



УДК 615.27:615.243:616.61-008.64

В. М. Драчук, І. І. Заморський, О. М. Горошко, Т. Г. Копчук

ПОРІВНЯЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ АКТИВНОСТІ ТАУРИНУ ТА КАНЕФРОНУ ПРИ ГЕНТАМИЦИНОВІЙ НЕФРОПАТІЇ

Вищий державний навчальний заклад України
«Буковинський державний медичний університет», Чернівці, Україна

УДК 615.27:615.243:616.61-008.64

В. М. Драчук, И. И. Заморский, А. М. Горошко, Т. Г. Копчук
СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА НЕФРОПРОТЕКТОРНОЙ АКТИВНОСТИ ТАУРИНА
И КАНЕФРОНА ПРИ ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ

Высшее государственное учебное заведение Украины «Буковинский государственный медицинский университет», Черновцы, Украина

По результатам проведенных исследований доказано нефропротекторное действие таурина при гентамициновой нефропатии, которое подтверждалось восстановлением функциональной активности почечных канальцев и улучшением выделительной и ионорегулирующей функции почек. Применение таурина привело к увеличению диуреза с одновременным восстановлением скорости клубочковой фильтрации, предупреждало развитие ретенционной азотемии и снизило степень протеинурии. Также защитное влияние таурина на почки подтверждено отсутствием некроза и уменьшением распространенности дистрофических изменений эпителиоцитов проксимальных канальцев по данным гистологического анализа. Сохранение внутрипочечных механизмов авторегуляции при применении обоих препаратов подтверждено установлением корреляционных связей.

Ключевые слова: нефропротекторное действие, таурин, канефрон, гентамициновая нефропатия.

UDC 615.27:615.243:616.61-008.64

V. M. Drachuk, I. I. Zamorsky, O. M. Goroshko, T. G. Kopchuk
COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE NEPHROPROTECTIVE ACTIVITY OF TAURINE
AND CANEPHRON IN GENTAMICIN NEPHROPATHY

Higher State Educational Establishments of Ukraine "Bukovinian State Medical University", Chernivtsi, Ukraine

Aim. In a modern pharmacotherapy aminoglycoside antibiotics take a leading position in a complex therapy of bacterial infections. At the same time they are among the major causes of drug-induced toxic nephropathies, which results in a restriction of their use in clinical practice. Taurine is a sulphur amino acid which is directly involved in a regulation of various physiological processes in the organism, and possesses antitoxic, antioxidant, and neuromodulatory effects.

The purpose — to study and compare a nephroprotective potential of Taurine and Canephron under conditions of gentamicin nephropathy development in rats.

Materials and methods. Research was conducted on 28 mature non-linear white rats weighting 130–180 g, randomly divided into 4 groups (n=7): I group — intact control, II group — gentamicin nephropathy (injection of 4% Gentamicin sulphate solution at a dose of 80 mg/kg for 6 days), rats of III group were daily administered with Taurine (Sigma-Aldrich, USA) at a dose of 100 mg/kg, animals of IV group were daily injected with Canephron (Bionorica, Germany) at a dose of 27 mg/kg. Functional state and histological changes in kidneys was estimated on the 7th day.

Results. Use of both drugs significantly improved kidney function of rats: an increase in diuresis was accompanied with a restoration of GFR, which was increased 2.9 times in group of Taurine, and 2.1 times — in Canephron group. A decrease in retention azotemia and proteinuria (3.6 times



in Taurine, and 1.9 times — in Canephron group) was observed. Both drugs showed a positive effect on an ion-regulatory kidney function, which is confirmed by a decrease of sodium urine excretion and maintenance of proximal and distal sodium transport. Histological examination of kidneys has shown that in Taurine group a number of epitheliocytes with dystrophic changes was 88.3%, but there weren't any necrotic cells. In Canephron group there was a necrosis of 8.1% cells, the signs of dystrophy in a form of hydropic vacuolization were found in 11.8% of proximal tubular epitheliocytes.

Conclusion. Both Taurine and Canephron produce a nephroprotective effect under the conditions of gentamicin nephropathy. Effect of Taurine significantly exceeds that of Canephron by the majority of indices. Obtained results may serve as a background for the further study of Taurine effects under conditions of acute kidney injury of different etiology.

Key words: nephroprotective effect, Taurine, Canephron, gentamicin nephropathy.

Вступ

У сучасній фармакотерапії антибіотики посідають провідне місце в комплексному лікуванні інфекційно-запальних патологій та, водночас, вони стають першопричиною лікарських токсичних нефропатій, що значно обмежує їхнє застосування в клінічній практиці. Не є винятком і аміноглікозиди — антибактеріальні засоби з широким спектром протимікробної дії та бактерицидним ефектом, які потенційно нефротоксичні та зумовлюють ушкодження і загибель клітин канальцевого епітелію з розвитком нефропатії. За даними літературних джерел, гентаміцин викликає нефротоксичні реакції у 30 % хворих [4]. Нефротоксичний вплив реалізується за рахунок зв'язування з фосфоліпідами апікальних мембран нефроцитів і накопичення в клітинах проксимальних канальців, що призводить до порушення фосфоліпідного метаболізму з подальшою дестабілізацією мембран лізосом та вивільненням у цитозоль великої кількості ферментів, токсинів і порушенням синтезу білка [5]. Розлади мітохондріального дихання та зменшення активності Na^+/K^+ -АТФази спричинюють розвиток оксидативного стресу та прогресування ниркової дисфункції. Відсутність ефективних засобів профілактики зумовлює необхідність розробки нових

стратегій та впровадження засобів, здатних запобігати ушкодженню нирок при терапії гентаміцином [8].

У клінічній практиці тривалий час використовують комбінований фітопрепарат Канефрон Н, для якого доведена нефропротекторна дія в деяких експериментальних дослідженнях [2], що може зменшувати прояви нефротоксичності аміноглікозидів. Водночас клінічна ефективність цього препарату залишається недостатньо високою.

У цьому зв'язку нашу увагу привернув таурин — сульфамінокислота, що бере безпосередню участь у регулюванні багатьох фізіологічних процесів у організмі шляхом впливу на розподіл поза- та внутрішньоклітинних потоків іонів кальцію, осморегуляцію, кон'югацію ретиноїдів і ксенобіотиків, виявляючи антиоксидантну та нейромодуляторну дію та сприяючи нормалізації обміну речовин [3]. Також таурин характеризується вираженим антиоксидантним ефектом, впливає на ферментативну (підвищує вміст відновленої форми глутататіону та вітаміну Е) та ферментативну ланки антиоксидантного захисту (стимулює активність супероксиддисмутази, каталази та глутатіонпероксидази) [6; 7].

Метою нашого дослідження було вивчення та порівняння нефропротекторного потенціалу таурину та кане-

фрону за умов розвитку гентаміцинової нефропатії у щурів.

Матеріали та методи дослідження

Досліди проведено на 28 статевозрілих нелінійних білих щурах масою 130–180 г, які знаходились в умовах віварію з підтриманням постійної температури і вологості, вільним доступом до води та їжі. Тварин було розподілено на 4 групи (n=7): I група — інтактний контроль, II група — гентаміцинова нефропатія, III група — тварини, яким вводили у лікувальному режимі таурин ("Sigma-Aldrich", USA) в дозі 100 мг/кг, IV група — тварини, яким вводили канефрон в дозі 27 мг/кг у такому ж режимі. Усім лікованим тваринам досліджували препарати водили через 40 хв після кожної ін'єкції гентаміцину внутрішньоочеревинно. Гентаміцинову нефропатію відтворювали шляхом внутрішньом'язового введення тваринам 4 % розчину гентаміцину сульфату (АТ «Галичфарм») у дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом шести днів [1]. На 7-й день експерименту проводили декапітацію тварин під тіопенталовим наркозом (80 мг/кг), дотримуючись положень «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях».



Функціональний стан нирок щурів оцінювали на 7-му добу за умов водного навантаження (внутрішньошлункове введення теплої питної води (37 °С) в об'ємі 5 % від маси тіла) за показниками діурезу, швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), концентрації та екскреції білка, іонів натрію й калію з сечею.

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми SPSS Statistica 17.0. Достовірність різниці між показниками оцінювали за параметричним t-критерієм Стюдента (при нормальному розподілі даних) та

непараметричним U-критерієм Манна — Уїтні (при невідповідності нормального розподілу). Критичний рівень значущості змін був прийнятий за $p < 0,05$.

Морфологічний аналіз гістологічних зрізів проводили шляхом забарвлення зразків гематоксином і еозином. При мікроскопії використовували такі параметри об'єктива та окуляра — Об. 10°, Ок. 10°.

Результати дослідження та їх обговорення

Моделювання гентаміцинової нефропатії, як і очікува-

лося, призвело до виражених змін функціонального стану нирок як прояву токсичного впливу антибактеріального засобу (табл. 1).

Так, спостерігалось достовірне зменшення виділення сечі на 87,4 %, порівняно з даними контрольної групи тварин, з одночасним розвитком ретенційної азотемії, на що вказує збільшення у 2,8 разу концентрації креатиніну в плазмі крові. Виявлено, що ШКФ зменшилась у 3,2 разу, реабсорбція води при цьому знизилась на 0,5 %. Відмічалась значна протеїнурія: концентрація біл-

Таблиця 1

Функціональний стан нирок щурів при застосуванні таурину та канефрону на тлі розвитку гентаміцинової нефропатії, $M \pm m$, $n=7$

Показник	Контроль	Гентаміцинова нефропатія	Гентаміцин + канефрон	Гентаміцин + таурин
Діурез, мл	4,63±0,19	2,47±0,10 $p_1 < 0,01$	4,22±0,19 $p_2 < 0,01$	4,40±0,09 $p_2 < 0,01$
ШКФ, мкл/хв	645,39±27,52	201,09±6,76 $p_1 < 0,01$	420,34±29,73 $p_2 < 0,01$	574,17±23,80 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,01$
Креатинін плазми, мкмоль/л	43,49±1,01	121,88±3,40 $p_1 < 0,01$	79,57±2,81 $p_2 < 0,01$	53,94±1,62 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,01$
Реабсорбція H ₂ O, %	99,28±0,01	98,77±0,05 $p_1 < 0,01$	98,98±0,04 $p_2 < 0,05$	99,23±0,03 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,01$
Концентрація білка в сечі, г/л	0,017±0,002	0,076±0,006 $p_1 < 0,01$	0,040±0,004 $p_2 < 0,01$	0,021±0,001 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,05$
Екскреція білка, мг/2 год	0,079±0,010	0,188±0,020 $p_1 < 0,01$	0,171±0,020	0,093±0,010 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,01$
Концентрація Na ⁺ в сечі, ммоль/л	0,66±0,03	4,21±0,23 $p_1 < 0,01$	1,54±0,17 $p_2 < 0,01$	1,11±0,03 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,05$
Фільтраційна фракція Na ⁺ , мкмоль/хв	95,41±5,59	32,63±1,76 $p_1 < 0,01$	66,58±5,82 $p_2 < 0,01$	84,87±3,27 $p_2 < 0,01$
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/2 год	3,09±0,21	10,41±0,70 $p_1 < 0,01$	6,39±0,52 $p_2 < 0,01$	4,88±0,17 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,05$
Абсолютна реабсорбція Na ⁺ , мкмоль/хв	114,46±6,71	39,05±2,12 $p_1 < 0,01$	79,83±6,99 $p_2 < 0,01$	101,80±3,93 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,05$
Відносна реабсорбція Na ⁺ , %	97,43±0,17	91,33±0,58 $p_1 < 0,01$	94,67±0,43 $p_2 < 0,01$	95,94±0,15 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,05$
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/2год	13,06±0,77	4,30±0,24 $p_1 < 0,01$	8,92±0,81 $p_2 < 0,01$	11,57±0,47 $p_2 < 0,01$; $p_3 < 0,05$
Дистальний транспорт Na ⁺ , мкмоль/2 год	679,29±33,73	390,01±21,87 $p_1 < 0,01$	659,30±36,02 $p_2 < 0,01$	645,46±10,89 $p_2 < 0,01$
Концентрація K ⁺ в сечі, ммоль/л	5,86±0,21	16,79±0,92 $p_1 < 0,01$	12,64±1,42 $p_2 < 0,05$	9,36±1,03 $p_2 < 0,01$

Примітка. Показник достовірності: p_1 — різниці з групою гентаміцинової нефропатії; p_2 — з групою контролю, p_3 — між таурином та канефроном.



ка в сечі достовірно збільшувалася у 4,5 рази, а екскреція — у 2,4 рази.

Водночас застосування препаратів привело до достовірного зростання діурезу: після застосування таурину на 78,1 %, а після застосування канефрону — на 70,8 %. Разом з одночасним відновленням ШКФ відмічено збільшення цього показника в 2,9 та 2,1 рази відповідно порівняно з показниками групи модельної патології.

Крім того, знизився ступінь ретенційної азотемії: концентрація креатиніну в плазмі крові зменшилась у 2,2 рази при застосуванні таурину, та в 1,5 рази — при застосуванні канефрону. Реабсорбція води відновлювалася під впливом обох препаратів. Ці засоби достовірно зменшували вміст білка в сечі (таурин — у 3,6 рази, канефрон — у 1,9 рази) та його екскрецію: у 2 та 1,1 рази відповідно. При цьому більшість досліджених показників достовірно відрізнялися між досліджуваним та референс-препаратом, демонструючи переваги таурину в зменшенні проявів гентаміцинової нефропатії.

Розвиток гентаміцинової нефропатії супроводжувався порушенням іонорегуляторної функції нирок унаслідок ураження проксимальних канальців і зниження їх реабсорбційної здатності. У тварин у групі модельної патології концентрація іонів натрію в сечі збільшилась у 6,4 рази зі зменшенням екскреції цього іона у 3,4 рази порівняно з даними контролю. Натомість, у лікованих тварин концентрація іонів натрію достовірно, порівняно з показниками за модельної патології, зменшувалась у 3,8 рази, екскреція — у 2,1 рази при лікуванні

таурином та у 2,7 і 1,6 рази — при застосуванні канефрону, що свідчить про здатність обох препаратів виявляти нормалізуючу дію щодо іонорегуляторної функції нирок.

Одночасно зафіксовані відповідні зміни показників абсолютної та відносної реабсорбції іонів натрію. Так, у групі тварин з модельною патологією абсолютна реабсорбція іонів натрію зменшилась у 2,9 рази, а відносна — на 6,7 % порівняно з даними контролю. При застосуванні досліджуваних препаратів ці показники достовірно збільшувалися щодо даних за модельної патології: у 2,6 рази та на 5 % — при застосуванні таурину, у 2 рази та на 3,6 % — при введенні канефрону.

Нефропротекторний вплив досліджуваних препаратів підтверджує збереження функціонування клубочково-канальцевого зв'язку за наявності достовірного кореляційного зв'язку між показниками ШКФ, проксимального та дистального транспорту іонів натрію. Так, при застосуванні таурину проксимальний транспорт іонів натрію зростав у 2,7 рази, дистальний — у 1,6 рази порівняно з показниками нелікованих тварин. Клубочково-канальцевий кореляційний зв'язок при цьому становив $r=0,964$ та $r=0,893$ відповідно для проксимального та дистального транспорту іонів натрію. При застосуванні референс-препарату канефрону проксимальний транспорт іонів натрію зростав у 2,1 рази, поступаючись ефекту таурину, клубочково-канальцевий кореляційний зв'язок при цьому становив $r=0,857$. Дистальний транспорт іонів натрію збільшувався у 1,7 рази при $r=0,929$.

Про збереження функціонування канальцево-канальцевого зв'язку свідчить обернено пропорційний зв'язок між показниками проксимального та дистального транспорту, який становив $r=-0,929$ при використанні таурину та $r=-0,893$ при застосуванні канефрону.

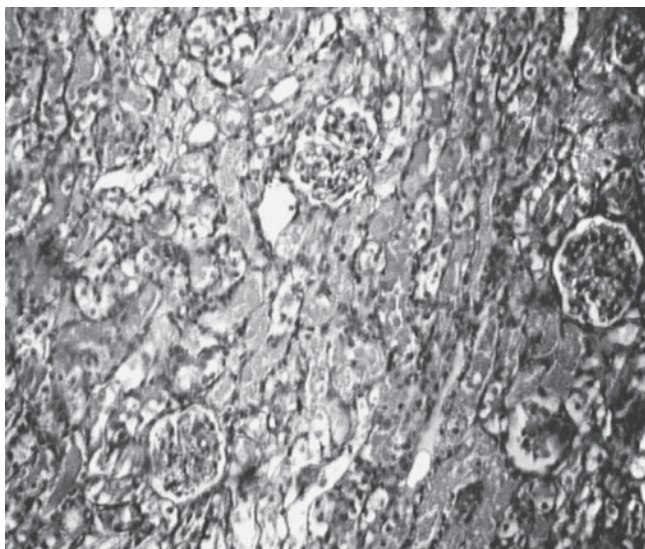
Крім того, гентаміцинова нефропатія супроводжувалася значним зростанням калійурезу. У тварин групи модельної патології концентрація цього іона в сечі збільшилась у 2,9 рази порівняно з даними контролю. Застосування препаратів зменшувало вміст калію в сечі: в 1,8 рази при застосуванні таурину та в 1,3 рази при застосуванні канефрону порівняно з показниками у нелікованих тварин.

Для підтвердження нефропротекторної дії препаратів було проведено морфологічний аналіз тканини нирок. У тварин групи модельної патології виявлено ураження 96,2 % проксимальних канальців (рис. 1). При цьому 58,1 % епітеліоцитів знаходяться у стані некрозу, а 38,1 % — мають ознаки дистрофічного ушкодження у вигляді оборотного набухання.

При застосуванні таурину кількість епітеліоцитів з ознаками ушкодження сягала 88,3 % (рис. 2) за відсутності некротизованих клітин. При цьому 83,5 % епітеліоцитів мають ознаки гідропічного набухання, а 7,2 % перебувають у стані гідропічної вакуолізації.

При використанні канефрону некроз охоплював 8,1 % епітеліоцитів, дистрофічні зміни у вигляді гідропічного набухання спостерігались у 76,4 % клітин, у вигляді гідропічної вакуо-





а



б

Рис. 1. Мікропрепарат нирки щура з гентаміциновою нефропатією. Гематоксилін і еозин. 3б. × 100: а — кіркова речовина; б — мозкова речовина

лізації — у 11,8 % епітеліоцитів проксимальних канальців. При цьому виявлено закупорення 6,4 % збиральних трубочок у мозковій речовині (рис. 3).

Таким чином, аналіз структурної організації нирок підтверджує переваги нефропротекторної дії таурину порівняно з канефроном.

Висновки

Нефротоксичний вплив гентаміцину призводить до знач-

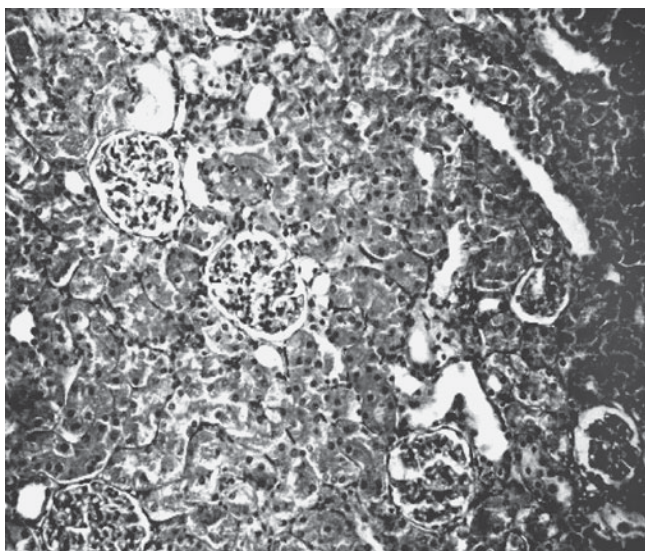
ного ураження клітин проксимальних канальців нирок, що виявляється загибеллю та виразними дистрофічними змінами епітеліоцитів із порушенням їх функціональної здатності. Лікувально-профілактичне застосування таурину і канефрону зменшує ступінь ушкодження та запобігає виникненню значних порушень діяльності нирок, що свідчить про нефропротекторну активність досліджуваних засобів. При цьому таурин перевершує

ефект канефрону за низкою показників, що вказує на перспективність подальшого вивчення нефропротекторної активності препарату за умов гострого ушкодження нирок різної етіології.

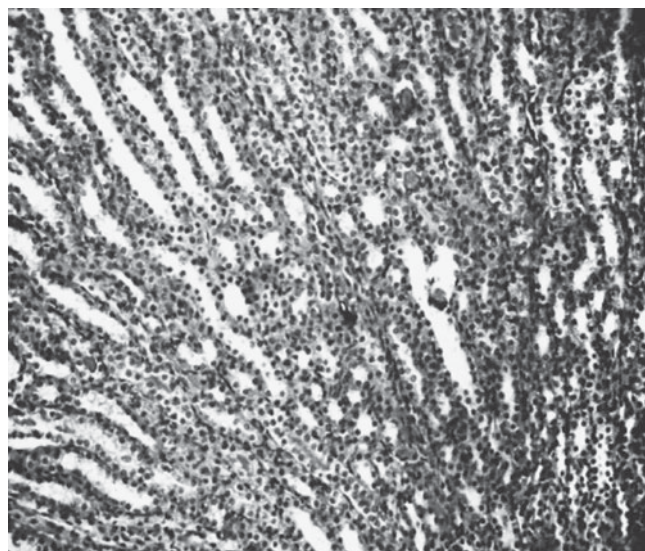
Ключові слова: нефропротекторна дія, таурин, канефрон, гентаміцинова нефропатія.

ЛІТЕРАТУРА

1. Методи експериментального моделювання ураження нирок при фармакологічних дослідженнях: ме-

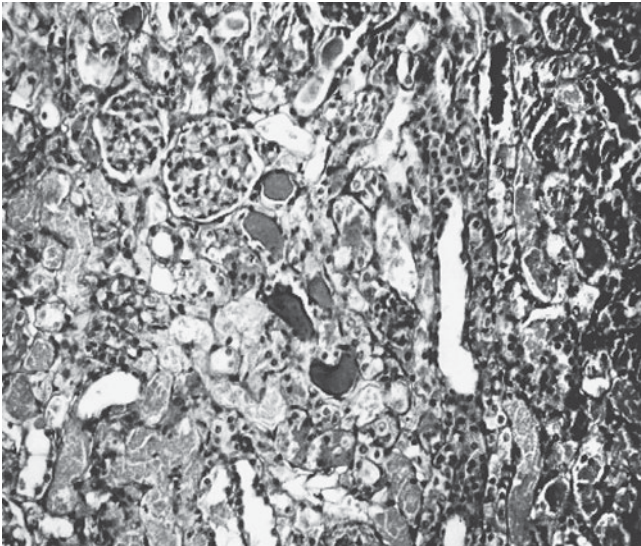


а

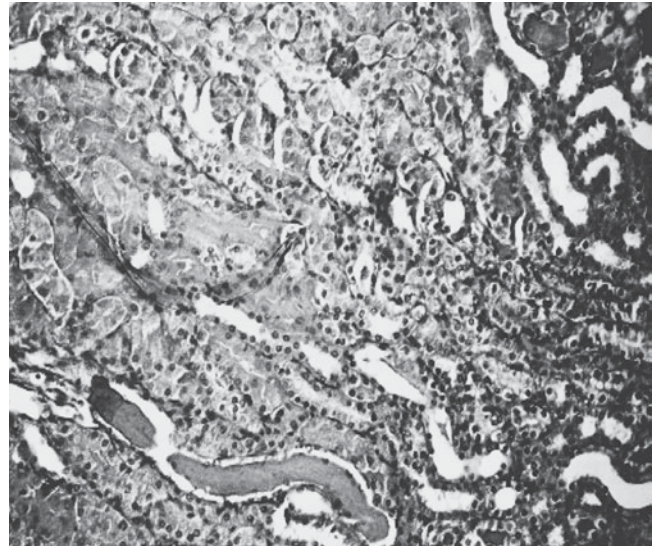


б

Рис. 2. Мікропрепарат нирки щура з гентаміциновою нефропатією, якому вводили таурин. Гематоксилін і еозин. 3б. × 100: а — кіркова речовина; б — мозкова речовина



а



б

Рис. 3. Мікропрепарат нирки щура з гентаміциновою нефропатією, якому вводили канефрон. Гематоксилін і еозин. 36. × 100: а — кіркова речовина; б — мозкова речовина

тод. реком. ДФУ України / С. Ю. Штриголь та ін. Київ, 2009. С. 9–10.

2. Монатко К. В., Подплетня О. А., Слесарчук В. Ю. Експериментальне дослідження протизапальних властивостей ліофільного порошку кавуна. *Медицинські перспективи*. 2012. № 4 (17). С. 251–229.

3. Остапів Р. Д., Манько В. В. Інтенсивність дихання мітохондрій та окисне фосфорилування у різних тканинах щурів за перорального введення таурину. *Фізіологічний журнал*. 2015. № 61. С. 103–112.

4. Щудрова Т. С., Заморський І. І. Порівняльна оцінка нефропротекторної активності органоспецифічних пептидів при гентаміциновій нефропатії в щурів. *Фармакологія та лікарська токсикологія*. 2014. № 6 (41). С. 811–886.

5. Animal models of acute renal failure / A. P. Singh et al. *Pharmacological Reports*. 2012. Vol. 64. P. 31–44.

6. Ostapiv R. D., Manko V. V. Effect of taurine administration on activity of superoxidedismutase in rat tissues. *The Animal Biology*. 2015. Vol. 17. P. 104–110.

7. Effect of taurine on ischemia-reperfusion injury / S. W. Schaffer et al. *Amino Acids*. 2014. Vol. 46. P. 21–30.

8. Surgical prophylaxis with gentamicin and acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis

/ W. Srisung et al. *Ann Transl Med*. 2017. Vol. 5 (5). P. 100.

REFERENCES

1. Metody eksperimental'nogo modeluvannya urazhennia nyrok pry farmakologichnykh doslidzhenniakh: Metodychni rekomendatsii DFC Ukrainy [Methods of the experimental modeling of kidney injury for pharmacological investigations: Methodological recommendations of SPC of Ukraine]. Edited by Shrygol S. Yu., Lisovyy I. A., Zupanets I. A. Kyiv, 2009; 9-10.

2. Monatko K.V., Podpletia O.A., Sliesarchuk V.Iu. Experimental study of anti-inflammatory properties of water melon leofil powder. *Medychni perspektyvy* 2012; 4 (17): 25-29.

3. Ostapiv R.D., Manko V.V. Inhalation intensity of mitochondria and oxidative phosphorylation in different tissues of rats following oral administration of taurine. *Fiziologichnyi zhurnal* 2015; 61: 103-112.

4. Shchudrova T.S., Zamorskyi I.I. Comparative evaluation of nephroprotective activity of organ-specific peptides in gentamicin nephropathy in rats. *Farmakolohiya ta likrs'ka toksykolohiya* 2014; 6 (41): 81-86.

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

6. Ostapiv R.D., Manko V.V. Effect of taurine administration on activity of

superoxidedismutase in rat tissues. *The Animal Biology* 2015; 17: 104-110.

7. Schaffer S.W., Jong C.J., Ito T., et al. Effect of taurine on ischemia-reperfusion injury. *Amino Acids*. 2014; 46: 21-30.

8. Srisung W., Teerakanok J., Tantrachoti P., Karukote A., Nugent K. Surgical prophylaxis with gentamicin and acute kidney injury: a systematic review and meta-analysis. *Ann Transl Med*. 2017; 5 (5): 100.

Надійшла до редакції 10.04.2018

Рецензент д-р мед. наук,
проф. Ф. І. Костєв,
дата рецензії 17.04.2018

