досліджу	Термін досліджу, доба	Гемоглобін, г/л	Еритроцити, $\times 10^{12}/л$	КП	Лейкоцити, $\times 10^9/л$	ШОЕ, мм/год
Інтактний контроль	60	153,7 \pm 1,6	5,28 \pm 0,18	0,88 \pm 0,02	9,52 \pm 0,70	3,50 \pm 0,43
	90	153,5 \pm 1,5	5,32 \pm 0,18	0,87 \pm 0,04	9,45 \pm 0,67	3,67 \pm 0,42
Контрольна патологія	60	145,6 \pm 2,2**	4,96 \pm 0,12	0,88 \pm 0,01	17,88 \pm 0,48**	15,60 \pm 1,17**
	90	141,5 \pm 2,7**	4,93 \pm 0,13	0,86 \pm 0,01	15,48 \pm 0,87**	11,00 \pm 1,47**
ГА гідрохлорид, 50 мг/кг	60	150,5 \pm 1,0	5,13 \pm 0,10	0,88 \pm 0,02	15,20 \pm 0,85*	10,00 \pm 0,93*
	90	151,2 \pm 2,1*	5,27 \pm 0,10	0,86 \pm 0,01	10,78 \pm 0,80*	7,17 \pm 0,70*
N-ацетил ГА, 50 мг/кг	60	150,2 \pm 1,3	5,18 \pm 0,10	0,87 \pm 0,01	15,27 \pm 0,76*	11,00 \pm 0,58*
	90	147,9 \pm 1,4	5,20 \pm 0,09	0,85 \pm 0,01	11,08 \pm 0,66*	8,17 \pm 0,54*
Преднізолон, 1,9 мг/кг	60	156,1 \pm 2,7*	5,38 \pm 0,11	0,87 \pm 0,01	8,70 \pm 0,43*	7,00 \pm 0,52*
	90	152,4 \pm 2,0*	5,30 \pm 0,09	0,86 \pm 0,01	12,62 \pm 0,83*	8,20 \pm 0,66*
Фраксипарин, 170 ОД/кг	60	149,9 \pm 1,6	5,25 \pm 0,15	0,86 \pm 0,02	16,40 \pm 0,48	12,17 \pm 0,54*
	90	148,8 \pm 2,3	5,26 \pm 0,09	0,85 \pm 0,01	12,64 \pm 0,57*	8,20 \pm 0,80*

Примітки:

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

2) ** — $p \leq 0,05$ відносно інтакту.

Для визначення функціонального стану нирок щурів та ступеня патологічних змін в організмі на 60 та 90 добу експерименту дослідження проводили за наступною схемою. Тварин поміщали до індивідуальних метаболічних кліток, де утримували протягом доби, після чого визначали спонтанний добовий діурез, обсяг випитої рідини та розраховували відносний діурез. Після цього їх зважували та негайно виводили з досліджу по 6 особин з кожної групи (з дотриманням міжнародних біоетичних вимог по роботі з тваринами) з метою отримання біоматеріалу для проведення клінічних та біохімічних досліджень. У тварин проводили повний клінічний аналіз крові. У зібраній сечі визначали вміст білка (нефелометричним методом по реакції з сульфосаліциловою кислотою), вивчали сечовий осад [5]. Також за допомогою біохімічних наборів "Lachema" (Чехія) визначали креатинін крові та сечі (за реакцією з пікриновою кислотою), а потім розраховували швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) та канальцеву реабсорбцію за допомогою загальноприйнятих методів [5]. Для оцінки загального стану

нирок визначали їх масу та масовий коефіцієнт (МКН).

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

Результати та їх обговорення

Результати проведених досліджень свідчать про те, що наприкінці третього тижня після імунізації у більшості тварин з контрольною патологією виникали перші клінічні ознаки захворювання і далі набували розгорнутого характеру через 7-8 тижнів. Щури були кволими, малорухливими, з проявами асцити, не з'їдали денну норму їжі. У ході клінічного аналізу сечі було визначено наявність у сечовому осаді високого вмісту лейкоцитів та переважно гіалінових циліндрів (до 17-20 в полі зору), мікрогематурія. На 60 добу спостерігалось вірогідне збільшення, а далі на 90 добу — зменшення відносного діурезу, що свідчить про затримку рідини в організмі (табл. 1). Протягом всього експерименту спостерігалась виражена протеїнурія, яка на 90 добу перевищувала рівень інтакт-

них тварин майже в 30 разів. Також у контрольній групі було відмічено: значне зниження ШКФ (на 90 добу приблизно в 2 рази у порівнянні з інтактом); зниження канальцевої реабсорбції, що вказує на пошкодження канальцевих структур нефрону; підвищення МКН, що свідчить про розвиток запальних та набрякових процесів у нирках.

При лікуванні тварин похідними глюкозаміну спостерігалась зовсім інша клінічна картина (табл. 1). Показник відносного діурезу на 90 добу був вірогідно вищим ніж у контрольній групі, а також ніж у тварин, які отримували референт-препарати. Вагомий вплив дослідні гексозаміни чинили на рівень протеїнурії, знижуючи її не тільки більше ніж у тварин з нефропатією, а й більше ніж при використанні препаратів порівняння. Заслуговує на увагу те, що найбільше це було виражено у ГА гідрохлориду, під впливом якого вміст білка у сечі був знижений в 3 рази відносно контрольної патології. Було відмічено, що вірогідно підвищувався рівень ШКФ та канальцевої реабсорбції, причому на 90 добу ці показники були кращими, ніж у тварин, що

отримували референт-препарати. Слід відмітити, що показники ШКФ та каналцевої реабсорбції при використанні преднізолону на 90 добу не мали вірогідних відмінностей від контрольної патології, що може пояснюватись мінералокортикоїдною активністю препарату. Також спостерігалось значне зменшення МКН у порівнянні з контрольними тваринами, причому цей показник найменших значень досягав саме при лікуванні щурів ГА гідрохлоридом. Все це свідчить про позитивний вплив досліджених аміноцукрів на функціональні показники нирок тварин на тлі аутоімунного гломерулонефриту, що особливо було виражено при використанні глюкозаміну гідрохлориду.

У табл. 2 представлені дані впливу експериментальної терапії на деякі клінічні показники крові щурів з гломерулонефритом. Певна динаміка змін спостерігалась у такому показнику, як гемоглобін крові. Так, він був вірогідно нижчим у групі контрольної патології, ніж у інтактних тварин протягом всього дослідження, що свідчить про розвиток ренальної анемії. Це пояснюється зниженням кількості еритропоетинсинтезуючих клітин з нормальним функціонуванням у нирках під впливом запально-деструктив-

них процесів. При лікуванні тварин ГА гідрохлоридом цей показник був вищим за показник у контрольних тварин тільки на 90 добу, а при використанні N-ацетил ГА рівень гемоглобіну не мав вірогідних відмінностей від контрольної патології. Серед препаратів порівняння заслуговує на увагу група, тварини якої отримували преднізолон, тому що вміст гемоглобіну у цих щурів був на рівні інтакту, а на 60 добу навіть перевищував його, що можна пояснити позитивним впливом глюкокортикостероїдів на еритропоетинсинтезуючу функцію нирок.

У таких показниках як вміст еритроцитів та кольоровий показник (КП) протягом експерименту спостерігались невірогідні зміни. На відміну від цього значна динаміка була відмічена у загальних показниках запалення, таких як вміст лейкоцитів та швидкість осідання еритроцитів (ШОЕ). Так, у щурів з контрольною патологією вже на 60 добу експерименту вміст лейкоцитів був майже вдвічі більшим за рівень у інтактних тварин, а показник ШОЕ перевищував його більше, ніж у 4 рази. В той же час при використанні гексозамінів ці показники були вірогідно нижчими, ніж у щурів з контрольною патологією протягом усього експерименту. Серед

дослідних груп, у яких використовували референт-препарати, розглянуті показники були вірогідно нижчими на 60 добу дослідження, ніж у тварин з контрольною патологією, окрім тварин, яких лікували фраксипарином. Таким чином, можна зробити висновок, що дослідні субстанції у тварин з аутоімунним гломерулонефритом нормалізують клінічні показники крові, особливо такі, як рівень лейкоцитів та ШОЕ, що вказує на зниження інтенсивності запальних процесів в організмі щурів.

ВИСНОВКИ

1. Глюкозаміну гідрохлорид та N-ацетилглюкозамін при використанні у лабораторних тварин з аутоімунним гломерулонефритом знижують прояви набрякового та нефротичного синдромів, а також покращують функціональний стан нирок та клінічні показники крові.

2. Представлені гексозаміни є перспективними для подальшого поглибленого вивчення їх нефропротекторної активності та механізмів дії з метою використання в комплексній терапії хворих на гломерулонефрити та ниркову недостатність.

3. Такий комплекс фармакологічної активності найбільше був виражений у глюкозаміну гідрохлориду.

ЛІТЕРАТУРА

1. Вихерт А.М., Соколова И.Р., Быковская Н.К. //Архив патологии. — 1973. — Т. 35, №11. — С. 15-21.
2. Зупанець І.А., Бездітко Н.В., Пропіснова В.В. //Клінічна фармація. — 2002. — Т. 6, №2. — С. 54-56.
3. Зупанець І.А., Попов С.Б., Шебеко С.К. та ін. //Клінічна фармація. — 2004. — Т. 8, №4. — С. 34-37.
4. Зупанець І.А., Шебеко С.К. //Фармац. журн. — 2006. — №1. — С. 92-99.
5. Камышников В.С. Клинико-биохимическая лабораторная диагностика: Справ. В 2-х т. Т. 1. — 2-е изд. — Мн: Интерпрессервис, 2003. — 495 с.
6. Лапач С.Н., Чубенко А.В., Бабиц П.Н. Статистические методы в медико-биологических исследованиях с использованием Excel. — К.: Морион, 2000. — 320 с.
7. Павлов С.Б. //Клиническая медицина. — 1998. — Т. 76, №2. — С. 41-43.
8. Смирнов А.В., Каюков И.Г., Есаян А.М. и др. //Нефрология. — 2004. — Т. 8, №3. — С. 7-14.
9. Шебеко С.К., Зупанець І.А., //Клінічна фармація. — 2005. — Т. 9, №2. — С. 34-38.
10. Aminosugars: The chemistry and biology of compounds, containing aminosugars / Ed. T.A.Balazs, R.W.Jeanloz. — New York, London: Acad. Press, 1965. — 2A. — 592 p.
11. Deen W.M., Lazzara M.J., Myers B.D. //Am. J. Physiol. Renal. Physiol. — 2001. — Vol. 281. — P. F579-F596.
12. Ericsson A.C., Couchman J.R. //J. Histochem. Cytochem. — 2000. — Vol. 48. — P. 1291-1306.

13. Gambaro G., Van Der Woude F. // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2000. — Vol. 11. — P. 359-368.
14. Groffjen A.J., Veerkamp J.H., Monnens L.A., Van Den Heuvel L.P. // *Nephrol. Dial. Transplant.* — 1999. — Vol. 14. — P. 2119-2129.
15. Mundel P., Shankland S. // *J. Am. Soc. Nephrol.* — 2002. — Vol. 13. — P. 3005-3015.
16. Pavenstødt H., Kriz W., Kretzler M. // *Physiol. Rev.* — 2003. — Vol. 83. — P. 253-307.
17. Raats I.C.J., Van Den Born J., Berden J.H.M. // *Kidney Int.* — 2000. — Vol. 57. — P. 385-400.

Адреса для листування: 61002, м. Харків,
вул. Пушкінська, 27. Тел. (057) 706-30-72.
Національний фармацевтичний університет

Надійшла до редакції 03.05.2006 р.

Інформаційне повідомлення відділу фармакологічного нагляду Державного фармакологічного центру МОЗ України

Про підозрювану побічну дію препарату **“Дуовіт”** (драже різного кольору) виробництва “KRKA d.d. Novo mesto”, Словенія

Хворому М. (23 роки) з діагнозом періартеріт міжфалангових з'єднань 3-го пальця лівої кисті для підвищення реактивності організму був призначений дуовіт (1 червоне та 1 синє драже перорально один раз на добу). Після першого прийому через 1-2 хв хворий відчув виражену загальну слабкість, озноб, артеріальний тиск знизився до 70/0 мм рт.ст. Дуовіт відмінили, для корекції стану пацієнта призначили дексаметазон, корглікон, кордіамін. Після вжитих невідкладних заходів вказані явища зникли без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Рівненського регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.

Про підозрювану побічну дію препарату **“Бетадин”** (супозиторії вагінальні по 0,2 г) виробництва “EGIS”, Угорщина

Хворій М. (29 років) з діагнозом гострий вульвовагініт був призначений бетадин (по 1 супозиторію 1 раз на добу вагінально). Через 1 год після застосування препарату у неї виникли виражений свербіж та набряк зовнішніх статевих органів. Одночасно приймала флуконазол, абактал, метрогіл, лінекс. Після відміни бетадину та призначення діазоліну зазначені явища зникли без наслідків.

Алергологічний анамнез не обтяжений. Будь-які незвичайні реакції на ліки або хімічні речовини в минулому невідомі.

Інформація надійшла від Сумського регіонального відділення ДФЦ МОЗ України.