



УДК 616.61-008.64-085.27.001.4

В. Г. Зеленюк, И. И. Заморский

УЛУЧШЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ ЖИВОТНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТАТИНОВ ПРИ РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

УДК 616.61-008.64-085.27.001.4

В. Г. Зеленюк, И. И. Заморский

УЛУЧШЕНИЕ ВЫЖИВАЕМОСТИ ЖИВОТНЫХ ПОД ВЛИЯНИЕМ СТАТИНОВ ПРИ РАЗНЫХ МОДЕЛЯХ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы, Украина

По результатам серии экспериментов по изучению нефропротекторных свойств статинов (аторвастатина, ловастатина, симвастатина) на разных моделях экспериментальной острой почечной недостаточности (ОПН) установлено улучшение выживаемости животных. Для сравнения использовали липофлавоны как референс-препарат с доказанной нефропротекторной эффективностью. Наивысшую смертность животных отмечали при этиленгликолевой ОПН — 100 %, наименьшую — при глицероловой (миоглобинурической) ОПН — 14,3 %, а при гентамициновой и ишемической ОПН смертность животных составила 37,5 %. Выживаемость на фоне введения препаратов составила 55,6 % при этиленгликолевой ОПН, 100 % — при глицероловой, 93,8 % — при гентамициновой и 90,6 % — при ишемической. Среди препаратов наивысшую выживаемость животных при всех моделях экспериментальной ОПН отмечали в группе симвастатина.

Ключевые слова: статины, нефропротекция, острая почечная недостаточность, выживаемость.

UDC 616.61-008.64-085.27.001.4

V. G. Zeleniuk, I. I. Zamorskii

THE IMPROVED SURVIVAL OF ANIMALS BY THE ACTION OF STATINS UNDER DIFFERENT MODELS OF ACUTE RENAL FAILURE

The Bukovinian State Medical University, Chernivtsi, Ukraine

Actuality. Acute renal failure (ARF) results in a 19–83% mortality rate with a constant rise in the incidence of this pathology. The prognosis of ARF depends on its causes: in prerenal and postrenal ARF mortality does not exceed 7.5%, but renal ARF leads to 30–40% mortality. As a rational way of ARF pathogenetic treatment was examined the use of statins due to their pleiotropic action, realized in positive anti-proliferative, immunocorrective, antioxidant, anti-inflammatory and antithrombotic effects.

Purpose of the research. To compare the effects of different statins (atorvastatin, lovastatin, simvastatin) on the animals' survival rate under the conditions of ethylene glycol-, gentamicin-, glycerol- and ischemia-induced ARF.

Materials and methods. *In vivo* studies were carried out on 115 nonlinear mature white laboratory rats and 45 mice. Statins were administered 3–7 days prior to ARF simulation at a dose 20 mg/kg in 1% starch solution by gavage, reference drug lipoflavon (8 mg/kg) was injected intraperitoneally. Myoglobinuric ARF was simulated by an intramuscular injection of 50% solution of glycerol at a dose 10 ml/kg, toxic ARF — by an intramuscular injection of gentamicin solution at a dose of 80 mg/ml or subcutaneous administration to mice of ethylene glycol at 10 ml/kg. Renal ischemia was simulated under general anesthesia (etaminal sodium, 40 mg/kg) by imposing a clamp on renal pedicle for a period of 75 min with subsequent reperfusion for 24 h.

Results of the research. Survival under the conditions of the statins' administration accounted for 55.6% in ethylene glycol ARF, 100% — in myoglobinuric ARF, 93.8% — in gentamicin-induced ARF and 90.6% — in ischemic ARF. Among the studied drugs the highest survival rate for all models of ARF was observed in the simvastatin group.

Key words: statins, renoprotection, acute renal failure, survival rate.

Введение

Острая почечная недостаточность (ОПН) — острое прекращение жизнеобеспечивающей функции почек, при кото-

ром летальность, по данным разных исследований, составляет 19–83 %, а частота возникновения этой патологии постоянно растет [2]. Также прогноз ОПН зависит от ее фор-

мы: у преренальной и постренальной он относительно благоприятен (полного восстановления скорости клубочковой фильтрации достигают более чем в 90 % случаев, а леталь-



ность не превышает 7,5 %), при ренальной ОПН полное выздоровление наступает в 40–50 % случаев, частичное — в 10–15 %, летальность составляет 30–40 % [5].

Несмотря на то, что ОПН уже давно относится к значительным проблемам в реаниматологии и интенсивной терапии, эффективных методов подхода к лечению и профилактике этого синдрома в настоящее время не разработано. Как рациональный способ коррекции ОПН рассматривается влияние на ее патогенетические механизмы с использованием лекарственных средств с нефропротекторными свойствами [2]. Использование с этой целью препаратов из группы статинов обосновано их способностью восстанавливать функцию эндотелия [12], а также проявлять антипролиферативные [11], противовоспалительные [13], иммунокорректирующие, антиоксидантные и антитромботические эффекты [11]. При исследовании защитного влияния статинов на функции почек ожидаемым было положительное воздействие на выживаемость животных как интегральный критерий нефропротекторного действия препаратов.

Цель работы — сравнить влияние разных статинов (аторвастатина, ловастатина, симвастатина) на выживаемость животных при ренальной форме ОПН разного генеза: этиленгликолевой, гентамициновой, глицероловой, ишемической.

Материалы и методы исследования

Исследование проводили на 115 нелинейных самцах белых крыс массой 160–200 г и 45 мышах обоих полов массой 20–25 г, которые находились в условиях вивария с постоянным поддержанием температуры и влажности с соблюдением требований Европейской конвенции «О защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей» [10].

Животных разделили на пять групп (n=7–9): модельной патологии; группы животных, которым вводили исследуемые статины (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) в дозе 20 мг/кг внутривенно и препарат сравнения липофлавон в дозе 8 мг/кг внутривенно за 3–7 дней до моделирования ОПН. Липофлавон использовали как референс-препарат, поскольку доказаны его нефропротекторное действие и улучшение выживаемости мышей при ОПН [1; 5]. Миоглобинурическую ОПН вызывали внутримышечным введением 50 % раствора глицерола в дозе 10 мл/кг, гентамициновую токсическую ОПН — внутримышечным введением раствора гентамицина в дозе 80 мг/мл, токсическую этиленгликолевую ОПН — однократным подкожным введением мышам этиленгликоля в дозе 10 мл/кг. Ишемическую ОПН моделировали пережимани-

ем обеих почечных ножек на 60 мин после срединной лапаротомии (наркоз — этаминал-натрий, 40 мг/кг) с последующей реперфузией в течение 24 ч [9]. Статистическую оценку наличия эффекта проводили с использованием критерия углового преобразования Фишера и считали разницу достоверной при $p \leq 0,05$.

Результаты исследования и их обсуждение

Все исследованные формы острого поражения почек сопровождались смертностью среди испытуемых животных, причем ожидаемо наиболее низкий уровень выживаемости наблюдали при этиленгликолевой интоксикации (табл. 1). Этиленгликоль — актуальный и довольно избирательный нефротоксин, вызывающий поражение почек и других паренхиматозных органов, а также нервной системы [7; 8].

В течение нескольких часов этиленгликоль поражал внутренние органы, что сопровождалось характерной симптоматикой: боковое положение, арефлексия. Действие токсина привело к высокой летальности уже в первые 12 ч после его введения и достигло 100 % смертности в группе модельной патологии за первые сутки эксперимента (см. табл. 1). Профилактическое введение статинов улучшило выживаемость мышей, причем лучшие показатели отмечали в группе симвастатина — 77,8 %

Выживаемость животных в условиях острой почечной недостаточности после введения статинов, %

Таблица 1

Острая почечная недостаточность	Модельная патология (ОПН)	ОПН + аторвастатин	ОПН + ловастатин	ОПН + симвастатин	ОПН + липофлавон
Этиленгликолевая, выживаемость за 24 ч, n=9	0	66,7*	44,4*	77,8**	33,3*
Гентамициновая, выживаемость за 6 дней, n=8	62,5	87,5	87,5	100	100
Ишемическая, выживаемость за 24 ч, n=8	62,5	87,5	87,5	100	87,5
Глицероловая (миоглобинурическая), выживаемость за 7 дней, n=7	85,7	100	100	100	100

Примечание. * — достоверность различия с данными группы животных с модельной патологией ($p \leq 0,05$); # — достоверность различия с данными группы животных, которым вводили липофлавон ($p \leq 0,05$).



($p \leq 0,05$), что на 44,5 % ($p \leq 0,05$) выше, чем в группе липофлавона. В группах животных, которым вводили аторвастатин и ловастатин, также погибло меньше мышей, что по выживаемости составило 66,7 % ($p \leq 0,05$) и 44,4 % ($p \leq 0,05$) соответственно. Таким образом, использование статинов может уменьшить угрозу летальности при этом остром состоянии и позволит увеличить время для определения дальнейшего медикаментозного лечения патологии почек.

Также к значительной смертности приводило моделирование токсической гентамициновой и ишемическо-реперфузионной ОПН, что в обоих случаях составило 37,5 %. Улучшение выживаемости наблюдали в группах аторвастатина и ловастатина (87,5 %). Введение симвастатина полностью предупреждало гибель животных при обеих формах ОПН. При использовании липофлавона на фоне гентамициновой нефропатии смертности также не наблюдали, а при ишемично-реперфузионной ОПН летальность отмечали на уровне с аторвастатином и ловастатином. Моделирование миоглобинурической ОПН приводило к сравнительно невысокой смертности в группе животных с модельной патологией, а у крыс, которым вводили препараты, выживаемость составила 100 %.

Продемонстрированные нефропротекторные свойства ингибиторов ГМГ-КоА редуктазы при ОПН вызваны как гиполипидемическими, так и плеiotропными (нелипидными) эффектами статинов, а именно изученным нами ранее противовоспалительным и антиоксидантным действием с нормализацией функции эндотелия и энергетического обмена [3; 4; 6].

Выводы

Улучшение выживаемости животных при различных моделях ОПН (этиленгликоле-

вая, гентамициновая, глицероловая, ишемическая) доказывает наличие нефропротекторных свойств у исследованных статинов и обуславливается однонаправленностью фармакодинамических эффектов препаратов и патогенетических механизмов почечной недостаточности. Более выраженное защитное воздействие симвастатина по сравнению с аторвастатином и ловастатином, а также референс-препаратом липофлавоном базируется на значительной гиполипидемической активности и быстром всасывании благодаря наивысшей среди статинов липофильности.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Горошко О. М.* Подовження тривалості життя та профілактика морфологічних змін у нирках при моделюванні гострої ниркової недостатності за допомогою препаратів кверцетину / *О. М. Горошко, І. І. Заморський, О. В. Геруш* // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т. 13, № 4. – С. 80–84. (Прискорення старіння: механізми, діагностика, профілактика : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Чернівці, 8–10 жовт. 2009 р. : матеріали.)
2. *Ермоленко В. М.* Острая почечная недостаточность : руководство / *В. М. Ермоленко, А. Ю. Николаев*. – М. : ГЭОТАР-Медиа, 2010. – С. 11–19.
3. *Заморский И. И.* Нефропротекторные эффекты статинов при острой почечной недостаточности, вызванной рабдомиолизом / *И. И. Заморский, В. Г. Зеленюк* // Биофизика. – 2014. – Т. 59, вып. 5. – С. 1027–1030.
4. *Заморський І. І.* Вплив статинів на функціональний стан нирок щурів та вміст прозапальних цитокінів в плазмі крові за токсичної форми гострої ниркової недостатності / *І. І. Заморський, О. В. Геруш, В. Г. Зеленюк* // Фармацевтичний часопис. – 2014. – № 2 (30). – С. 84–87.
5. *Заморський І. І.* Препарати кверцетину як перспективні засоби корекції гострої ниркової недостатності / *І. І. Заморський, О. М. Горошко* // Підготовка клінічних провізорів в Україні: досвід, проблеми та перспективи : матеріали Всеукраїнської наук.-практ. конф., Чернівці, 3–4 жовт. 2007 р. – Чернівці, 2007. – С. 46.
6. *Зеленюк В. Г.* Зв'язок нефропротекторних та плеiotропних властивостей статинів при ішемично-реперфузивній гострій нирковій не-

достатності / *В. Г. Зеленюк* // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – № 4 (33). – С. 16–20.

7. *Методи* експериментального моделювання ураження нирок при фармакологічних дослідженнях : метод. рекомендації ДФУ України / *С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець* [та ін.]. – К., 2009. – С. 9–10.

8. *Николаев А. Ю.* Лечение почечной недостаточности : рук. для врачей / *А. Ю. Николаев, Ю. С. Милованов*. – 2-е изд. перераб. и доп. – М. : Мед. информ. агентство, 2011. – С. 63–70.

9. *Animal models of acute renal failure* / *A. P. Singh, A. Muthuraman, A. S. Jaggi* [et al.] // *Pharmacological Reports*. – 2012. – N 64. – P. 31–44.

10. *European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose*: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – 52 p.

11. *Holmqvist G. N.* Statins: indications and uses, safety and modes of action / *G. N. Holmqvist*. – N. Y. : Nova Science Publishers, Inc., 2009. – P. 73–84.

12. *Larose E.* Statins and endothelial dysfunction / *E. Larose, P. Ganz* // *Semin. Vasc. Med.* – 2004. – Vol. 4, N 4. – P. 333–346.

13. *Statins as anti-inflammatory agents in atherogenesis: molecular mechanisms and lessons from the recent clinical trials* / *A. S. Antonopoulos, M. Margaritis, R. Lee* [et al.] // *Curr. Pharm. Des.* – 2012. – Vol. 18, Iss. 11. – P. 1519–1530.

REFERENCES

1. *Goroshko O.M., Zamorskii I.I., Gerush O.V.* Extension of Life and Prevention of Morphological Changes in the Kidneys under the Conditions of Acute Renal Failure Using the Quercetin Preparations. *Pryskorennya starinnya: mekhanizmy, diahnostyka, profilaktyka: materialy naukovo-praktychnoyi konferentsiyi z mizhnarodnoy uchastyu*. Chernivtsi: Bukovinian State Medical University 2009. p. 80-84.
2. *Yermolenko V.M., Nikolaev A.Yu.* *Ostraya pochechnaya nedostatocnost, rukovodstvo* [Acute Renal insufficiency: guidance]. Moscow, GEOTAR-Media 2010. 240 p.
3. *Zamorskii I.I., Zeleniuk V.G.* Renoprotective Effects of Statins Under the Conditions of Acute Renal Failure, Caused by Rhabdomyolysis. *Biofizika* 2014; 5 (59): 1027-1030.
4. *Zamorskii I.I., Gerush O.V., Zeleniuk V.G.* Effect of Statins on Renal Function in Rats And Levels of Proinflammatory Cytokines in the Blood Plasma under the Conditions of Toxic Acute Renal Failure. *Farma-*



tsevychnyy chasopys 2014; 2 (30): 84-87.

5. Zamorskii I.I., Goroshko O.M. Preparations of Quercetin as Promising Agents for Acute Renal Failure Correction. *Pidhotovka klinichnykh provizoriv v Ukraini: dosvid, problemy ta perspektyvy: materialy Vseukrainskoi naukovo-praktichnoi konferencii*. [Clinical pharmacists in Ukraine: experience, problems and prospects: materials Ukrainian Scientific Conference]. Chernivtsi: Bukovinian State Medical University 2007. p. 46.

6. Zeleniuk V.G. Interconnection of Renoprotective and Pleiotropic Properties of Statins under Ischemia-Reperfusion Acute Renal Failure. *Ukrainian Biopharmaceutical Medical Journal* 2014; 4 (33): 16-20.

7. Shtrygol S.Y., Lisovy V.M., Zupanets I.A. *Metody eksperymentalnoho modelyuvannya urazhennya nyrok pry farmakolohichnykh doslidzhennyakh: Metodychni rekomendatsiyi DF Ukrainy* [Methods of experimental modeling of kidney damage in pharmacological research: Guidelines of State Pharmacopoeia of Ukraine]. Kiev, 2009. 210 p.

8. Nikolaev A.Yu., Milovanov Yu.S. *Lechenye pochechnoy nedostatochnosti: Rukovodstvo dlya vrachev*. [Treatment of renal failure: guidance for doctors]. Moscow, OOO Izdatelstvo "Meditsinskoe informatsionnoe agentstvo" 2011. 589 p.

9. Singh A.P., Muthuraman A., Jaggi A.S. [et al.] Animal models of acute renal failure. *Pharmacological Reports* 2012; 64: 31-44.

10. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986. 52 p.

11. Holmqvist G.N. Statins: indications and uses, safety and modes of action. N. Y., Nova Science Publishers, Inc. 2009. p. 73-84.

12. Larose E. Ganz P. Statins and endothelial dysfunction. *Seminars in Vascular Medicine* 2004; 4 (4): 333-346.

13. Antonopoulos A.S., Margaritis M., Lee R. [et al.] Statins as anti-inflammatory agents in atherogenesis: molecular mechanisms and lessons from the recent clinical trials. *Current Pharmaceutical Design* 2012; 18 (11): 1519-1530.

Поступила 3.10.2014

УДК [615.277.3:615.275.2:612.017]:615.32

I. А. Зупанець, Т. С. Сахарова,
К. В. Ветрова, Мухамед Ахмед Мусмари

ФАРМАКОЛОГІЧНА КОРЕКЦІЯ МЕТОТРЕКСАТ-ІНДУКОВАНОЇ ЦИТОТОКСИЧНОСТІ В ЕКСПЕРИМЕНТІ

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

УДК [615.277.3:615.275.2:612.017]:615.32

I. A. Zupanets, T. S. Sakharova, E. V. Vetrova, Muhamed Ahmed Musmari
ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ МЕТОТРЕКСАТ-ИНДУЦИРОВАННОЙ ЦИТОТОКСИЧНОСТИ В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

Національний фармацевтичний університет, Харків, Україна

В статье представлены результаты фармакологического изучения комбинации аминосахаров глюкозамина гидрохлорида и N-ацетилглюкозамина с флавоноидом кверцетином в качестве модификатора токсического действия антиметаболитных лекарственных средств, в частности метотрексата. Установлено, что введение в лечебно-профилактическом режиме исследуемой комбинации ограничивает иммуносупрессивное и гематотоксическое влияние метотрексата, что выражается восстановлением структурно-функционального состояния иммунокомпетентных и кроветворных органов. Результаты исследования экспериментально обосновывают перспективность использования комбинации аминосахаров глюкозамина гидрохлорида и N-ацетилглюкозамина с кверцетином для фармакологической коррекции токсических эффектов лекарственных средств антиметаболитного типа действия при проведении противоопухолевой терапии.

Ключевые слова: метотрексат, цитотоксичность, производные глюкозамина, кверцетин.

UDC [615.277.3:615.275.2:612.017]:615.32

I. A. Zupanets', T. S. Sakharova, K. V. Vetrova, Muhamed Ahmed Musmari
PHARMACOLOGICAL CORRECTION OF METHOTREXATE-INDUCED CYTOTOXICITY IN THE EXPERIMENT

The National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine

The negative effect of methotrexate on the immune and hematopoietic systems complicates its use in long-term courses and can reduce the effectiveness of anticancer therapy.

Thus, the aim of our work was pharmacological study of the combination of glucosamine derivatives with quercetin as a potential corrector of toxic effects on the blood and immunodepressive action of methotrexate in the experiment on rats.

Materials and methods. Protective effect on the hematopoietic and immune systems of the combination was evaluated by the following parameters: peripheral blood, weighting coefficients of the thymus, spleen, liver and the results of the morphological study of their tissues.

Results and discussion. It was confirmed the toxic effect on the blood and immunosuppressive action of methotrexate. Introduction of the combination of glucosamine derivatives with quercetin pro-

