



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 — одноразовым 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 аminosахаров 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 аminosахаров 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-

