

УДК 615.277:616-006.6-06:616.61-008.64-008.331.1-092-092.19

Т. С. ЩУДРОВА, І. І. ЗАМОРСЬКИЙ

Буковинський державний медичний університет

ВПЛИВ ОРГАНСПЕЦИФІЧНИХ ПЕПТИДІВ НА ДЕЯКІ ЛАНКИ ПАТОГЕНЕЗУ ЦИСПЛАТИН-ІНДУКОВАНОГО УРАЖЕННЯ НИРОК

Досліджено вплив органоспецифічних пептидів на стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги та активність сукцинатдегідрогенази в тканині нирок, а також на активність гамма-глутамілтранс-пептидази в сечі щурів в умовах цисплатин-індукованого ураження нирок. Встановлено, що органоспецифічні пептиди виявляють антиоксидантні властивості, чинять захисний вплив на клітини проксимальних канальців та покращують стан енергетичного обміну в нирках.

Ключові слова: органоспецифічні пептиди; цисплатинова гостра ниркова недостатність; антиоксидантні властивості

ВСТУП

Близько 18-27 % випадків гострої ниркової недостатності (ГНН) є наслідком фармакотерапії [7]. Цисплатин є одним з найбільш потужних хіміотерапевтичних агентів, але головним обмежуючим чинником його застосування є нефротоксичність, яка виникає у третини пацієнтів [11, 12]. Однією з найважливіших ланок патогенезу цисплатин-індукованого ураження нирок є оксидативний стрес, адже головною мішенню для препарату є мітохондрії клітин S3 сегменту проксимальних ниркових канальців, де він викликає порушення функціонування дихального ланцюга та генерацію активних форм кисню (АФК), продукція яких тісно пов'язана з розвитком енергодефіциту [13, 15]. Сукцинатдегідрогеназа (СДГ) є ключовим ферментом циклу Кребса, пов'язаним з генерацією АТФ, тому зниження її активності вказує на uszkodження аеробного метаболізму. Після проникнення в клітину цисплатин зв'язується з глутатіоном та метаболізується γ -глутамілтранс-пептидазою (γ -ГТП) у токсичний реактивний тіол. За даними літератури відомо, що зростання експресії γ -ГТП у нирках призводить до підвищення чутливості до токсичної дії цисплатину [10], а збільшення активності ферменту в сечі є найбільш раннім специфічним маркером ураження проксимальних канальців нирок [14]. Зважаючи на це, актуальним є пошук ренопротекторних препаратів, здатних впливати на основні механізми розвитку цисплатинового ураження нирок та зменшувати нефротоксичність [1].

Ендогенні пептиди володіють широким спектром біологічної дії, впливають на процеси клітинного ро-

сту та розвитку, координують функції багатоклітинних систем. Було встановлено, що короткі пептиди здатні впливати на експресію ядерних та мітохондріальних генів, відповідальних за регуляцію клітинного метаболізму та захисних систем клітин [8]. Однією з найбільш важливих регуляторних функцій ендогенних пептидів є обмеження активації вільнорадикальних процесів, підтримка здатності антиоксидантної системи протидіяти оксидативному стресу [3, 9]. Для дослідження були обрані органоспецифічні пептиди, розроблені у Санкт-Петербурзькому інституті біорегуляції та геронтології РАН: поліпептидний комплекс нирок, а також синтезовані на його основі трипептиди Т-31 (Ala-Glu-Asp) та Т-35 (Glu-Asp-Leu) та близький за структурою до вказаних трипептидів тетрапептид епіфізу епіталон (Ala-Glu-Asp-Gly).

Метою дослідження було вивчення стану прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в нирках, активності СДГ у тканині нирок та активності γ -ГТП у сечі за умов розвитку цисплатинової ГНН та застосування органоспецифічних пептидів у профілактично-лікувальному режимі.

МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Досліди проведено на 42 статевозрілих нелінійних білих щурах масою 150-200 г. Тварин було розподілено на 6 груп (n=7): I група – інтактний контроль, II група – модельна патологія (цисплатинова ГНН). Тваринам III-VI груп протягом 4-х днів до та 3-х днів після введення цисплатину вводили препарати органоспецифічних пептидів: щури III групи отримували пептидний комплекс нирок (300 мкг/кг), IV групи – трипептид Т-35 (3 мкг/кг), V групи – трипептид Т-31 (3 мкг/кг), VI групи – тетрапептид епіталон (7 мкг/кг).

ПОКАЗНИКИ ПРООКСИДАНТНО-АНТИОКСИДАНТНОГО СТАНУ В ТКАНИНІ НИРОК (M±m)

Показник	Контроль	Модельна патологія (ГНН)	ГНН + пептидний комплекс	ГНН + T-35	ГНН + T-31	ГНН + Епіталон
Активність ГП, нмоль/хв·мг тканини	140,70 ± 6,07	80,38 ± 11,06 p ₁ ≤ 0,01	97,78 ± 5,52	130,67 ± 7,64 p ₂ ≤ 0,01	124,57 ± 3,36 p ₂ ≤ 0,01	98,92 ± 6,52
Активність КТ, мкмоль/хв·г тканини	8,59 ± 0,02	3,78 ± 0,67 p ₁ ≤ 0,01	5,64 ± 0,26 p ₂ ≤ 0,01	4,34 ± 0,21	4,08 ± 0,27	6,24 ± 0,63 p ₂ ≤ 0,01
Вміст МА, мкмоль/г білка	19,08 ± 0,40	36,41 ± 1,64 p ₁ ≤ 0,01	27,80 ± 1,21 p ₂ ≤ 0,01	20,22 ± 1,00 p ≤ 0,01	20,26 ± 1,05 p ₂ ≤ 0,01	26,96 ± 1,04 p ₂ ≤ 0,01
Вміст ОМБ, о.о.г./г білка	9,47 ± 0,27	16,71 ± 0,64 p ₁ ≤ 0,01	10,09 ± 0,29 p ₂ ≤ 0,01	6,57 ± 0,24 p ₁ ≤ 0,01 p ₂ ≤ 0,01	7,81 ± 0,50 p ₁ ≤ 0,01 p ₂ ≤ 0,05	10,61 ± 0,67 p ₂ ≤ 0,01

Примітки:

1) p₁ – показник достовірності різниці з даними інтактного контролю;2) p₂ – показник достовірності різниці з даними модельної патології.

ГНН викликали шляхом одноразового внутрішньоочеревинного (в/о) введення цисплатину в дозі 6 мг/кг за 72 год до виведення тварин з експерименту [5]. Евтаназію тварин здійснювали шляхом декапітації під ефірною анестезією.

Активність γ-ГТП у сечі визначали за реакцією з L-g-глутаміл-п-нітроанілідом [2]. Стан пероксидації в нирках оцінювали за вмістом малонового альдегіду (МА) та окисно-модифікованих білків (ОМБ), системи антиоксидантного захисту – за рівнем каталази (КТ) та глутатіонпероксидази (ГП) [4]. Активність СДГ у тканині нирок визначали за інтенсивністю відновлення фериціаніду калію [6].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistica 17.0. Достовірність різниці між показниками оцінювали за допомогою параметричного *t*-критерію Стьюдента (при нормальному розподілі) та непараметричного *U*-критерію Манна-Уїтні (при невідповідності нормальному розподілу). Наявність кореляційного зв'язку вста-

новлювали за допомогою коефіцієнта кореляції Спірмена. Критичний рівень значення був прийнятий за $p \leq 0,05$.

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Розвиток цисплатинової ГНН супроводжувався значним пригніченням активності ферментативної ланки антиоксидантного захисту (табл.). Активність ГП у тканині нирок зменшилась на 43 %, активність КТ – на 56 % ($p \leq 0,01$). Це супроводжувалось активацією процесів пероксидації білків та ліпідів у нирковій тканині – вміст МА збільшився на 47 %, ОМБ – на 42 % ($p \leq 0,01$). Значний ступінь пошкодження клітин ниркових каналців підтверджувався збільшенням активності γ-ГТП сечі (рис. 1) на 96 % та зменшенням активності СДГ (рис. 2) у тканині нирок на 58 % ($p \leq 0,01$). Введення пептидного комплексу нирок та епіталону не вплинуло на активність ГП тканини нирок, але призвело до збільшення активності КТ в 1,5 рази в III групі тварин, та в 1,6 рази в VI гру-

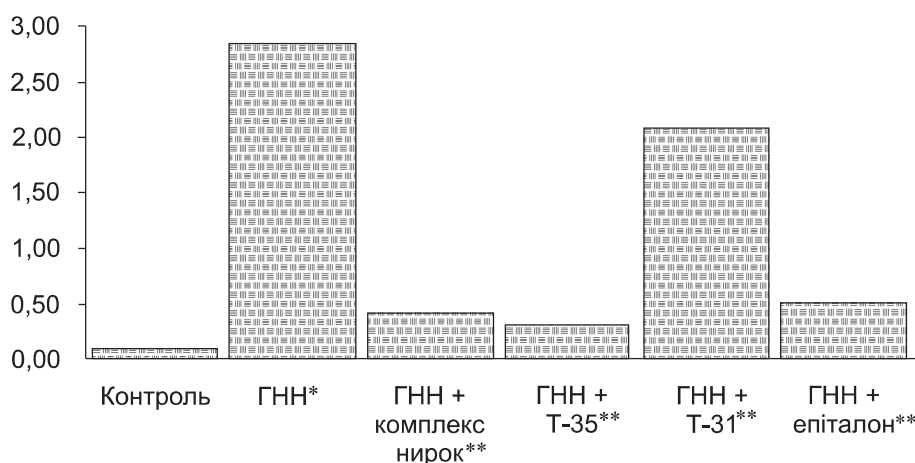


Рис. 1. Активність γ-ГТП у сечі, ммоль/(год·л).

Примітки (до рис. 1 та 2):

1) * – $p < 0,05$ відносно інтактного контролю;2) ** – $p < 0,05$ відносно модельної патології.

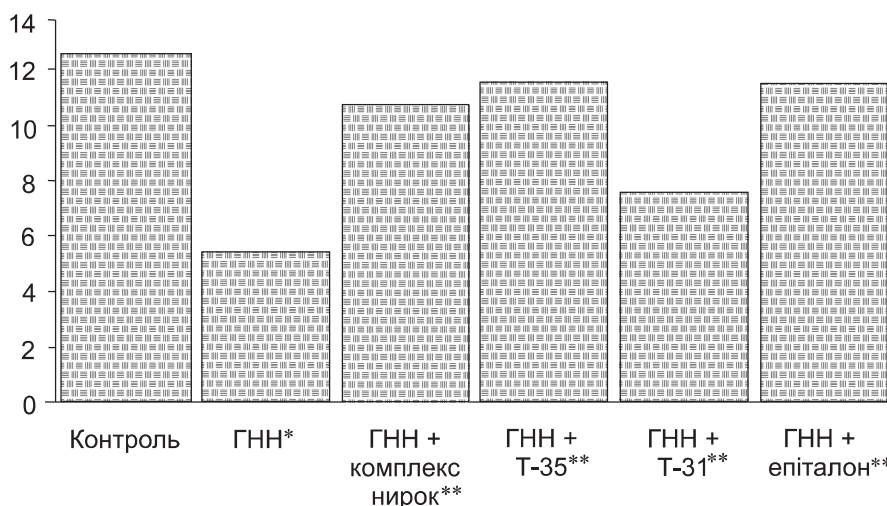


Рис. 2. Активність СДГ у тканині нирок, нмоль сукцинату/мг білка/хв.

пі порівняно з групою модельної патології ($p \leq 0,01$). Протилежний ефект спостерігався при застосуванні олігопептидів нирок: у IV групі щурів активність ГП збільшилась в 1,6 рази, в V групі – в 1,5 рази у порівнянні з групою нелікованих тварин ($p \leq 0,01$). Активність каталази в цих групах достовірно не збільшилась. При аналізі стану прооксидантної системи виявлений коригувальний вплив всіх досліджуваних препаратів на стан пероксидації у тканині нирок. У групі тварин, яким вводили пептидний комплекс нирок, вміст МА достовірно зменшився в 1,3 рази, вміст ОМБ – в 1,7 рази ($p \leq 0,01$) порівняно з групою модельної патології. Застосування епіталону зменшило вміст МА в 1,4 рази, вміст ОМБ – в 1,6 рази ($p \leq 0,01$). Більш виразний ефект спостерігався в IV та V групах тварин (введення олігопептидів нирок T-35 та T-31): вміст МА в тканині нирок достовірно зменшувався в 1,8 рази ($p \leq 0,01$) в обох групах, вміст ОМБ зменшився під впливом T-31 в 2,1 рази порівняно з групою модельної патології та в 1,2 рази порівняно з групою контролю ($p \leq 0,01$). Застосування T-35 призвело до зменшення вмісту ОМБ в 2,5 рази у порівнянні з II групою тварин та в 1,4 рази у порівнянні з I групою ($p \leq 0,01$).

Захисний вплив органоспецифічних пептидів на тканину нирок підтверджувався достовірним зменшенням активності γ -ГТП у сечі тварин III групи у 9,2 рази ($p \leq 0,01$), IV групи – у 14,9 рази ($p \leq 0,01$), V групи – у 2,3 рази ($p \leq 0,05$) та VI групи – у 7,9 рази ($p \leq 0,01$). Збільшення активності СДГ на 50 % ($p \leq 0,01$) у III групі, на 53 % ($p \leq 0,01$) у IV групі, на 26 % ($p > 0,05$) та на 54 % ($p \leq 0,01$) у V та VI групах, відповідно, вказує на покращення стану аеробного метаболізму в нирках під впливом органоспецифічних пептидів.

При застосуванні епіталону було встановлено наявність оберненої кореляційної залежності середньої сили між активністю СДГ та вмістом МДА ($r = -0,7$) та між активністю СДГ та γ -ГТП ($r = -0,7$). У групі тварин, яким вводили T-35, виявлена обернена кореляційна

залежність між активністю ГП та γ -ГТП ($r = -0,5$), між активністю СДГ та γ -ГТП ($r = -0,6$), а також слабка пряма кореляційна залежність між активністю СДГ та ГП ($r = 0,4$). Встановлені кореляційні зв'язки свідчать про вплив олігопептидів на різні ланки патогенезу ГНН.

ВИСНОВКИ

При застосуванні органоспецифічних пептидів в умовах цисплатин-індукованого ураження нирок виявлені їх антиоксидантні властивості, що поєднуються з нормалізуючим впливом на стан енергетичного обміну в тканині нирок та захисним ефектом на клітини проксимальних каналців. Більш виражений нефропротекторний ефект показав олігопептид нирок T-35.

ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ

1. Йолтухівський М. М. Вплив пропаргілгліцину та натрію гідросульфіді на індуковані цисплатином зміни функціонального стану нирок щурів / М. М. Йолтухівський // Вісник ВНМУ. – 2012. – Т. 16, № 2. – С. 257-262.
2. Камышников В. С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В. С. Камышников. – М., 2009. – 880 с.
3. Козина Л. С. Влияние биологически активных тетрапептидов на свободнорадикальные процессы / Л. С. Козина // Бюлл. эксперим. биол. и медицины. – 2007. – Т. 143, № 6. – С. 690-692.
4. Магальяс В. М. Сучасні методики експериментальних та клінічних досліджень центральної науково-дослідної лабораторії БДМА / В. М. Магальяс, А. О. Михеев, Ю. Є. Роговий. – Чернівці: БДМА, 2001. – 42 с.
5. Методи експериментального моделювання ураження нирок при фармакологічних дослідженнях: [метод. рекомендації] ДФУ України / [С. Ю. Штри-

- голь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець та ін.]. – К., 2009. – С. 9-10.
6. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен) / Под ред. М. И. Прохоровой. – Л.: Изд-во Ленингр. ун-та, 1982. – 272 с.
 7. Пентюк О. О. Нефротоксичність лікарських засобів: клінічні прояви, патофізіологічні механізми та підходи до лікування / [О. О. Пентюк, Н. І. Волошук, О. В. Машевська та ін.] // Рац. фармакотерапія. – 2009. – № 1. – С. 6-15.
 8. Хавинсон В. Х., Соловьев А. Ю. Механизм биологической активности коротких пептидов: проникновение в клетку и эпигенетическая регуляция экспрессии генов / [В. Х. Хавинсон, А. Ю. Соловьев, О. А. Ильин и др.] // Усп. совр. биол. – 2013. – № 3. – С. 310-316.
 9. Bharti V. K. Cerebral epiphyseal proteins and melatonin modulate the hepatic and renal antioxidant defense of rats / [V. K. Bharti, R. S. Srivastava, P. Subramanian et al.]. – 2011. – Vol. 2011. – P. 142-148.
 10. Hanigan M. Cisplatin nephrotoxicity: molecular mechanisms / M. Hanigan, P. Devarajan // Cancer Ther. – 2003. – Vol. 1. – P. 47-61.
 11. Miller R. Mechanisms of cisplatin nephrotoxicity / [R. P. Miller, R. K. Tadagavadi G. Ramesh et al.] // Toxins. – 2010. – Vol. 2. – P. 2490-2518.
 12. Pabla N. Cisplatin nephrotoxicity: mechanisms and renoprotective strategies / N. Pabla, Z. Dong // Kidney Int. – 2008. – Vol. 73. – P. 994-1007.
 13. Palipoch S. Biochemical and histological study of rat liver and kidney injury induced by cisplatin / S. Palipoch, C. Punsawad // J. Toxicol. Pathol. – 2013. – Vol. 26. – P. 293-299.
 14. Saleena U. V. Evaluation of urinary tubular enzymes for the detection of early kidney injury due to cisplatin chemotherapy / [U. V. Saleena, M. S. Athiyaman, F. Donald et al.] // Int. J. Biol. Med. Res. – 2012. – Vol. 3. – P. 2241-2246.
 15. Xin Yao Cisplatin nephrotoxicity: a review / [Yao Xin, P. Kessar, N. Kurtzman et al.] // Am. J. Med. Sci. – 2007. – Vol. 334 (2). – P.115-124.

УДК 615.277:616-006.6-06:616.61-008.64-008.331.1-092-092.19

Т. С. Щудрова, И. И. Заморский

ВЛИЯНИЕ ОРГАНОСПЕЦИФИЧЕСКИХ ПЕПТИДОВ НА НЕКОТОРЫЕ ЗВЕНЬЯ ПАТОГЕНЕЗА ЦИСПЛАТИН-ИНДУЦИРОВАННОГО ПОРАЖЕНИЯ ПОЧЕК

Исследовано влияние органоспецифических пептидов на состояние прооксидантно-антиоксидантного равновесия и активность сукцинатдегидрогеназы в ткани почек, а также на активность гамма-глутамилтранспептидазы в моче крыс в условиях цисплатин-индуцированного поражения почек. Установлено, что органоспецифические пептиды проявляют антиоксидантные свойства, оказывают защитное влияние на клетки проксимальных канальцев и улучшают состояние энергетического обмена в почках.

Ключевые слова: органоспецифические пептиды; цисплатиновая острая почечная недостаточность; антиоксидантные свойства

UDC 615.277:616-006.6-06:616.61-008.64-008.331.1-092-092.19

T. S. Shchudrova, I. I. Zamorskii

INFLUENCE OF THE ORGANOSPECIFIC PEPTIDES ON SOME PATHOGENETIC MECHANISMS OF THE CISPLATIN-INDUCED KIDNEY INJURY

The influence of the organospecific peptides on prooxidant-antioxidant balance, succinate dehydrogenase activity in kidney tissue and gamma-glutamyl transpeptidase activity in rats' urine under the conditions of cisplatin-induced kidney injury was studied. It was estimated that organospecific peptides show the antioxidant properties, render the protective effect on the proximal tubular cells and improve the energy metabolism in kidneys.

Key words: organospecific peptides; cisplatin-induced acute kidney failure; antioxidant properties

Адреса для листування:

58002, м. Чернівці, Театральна пл., 2.

E-mail: tshchudrova@gmail.com.

Буковинський державний медичний університет

Надійшла до редакції 21.05.2014 р.