

УДК 616.61-008.64-085.22

О. М. Горошко
І. І. Заморський
О. В. Геруш

Буковинський державний медичний
 університет, м. Чернівці

НЕФРОПРОТЕКТОРНІ ВЛАСТИВОСТІ ПРЕПАРАТІВ КВЕРЦЕТИНУ (КОРВІТИН ТА ЛІПОФЛАВОН) НА МОДЕЛІ ГЕНТАМІЦИНОВОЇ НЕФРОПАТІЇ

Ключові слова: гостра ниркова
 недостатність, кверцетин,
 корвітин, ліпофлавіон, гентаміцин.

Резюме. В експерименті на білих щурах вивчено вплив препаратів кверцетину - водорозчинного корвітину та ліпосомального ліпофлавіону - на перебіг гострої ниркової недостатності, викликану внутрішньом'язовим введенням гентаміцину сульфату у дозі 80 мг/кг. Препарати вводили одноразово внутрішньоочеревинно у дозі 8 мг/кг через 40 хв після моделювання патології нирок. Функцію нирок досліджували на 7 день експерименту. Доведено, що препарати кверцетину проявляють захисну дію на організм щурів при гентаміциновій нефропатії. Ліпосомальний препарат ліпофлавіон краще нормалізує функцію нирок при експериментальній гентаміциновій гострій нирковій недостатності.

Вступ

Серед інших форм патології нирок гостра ниркова недостатність (ГНН) — частий і небезпечний невідкладний стан, що досить швидко призводить до летального наслідку [10]. Це обумовлено тим, що ГНН ускладнює перебіг багатьох захворювань. Спектр хвороб, що можуть ускладнюватися виникненням ГНН, дуже різноманітний [2]. Досить часто виникають медикаментозні форми ГНН внаслідок нефротоксичної дії низки ліків (з них близько 60% спричинено вживанням антибіотиків).

Відомо, що антибіотик гентаміцин з групи аміноглікозидів викликає розвиток медикаментозної нефропатії внаслідок токсичності та переважного виведення з організму нирками шляхом фільтрації та секреції [14]. Згідно наших попередніх досліджень [6, 7] доведено нефропротекторні властивості препаратів кверцетину.

Мета дослідження

Підтвердити нефропротекторні властивості на моделі ГНН, викликаній гентаміцином.

Матеріал і методи

Експериментальні дослідження проводили на 28 нелінійних білих щурах масою 120–180 г. Для дослідження препаратів використовували гентаміцинову нефропатію, яку викликали внутрішньом'язовим введенням щурам гентаміцину сульфату (корпорація “Артеріум” АТ “Галичфарм”, Україна) у дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом 6 днів.

Досліджені у роботі препарати є вітчизняними препаратами антиоксиданту рослинного походження кверцетину, в яких ця речовина знаходиться у водорозчинній (препарат корвітин) та ліпосомальній (препарат ліпофлавіон) формах. Препарати (корвітин та ліпофлавіон) вводили внутрішньоочеревинно у дозі 8 мг/кг через 40 хв після моделювання ГНН. Дозу цього лікарського засобу обрали виходячи із даних літератури [8, 9]. Препарати кверцетину вивчали на фоні тривалого (7 діб) введення. Вплив препаратів кверцетину на функцію нирок у тварин досліджували на фоні водного навантаження організму. Водне навантаження створювали шляхом внутрішньошлункового введення питної води кімнатної температури в об'ємі 5% від маси тіла, після чого збирали сечу протягом 2 годин. Потім тварин забували шляхом декапітації під легким ефірним наркозом дотримуючись положень “Європейської конвенції” по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях” (Страсбург, 1986). Забій тварин проводили на 7 день з моменту моделювання ГНН. Матеріалами дослідження були сеча, плазма крові, сироватка крові, гомогенат нирки в яких визначали параметри функціональної активності нирок (діурез, швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), екскреція білка, іонів калію, креатиніну), а також оцінювали стан прооксидантно-антиоксидантної системи. Останнє визначали за вмістом малонового альдегіду, продуктів окисної модифікації білків [15], активністю каталази [12] і глу-

татіонпероксидази (ГП) [4], вмістом церулоплазміну в плазмі крові [11] та сполук з SH-групами у тканині нирок. Отримані результати оброблялись методами варіаційної статистики, оцінюючи достовірність різниць за t-критерієм Ст'юдента.

Обговорення результатів дослідження

Згідно даних літератури та наших досліджень внутрішньом'язове введення гентаміцину в терапевтичній дозі викликає протеїнурію, яка свідчить про ураження нирок, й одночасно знижує ШКФ, а також порушує осморегулярну функцію нирок [5]. На тлі використання препаратів кверцетину при водному навантаженні збільшується ШКФ у 1,9 раза (при використанні корвітину) та у 2,3 раза (при використанні ліпофлакону), зростає діурез у 1,7 раза при використанні обох препаратів (табл. 1). Препарати при цьому зменшують концентрацію креатиніну як в крові майже у 2 рази, так і в сечі майже у 1,5 рази. Одночасно концентрація білка в сечі зменшується у 2,2 раза при використанні обох препаратів. Фільтраційний заряд іонів натрію зростає за рахунок збільшення екскреції цього іону. Також препарати покращують проксимальний (у 1,7 раза за введення корвітину та 1,8 раза - за ліпофлакону) та дистальний (1,9 раза - за корвітину та 2,4 раза за

ліпофлакону) транспорт іонів натрію в порівнянні з нелікованими тваринами (табл.2). Таким чином, отримані дані вказують на нефропотекторну дію препаратів кверцетину при гентаміциновій моделі ГНН. Також можна відзначити, що у лікувальному режимі ліпофлакон (ліпосомальна форма) відновлює функції нирок за даними більшості показників екскреторної функції нирок краще в порівнянні з тваринами, які лікувались корвітином. При цьому відмічається менший корегувальний вплив препаратів кверцетину на іонорегулювальну функцію нирок, а саме на показники екскреції та реабсорбції іонів натрію. При цьому стандартизовані показники екскреції іонів натрію (на 100 мкл клубочкової фільтрації) після введення препаратів кверцетину наближались до показників контрольних тварин.

У тварин за цієї моделі ГНН зростала активність ГП у 1,6 рази в порівнянні з контрольною групою тварин. При корекції препаратами активність ГП зменшувалась у 1,3 раза (введення корвітин) та 1,2 раза (введення ліпофлакон) порівняно з нелікованою групою тварин.

Препарати кверцетину одночасно зменшували вміст ТБК-залежних продуктів перекисного окиснення (МА) як в еритроцитах, так і в тканині нирок, однак не впливали на вміст окисно-модифікованих білків (табл. 3). Також препарати на-

Таблиця 1

Вплив препаратів кверцетину на показники екскреторної функції нирок у щурів з гентаміциновою нефропатією за умов водного навантаження на 7-й день експерименту (M±m, n=7)

Показник	Контроль	Модельна патологія	Гентаміцин+ корвітин	Гентаміцин+ ліпофлакон
Діурез, мл/2год	4,23±0,267	2,74±0,362 p ₁ <0,01	4,72±0,266 p ₂ <0,005	4,78±0,239 p ₂ <0,005
ШКФ, мкл/хв	608,6±67,40	271,3±52,95 p ₁ <0,005	506,7±56,37 p ₂ <0,01	633,9±63,38 p ₂ <0,005
U _{кр} , ммоль/л	1,43±0,082	1,77±0,081 p ₁ <0,01	1,28±0,050 p ₂ <0,005	1,4±0,038 p ₂ <0,005
P _{кр} , мкмоль/л	85,3±7,52	176,9±32,39 p ₁ <0,05	104,3±10,48 p ₂ <0,05	91,6±7,52 p ₂ <0,05
R _{н20} , %	93,8±0,80	90,1±1,65 p ₁ <0,05	91,9±0,69	93,5±0,49 p ₂ <0,05
U _{к+} , ммоль/л	6,79±0,576	15,57±0,767 p ₁ <0,005	12,43±0,775 p ₂ <0,01	8,50±0,577 p ₂ <0,005
E _{к+} , мкмоль/2 год	29,2±3,79	41,6±4,88 p ₁ <0,05	58,7±4,73 p ₂ <0,05	40,7±3,55
U білка, мг%	0,04±0,007	0,42±0,056 p ₁ <0,005	0,20±0,011 p ₂ <0,01	0,19±0,021 p ₂ <0,01
E білка, мг/2 год	0,15±0,017	1,08±0,150 p ₁ <0,005	0,93±0,050	0,91±0,109
E _{кр} , мкмоль/2 год	5,94±0,322	4,80±0,626	6,04±0,471	6,68±0,410 p ₂ <0,05

Примітка. ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації; U_{кр} – концентрація креатиніну в сечі; P_{кр} – концентрація креатиніну в плазмі крові; R_{н20} – реабсорбція води; U_{к+} – концентрація іонів калію в сечі; E_{к+} – екскреція іонів калію; U білка – концентрація білка в сечі; E білка – екскреція білка; E_{кр} – екскреція креатиніну; p₁ – показник вірогідності різниці з даними контролю, p₂ – показник вірогідності різниці з даними за гострої ниркової недостатності без введення препаратів

Таблиця 2

Вплив препаратів кверцетину на показники іонорегулювальної функції нирок у щурів з гентаміциновою нефропатією за умов водного навантаження на 7-й день експерименту ($M \pm m$, $n=7$)

Показник	Контроль	Моделна патологія	Гентаміцин+ Корвітин	Гентаміцин+ ліпофлавіон
U_{Na^+} , ммоль/л	0,41±0,021	0,71±0,077 $p_1 < 0,005$	0,52±0,015 $p_2 < 0,05$	0,61±0,075
E_{Na^+} , мкмоль/ 2 год	1,76±0,164	1,87±0,270	2,46±0,152 $p_2 < 0,05$	2,93±0,389 $p_2 < 0,05$
FF_{Na^+} , мкмоль/хв.	74,8±7,98	33,4±6,63 $p_1 < 0,01$	62,5±7,09 $p_2 < 0,05$	80,4±8,99 $p_2 < 0,005$
R_{Na^+} , %	99,9±0,02	99,9±0,01	99,9±0,01	99,9±0,02
Td_{Na^+} , мкмоль/ 2 год	518,7±31,42	336,6±48,27 $p_1 < 0,01$	580,1±33,79 $p_2 < 0,01$	599,6±33,45 $p_2 < 0,01$
Tr_{Na^+} , ммоль/ 2 год	8,46±0,964	3,67±0,763 $p_1 < 0,01$	6,92±0,831 $p_2 < 0,05$	9,04±1,052 $p_2 < 0,005$
$E_{Na^+}/$ 100 мкл GF, у. о.	0,31±0,049	0,88±0,198 $p_1 < 0,05$	0,51±0,047 $p_2 < 0,05$	0,49±0,076 $p_2 < 0,05$
$Tr_{Na^+}/100$ мкл GF, у. о.	11,6±0,16	11,0±0,26 $p_1 < 0,05$	11,3±0,103	11,8±0,290 $p_2 < 0,05$
$Td_{Na^+}/100$ мкл GF, у. о.	0,77±0,099	1,21±0,196 $p_1 < 0,05$	1,00±0,086	0,8±0,056 $p_2 < 0,05$

Примітка. U_{Na^+} – концентрація іонів натрію в сечі; E_{Na^+} – екскреція іонів натрію; FF_{Na^+} – фільтраційний заряд натрію; R_{Na^+} – відносна реабсорбція іонів натрію; Td_{Na^+} – дистальний транспорт іонів натрію; Tr_{Na^+} – реабсорбція іонів натрію в проксимальному відділі нефрону; GF – клубочковий фільтрат; p_1 – показник вірогідності різниці з даними контролю, p_2 – показник вірогідності різниці з даними за гострої ниркової недостатності без введення препаратів.

Таблиця 3

Вплив препаратів кверцетину на пероксидне окиснення ліпідів і білків та антиоксидантну систему в нирках та крові у щурів із гентаміциновою нефропатією на 7-й день експерименту ($M \pm m$, $n=7$)

Показник	Контроль	Моделна патологія	Гентаміцин+ корвітин	Гентаміцин+ ліпофлавіон
Вміст МА у еритроцитах крові, мкмоль/л	8,02±0,285	18,21±0,641 $p_1 < 0,001$	11,54±0,139 $p_2 < 0,001$	11,05±0,064 $p_2 < 0,001$
Вміст МА у тканині нирок, мкмоль/г	0,24±0,010	0,44±0,024 $p_1 < 0,001$	0,32±0,021 $p_2 < 0,005$	0,30±0,020 $p_2 < 0,01$
Вміст ОМБ у тканині нирок, ммоль/г	0,06±0,003	0,08±0,008 $p_1 < 0,05$	0,06±0,005	0,06±0,005
Активність каталази у плазмі крові, кмоль/хв х мг білка	11,4±0,42	13,6±0,58 $p_1 < 0,05$	11,6±0,53 $p_2 < 0,05$	10,68±0,68 $p_2 < 0,01$
Активність каталази у тканині нирок, мкмоль/хв х мг білка	6,37±0,750	15,42±0,902 $p_1 < 0,001$	8,74±0,519 $p_2 < 0,001$	7,86±1,02 $p_2 < 0,001$
Активності глутатіонпероксидази у тканині нирок, мкмоль/мг білка	0,28±0,013	0,46±0,017 $p_1 < 0,001$	0,35±0,019 $p_2 < 0,01$	0,38±0,021 $p_2 < 0,05$
Вміст церулоплазміну в плазмі крові, мг/л	6,91±0,357	13,69±0,860 $p_1 < 0,001$	10,89±0,217 $p_2 < 0,01$	11,75±0,307 $p_2 < 0,05$
Вміст HS-груп у тканині нирок, мкмоль/г	5,74±0,278	3,94±0,177 $p_1 < 0,005$	4,48±0,447	5,41±0,308 $p_2 < 0,005$

Примітка. МА — малоновый альдегід; ОМБ — окисні модифікації білків; p_1 — вірогідність різниць показників порівняно з контролем, p_2 — показник вірогідності різниці з даними за гострої ниркової недостатності без введення препаратів.

ближали до контрольних показників активність каталази, вміст церулоплазміну та сполук з SH-групами у порівнянні з нелікованими тваринами. Отже, при гентаміциновій моделі ГНН обидва препарати кверцетину (корвітин і ліпофлавіон)

нормалізують стан прооксидантно-антиоксидантної рівноваги в організмі тварин, пригнічуючи інтенсивність перекисного окиснення ліпідів.

Відомо, що окрім нейтралізації вільних радикалів і стабілізації клітинних мембран, антиокси-

дантний ефект кверцетину обумовлений його властивістю активувати ферменти власного антиоксидантного захисту організму (каталаза та інші). Отримані дані дають підставу констатувати, що пригнічення перекисного окиснення ліпідів є наслідком комплексної антиокиснювальної активності корвітину та ліпофлавонової – як прямої антиоксидантної дії, так й опосередкованої через збільшення активності антиоксидантної системи.

При порівнянні обох препаратів, враховуючи різні лікарські форми, можна відмітити, що ліпосомальна форма кверцетину (ліпофлавонової) у лікувальному режимі справляє більш стабільну дію та відновлює деякі показники до рівня контролю. Ці дані можна пояснити перевагою ліпосомальних форм над водорозчинними, оскільки ліпосоми краще проникають через мембрани, переносячи при цьому діючу речовину, легко розчиняються в організмі, одночасно по шляху до клітин захищають діючу речовину від контакту з імунною системою та ферментами організму [1, 3]. Крім того, ліпосоми сприяють і пролонгації дії лікарських речовин [13].

Висновки

1. Препарати кверцетину — корвітин і ліпофлавонової — проявляють високу нефропротекторну ефективність за умов гентаміцинової нефропатії.
2. Ліпофлавонової краще відновлює порушені функції нирок у довготривалій перспективі, що підтверджують дослідження при гентаміцинової нефропатії.

Перспективи подальших досліджень

Препарати кверцетину (корвітин і ліпофлавонової) можна пропонувати з метою подальших клінічних досліджень як нефропротектори за умов передозування гентаміцину.

Література. 1. *Белік Г.В.* Перспективи застосування ліпосомальних препаратів у кардіології / Г.В. Белік, Ю.В. Столетов // Медична хімія. – 2005. – Т. 7, №3. – С. 109–112. 2. *Возіанов О.Ф.* Гостра ниркова недостатність / О.Ф. Возіанов, А.І. Гоженко, О.С. Федорук. – Одеса: Одес. держ. мед. ун-т, 2003. – 376 с. 3. *Вплив кверцетину на структуру і властивості фосфоліпідного бішару ліпосом* / Г.Г. Горюшко, Г.С. Григор'єва, Н.Ф. Коначович, та ін. // Досягнення біології та медицини. – 2005. – № 2 (6). – С. 62–65. 4. *Геруш І.В.* Стан глутатионової системи крові за умов експериментального виразкового ураження гастроуденальної зони та дії настойки ехінацеї пурпурової / І.В. Геруш, І.Ф. Мещишен // Вісник проблем біохімії та медицини. – 1998. – № 7. – С. 10–15. 5. *Гоженко А. І.* Вплив бурштинової кислоти і предукталу на осморегульовану функції нирок у білих шурів при гентаміцинової нефропатії / А.І. Гоженко, М.П.Владимірова, І.А. Кульменко // Одеський мед. журнал – 2006. 96, №(4). – С.8–11. 6. *Горошко О.М.* Антиоксидантні властивості препарату “Ліпофлавонової” при експериментальній гострій нирковій недостатності / О.М. Горошко, І.І. Заморський // Медична хімія. – 2008. – Т. 10, №3. – С. 83–87. 7. *Горошко О.М.* Вплив антиоксидантних властивостей корвітину на перебіг гострої експериментальної ниркової недостатності / О.М. Горошко, М.Н. Гарас // Бук. мед. вісник. – 2007. – Т. 11, №3. – С. 119–122. 8. *Зупанець І.А.* Дослідження гострої токсичності та середньо ефективних доз кве-

рцетину при парентеральному введенні в умовах розвитку ниркової недостатності у шурів / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко. Д.С. Харченко // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2009. – №1(8). – С.2832. 9. *Зупанець І.А.* Дослідження ефективності корвітину при нирковій недостатності у шурів / І.А. Зупанець, С.К. Шебеко, Д.С. Харченко // Клінічна фармація в Україні: Матеріали VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 15–16 листоп. 2007 р.: М-во охорони здоров'я України; Нац. фарм. ун-т. – Харків, 2007. – С. 148–149. 10. *Інтенсивна терапія та хірургічне лікування ускладнених хірургічних захворювань* / С.Є. Подпрятков, І.А. Сухін, С.О. Трепет та ін. // Біль, знеболювання і інтенс. терапія. – 2000. – № 1. – С. 81 – 82. 11. *Колб В.Г.* Справочник по клинической химии / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск: Белорусь, 1982.– 290 с. 12. *Королюк М.А.* Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова // Лабораторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19. 13. *Матвиенко П.В.* Липосомы – «Скафандры» для лекарств / П.В. Матвиенко // Провизор. – 2004. – № 15. – С. 44–47. 14. *Машковский М.Д.* Лекарственные средства / М.Д. Машковский. – Харків: Торсинг, 1997.– Т.1. – 543с. 15. *Мещишен І.Ф.* Метод кількісного визначення вмісту окисно модифікованих білків у тканинах / І.Ф. Мещишен, І.М. Яремій // Посвідчення та раціоналізація БДМА, №98/02.

НЕФРОПРОТЕКТОРНЫЕ СВОЙСТВА ПРЕПАРАТОВ КВЕРЦЕТИНА (КОРВИТИН И ЛИПОФЛАВОН) НА МОДЕЛИ ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ

А. М. Горошко, И. И. Заморский, О. В. Геруш

Резюме. При проведенні експеримента на білих крысах изучено влияние препаратів кверцетина – водорастворимого корвітина і ліпосомального ліпофлавонової – на течение острой почечной недостаточности, вызванной внутримышечным введением гентамицина сульфата в дозе 80 мг/кг. Препараты вводили однократно внутривентриально в дозе 8 мг/кг через 40 мин после моделирования патологии почек. Функцию почек изучали на 7 день эксперимента. Доказано, что препараты кверцетина проявляют защитное действие на организм крыс при гентамицинової нефропатии. Ліпофлавонової лучше нормализует функцию почек при экспериментальной гентамицинової острой почечной недостаточности.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, кверцетин, корвитин, ліпофлавонової, гентамицин.

NEPHROPROTECTIVE PROPERTIES OF PREPARATIONS QUERCETIN (CORVITIN AND LIPOFLAVIN) ON MODEL GENTAMYCINI NEPHROPATHIA

А. М. Goroshko, I. I. Zamorsky, O. V. Gerush

Abstract. Development of acute renal failure was stimulated by intramuscular injection of gentamycini sulfate in dosage 80 mg/kg. Influence of quercetin substances – water-soluble and liposomal lipoflavon was studied experimentally with white rats. Medicines were intraperitoneally injected in a dosage of 8 mg/kg in 40 min after modelling pathology of kidneys. A renal function was examined for 7th day of experiment. It was proved that quercetin substances have protective effect on rat's organism at different models gentamycini acute renal failure. Liposomal lipoflavon has better effect in treatment of experimental acute renal failure.

Key words: acute renal failure, quercetin, lipoflavon, corvitin, gentamycine.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Clin. and experim. pathol. – 2009. – Vol.8, №3. – P.19–22.

Надійшла до редакції 20.09.2009

Рецензент – проф. Ю. Є. Роговий

© О. М. Горошко, И. И. Заморський, О. В. Геруш, 2009