

© Степанова Н.М., Король Л.В., Мигаль Л.Я., Романенко О.А., 2014
УДК 616.61-002.3:615.37

Н.М. СТЕПАНОВА, Л.В. КОРОЛЬ, Л.Я. МИГАЛЬ, О.А. РОМАНЕНКО

**АНТИОКСИДАНТНІ ЕФЕКТИ НУКЛЕІНАТУ НАТРІЮ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНУ ХВОРОБУ
НИРОК І-ІІ СТАДІЙ: НЕУСКЛАДНЕНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ**

N. STEPANOVA, L. KOROL, L. MIGAL, O. ROMANENKO

**ANTIOXIDANT EFFECT OF NUCLEINAT SODIUM IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE
I-II STAGES: UNCOMPLICATED PYELONEPHRITIS**

ДУ «Інститут нефрології НАМН України»

SI «Institute of Nephrology of NAMS of Ukraine»

Ключові слова: *пієлонефрит, оксидативний стрес, антиоксидантна система, лікування, нуклеїнат натрію.*

Key words: *pyelonephritis, oxidative stress, antioxidant defense, treatment, nucleinate sodium.*

Степанова Наталя Михайлівна
nmstep@ukr.net

Резюме. *Мета роботи: визначити антиоксидантні ефекти застосування Нуклеїнату натрію у хворих на неускладнений пієлонефрит з рецидивуючим перебігом.*

Матеріал та методи. В роботі проаналізовано результати дослідження оксидантно/антиоксидантного (О/А) балансу крові 55 хворих на хронічну

хворобу нирок I-II ст.: неускладнений пієлонефрит з рецидивуючим перебігом. Жінок було рандомізовано у 2 групи: I (n=30) склали хворі, які у комплексному лікуванні отримували імуномодулюючий препарат Нуклеїнат натрію у дозі 0,25 г 4 рази на добу протягом 14 днів, до II (n=25) увійшли пацієнтки, які застосовували виключно антибактеріальний лікарський засіб (згідно до встановленої чутливості виявлених збудників). Групу контролю склали 20 умовно-здорових донорів, співставлених за статтю та віком.

Результати. Встановлено, що до початку лікування в крові пацієнток спостерігається зниження загальної пероксидазної активності еритроцитів ($p < 0,0001$), церулоплазміну ($p = 0,03$), SH-груп ($p = 0,001$) та підвищення у сироватці крові МДА й індексу оксидативного стресу ($p < 0,0001$) порівняно з умовно-здоровими донорами. Комплексне лікування із застосуванням Нуклеїнату натрію статистично достовірно приводило до нормалізації зазначених показників та зниження активності N-ацетил- β -D-глюкозамінідази і β -галактозидази сечі ($p < 0,001$ та $p = 0,04$, відповідно).

Висновки. Для лікування хворих на ПН з рецидивуючим перебігом доцільно застосовувати нуклеїнат натрію у дозі 0,25 г 4 рази / добу, який сприяє зниженню активності оксидативних процесів та відновленню O/A балансу крові, що, у свою чергу, зменшує негативний вплив оксидативного стресу на організм хворого та підвищує антиоксидантний захист.

Summary. Objective: to determine the antioxidant effects of Nucleinat sodium in patients with uncomplicated recurrent pyelonephritis.

Material and methods. We have analyzed the indicators of oxidant / antioxidant (O / A) balance in the blood of 55 patients with uncomplicated recurrent pyelonephritis. Women were randomized into 2 groups: I (n=30) consisted of patients treated with Nucleinat sodium at a dose of 0.25 mg 4 times daily for 14 days to II (n=25) included patients who used only antibacterial therapy (according to the set sensitivity identified pathogens). The control group consisted of 20 conditional healthy donors, matched for sex and age.

Results. In the blood of patients prior to treatment were observed reduction of total peroxidase activity of red blood cells ($p < 0.0001$), ceruloplasmin ($p = 0,03$), SH-groups ($p = 0.001$) and increase in serum MDA, and oxidative stress index ($p < 0.0001$) compared with the conditionally healthy donors. Comprehensive treatment with Nucleinat sodium statistically significantly led to normalization of these parameters and decrease of urine N-acetyl- β -D-glucosaminidase and β -galactosidase ($p < 0,001$ and $p = 0.04$, respectively).

Conclusions. For the treatment of uncomplicated recurrent pyelonephritis appropriate to apply Nucleinat sodium at a dose of 0.25 mg 4 times / day, which helps to reduce the activity of oxidative processes and the negative impact of oxidative stress on the patient, and increases of antioxidant protection.

ВСТУП. Протягом останнього десятиріччя відновлюється інтерес до проблеми патогенезу неускладненого пієлонефриту (ПН) та ефективності його лікування. Показано, що ураження нирки відбувається унаслідок декількох причин і, в першу чергу, прямої дії бактерій, гіпоксії та запальної реакції [3, 4]. У разі усіх патофізіологічних процесах, що супроводжуються запальними реакціями, головну роль у пошкодженні клітин та тканин грають активні форми кисню (АФК), формування яких є важливим захисним механізмом, що є основою неспецифічного імунітету: фагоцитоз призводить до багаторазового збільшення вмісту вільних радикалів у фагоцитуючих клітинах з одночасним підвищенням споживання кисню у 20 та більше разів. [5, 8-10]. Оксидативний стрес (ОС) стимулює рецептори клітин, які, у свою чергу, індукують продукцію прозапальних цитокінів та експресію адгезивних молекул. Ці події призводять до активації лейкоцитів, інфільтрації тканини цими клітинами (тобто розвитку запалення), продукції кисневих радикалів лейкоцитами і резидентними клітинами (наприклад, макрофагами, судинними гладком'язовими клітинами, ендотеліальними клітинами і фібробластами) [4, 8].

Основою лікування хворих на ПН є раціональна антибіотикотерапія. Проте, застосування антибактеріальних лікарських засобів, які не

завжди ефективним, що пов'язано, насамперед, з розвитком резистентності етіопатогенів та/або утворенням L-форм бактерій [3]. Негативним результатом лікування антибіотиками можна, також, вважати їх нефротоксичність та дисбактеріоз, що диктує необхідність пошуку нових додаткових терапевтичних засобів. У цьому зв'язку, для лікування пацієнток з ХрПН у комплексі з антибактеріальною терапією нами було застосовано імуномодулюючий препарат Нуклеїнат натрію – імуномодулюючий засіб, що нормалізує клітинний імунітет, підвищуючи міграцію і кооперацію Т- і В-лімфоцитів і фагоцитарну активність макрофагів, посилюючи активність чинників неспецифічної резистентності; проявляє протизапальну активність [1, 3]. В основі фармакологічних ефектів препарату лежать такі механізми як прискорення процесів регенерації, пригнічення окислювальних процесів в клітинних мембранах, стабілізація мембран клітин і оптимізація окислювально-відновних процесів у тканинах [1, 3, 6].

МЕТОЮ роботи було визначення антиоксидантних ефектів застосування Нуклеїнату натрію у хворих на неускладнений пієлонефрит з рецидивуючим перебігом.

МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ. Нами було проведено проспективне когортне дослідження. Репрезентативну вибірку склали 55 хворих на хро-

нічну хворобу нирок I-II стадій: неускладнений пієлонефрит з рецидивуючим перебігом. Усі пацієнти були жіночої статі, віком від 17 до 65 років ($33,4 \pm 8,8$ років). Середня частота рецидивів протягом року склала $5,7 \pm 2,5$. Жінок було рандомізовано у 2 групи: I ($n=30$) склали хворі, які у комплексному лікуванні отримували імуномодулюючий препарат Нуклеїнат натрію у дозі 0,25 г 4 рази на добу протягом 14 днів, до II ($n=25$) увійшли пацієнтки, які застосовували виключно антибактеріальний лікарський засіб (згідно до встановленої чутливості виявлених збудників).

Групу контролю склали 20 умовно-здорових донорів, співставлених за статтю та віком.

Усі пацієнтки надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні. Критеріями включення пацієнток до дослідження були: наявність клінічних ознак захворювання (дизурія, часте сечовипускання, підвищення температури тіла, відчуття болю та важкості у крестово-поясному куті й інші), лейкоцитурія, бактеріурія та часте рецидивування захворювання (3 та більше/рік). Критеріями виключення були: відмова хворої від участі у дослідженні, вагітність та період лактації, ознаки обструкції сечової системи, зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) < 60 мл/хв.

Інтенсивність оксидативних процесів оцінювали до та після лікування шляхом спектрофотометричного визначення вмісту МДА у сироватці крові (МДАс) та еритроцитах (МДАе) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою. Активність антиоксидантної системи захисту (АОЗ) оцінювали за вмістом у сироватці крові ферменту-антиоксиданту церулоплазміну (ЦП), що визначали за реакцією з п-фенілендіаміндигідрохлоридом; трансферину (Тр) – за реакцією з залізо-амоній цитратом; SH-груп; загальної пероксидазної активності (ЗПА) еритроцитів, що визначали за реакцією з індигокарміном. Розраховували О/А баланс крові та індекс ОС (ІОС), як співвідношення сумарних змін активності оксидативних процесів до сумарного показника активності АОЗ [2]. Розрахунок ІОС здійсню-

вали за наступною формулою: $ІОСс = \frac{МДА_x}{МДА_k} : [(\frac{ЦП_x}{ЦП_k} + \frac{Тр_x}{Тр_k} + \frac{SH_x}{SH_k}) : 3]$, де ІОС – індекс оксидативного стресу; МДА_x – вміст МДА у хворого; МДА_k – вміст МДА контролю (середнє значення); ЦП_x – вміст ЦП у хворого; ЦП_k – вміст ЦП контролю (середнє значення); Тр_x – вміст Тр у хворого; Тр_k – вміст Тр контролю (середнє значення); SH_x – вміст SH-груп у хворого; SH_k – вміст SH-груп контролю (середнє значення); 3 – кількість доданків. Розрахунок ІОСе еритроцитах за формулою $ІОСе = \frac{МДА_x}{МДА_k} : \frac{ЗПА_x}{ЗПА_k}$, де МДА_x – вміст МДА в еритроцитах у хворого; МДА_k – вміст МДА контролю (середнє значення); ЗПА_x – ЗПА хворого; ЗПА_k – ЗПА контролю (середнє значення) [2].

Для оцінки функціонального стану паренхіми нирок використовували визначення активності ферментів лізосомного походження – загальної НАГ та β-Гал, що визначали у разовій порції ранкової сечі за методом О.О. Покровського у власній модифікації.

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програми «Statistica 10,0 for Windows» та «MedCalc». Нормальність розподілу даних перевіряли за допомогою критерію Шапіро-Уїлкса. За розподілу відмінного від нормального кількісні характеристики представлені як медіана (Me) і інтерквартильний розмах (Q25- Q75). Для їх порівняння використовували критерій Манна-Уїтні (U). Показники з нормальним розподілом представлені як середнє значення (M) і стандартне квадратичне відхилення (SD). Для їх порівняння застосовували t-критерій Стьюдента, достовірною вважали різницю за $p < 0,05$ [7].

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ. Аналіз показників О/А балансу крові хворих на ПН до початку лікування продемонстрував зростання активності оксидативних процесів, яке, порівняно з групою умовно-здорових донорів, супроводжувалося достовірним збільшенням показників МДАс, МДАе та ІОС; у той же час, в крові хворих констатовано зниження ЗПА еритроцитів, вмісту ЦП та SH-груп (табл. 1).

Таблиця 1

Рівні показників О/А балансу крові хворих на ПН порівняно з умовно-здоровими донорами

Показник (M±SD)	Умовно-здорові донори (n=20)	Хворі на ПН (n=55)	p
МДАс (мкмоль/л)	119,0±35,0	438,6±52,7	<0,0001
МДАе (мкмоль/л)	549±51	698,4±76,8	0,01
ІОСс (ум. од.)	1,036±0,04	4,7±1,9	<0,0001
ЦП (г/л)	0,218±0,01	0,18±0,06	0,03
ЗПАе (мкмоль/хв/1г Hb)	457±20	283,6±103	<0,0001
SH-групи (ммоль/л)	2,22±0,1	1,85±0,5	0,001

Після завершення лікування у крові хворих обох груп спостерігалось позитивне зниження рівнів МДАс (рис. 1) та ІОС (рис. 2), зростання вмісту ЦП до показників норми (рис. 3).

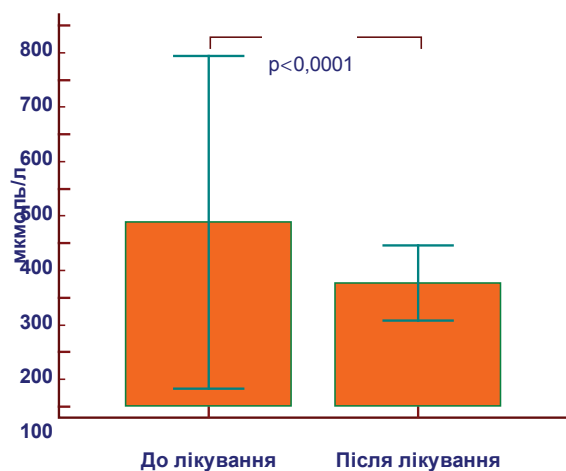


Рис. 1. Динаміка вмісту МДАс крові хворих на ПН.

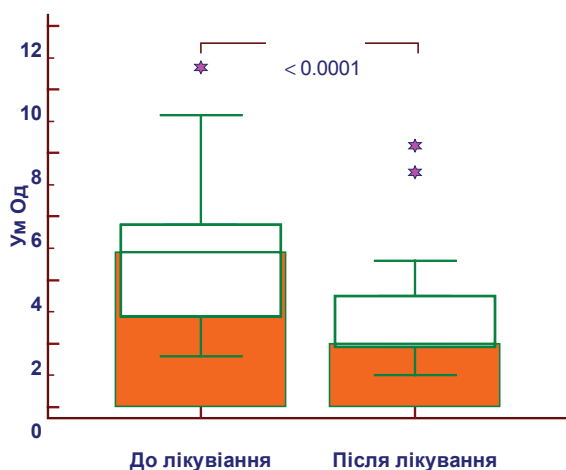


Рис. 2. Динаміка ІОС у крові хворих на ПН.

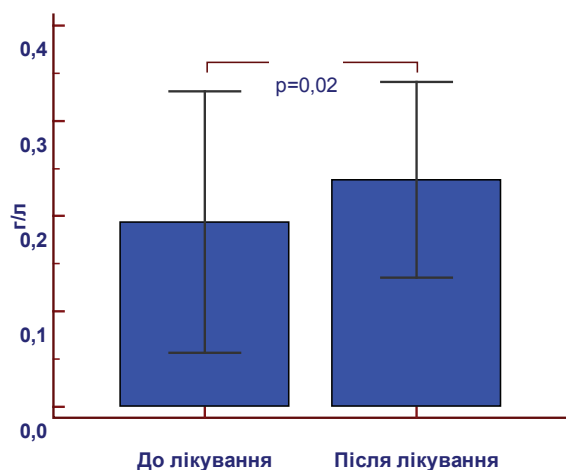


Рис. 3. Динаміка вмісту церулоплазміну крові хворих на ПН.

Порівняльний аналіз досліджуваних показників залежно від застосованого терапевтичного підходу визначив достовірно більше зниження МДАс й ІОС та підвищення вмісту ТР, ЦП і ЗПА еритроцитів крові у жінок, які отримували Нуклеїнат натрію (табл. 2).

Таблиця 2

Рівні показників О/А балансу крові хворих на ПН залежно від застосованого лікування

Показник (М±SD)	I група (n=30)	II група (n=25)	P
МДАс (мкмоль/л)	365,3±186	449,4±106	0,03
МДАе (мкмоль/л)	654,7±105,8	661,9±1148	0,8
ІОСс (ум. од.)	2,17±1,06	3,6±2,2	0,01
ТР (г/л)	3,74±1,1	2,58±1,4	0,01
ЗПАе (мкмоль/хв/1г Нб)	376±84,7	323,2±49,9	0,04
ЦП (г/л)	0,23±0,03	0,19±0,05	0,03
SH-групи (ммоль/л)	1,95±0,36	2,14±0,27	0,19

Поряд із показниками О/А балансу крові нами було оцінено ефективність лікувальних заходів за даними ензимологічних показників. Рисунок 4 демонструє зміни активності НАГ сечі у динаміці лікування Натрію нуклеїнатом.

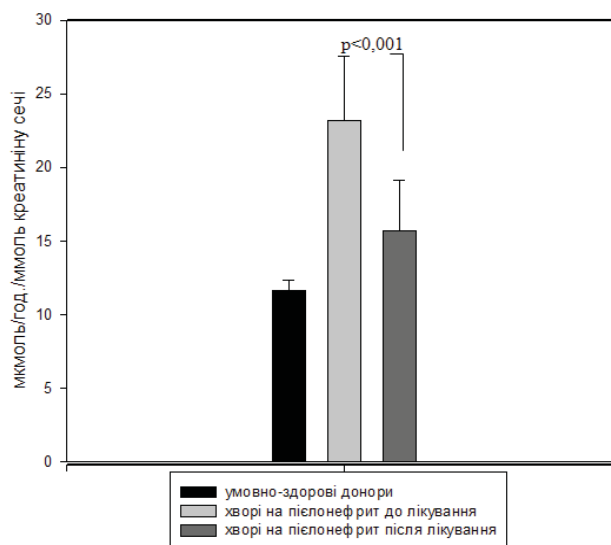


Рис. 4. Динаміка активності N-ацетил-β-Д-глюкозамінази під впливом лікування Натрію нуклеїнатом.

Як видно з наведених даних, активність НАГ сечі у обстежених жінок до початку лікування перевищувала аналогічний показник у групі контролю ($p < 0,001$). Після комплексного лікування із застосуванням Нуклеїнату натрію активність НАГ достовірно знизилась ($p < 0,001$),

що свідчить про позитивний вплив препарату на функціональний стан каналцевого нефротелію. Спрямованість змін активності β -Гал сечі була аналогічною, хоча і менш вираженою (рис. 5).

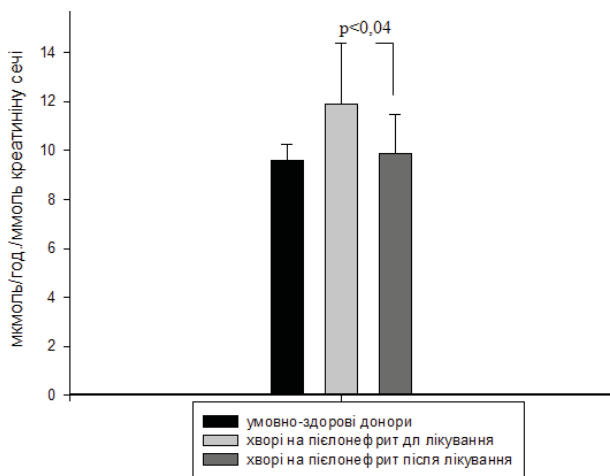


Рис. 5. Динаміка активності β -галактозидази під впливом лікування Натрію нуклеїнатом.

Встановлені зміни О/А балансу крові хворих на ПН під впливом застосування Нуклеїнату натрію, на нашу думку, перш за все обумовлені фармакотерапевтичними ефектами цього препарату, в основі яких лежать такі механізми як прискорення процесів регенерації; підвищення енергозабезпечення клітини шляхом стимулювання синтезу макроергічних сполук, таких як АТФ; нормалізація NO-синтезної активності, пригнічення окислювальних процесів у клітинних мембранах, стабілізація мембран клітин та оптимізація окислювально-відновних процесів в тканинах. Виявлені антиоксидантні ефекти застосування Нуклеїнату натрію у хворих на ПН найбільш імовірно пов'язані із його здатністю впливати саме на клітинний імунітет, підвищуючи міграцію і кооперацію Т- і В-лімфоцитів і фагоцитарну активність макрофагів, посилюючи активність чинників неспецифічної резистентності за рахунок активації енергетичного обміну в клітинах макрофагальної системи; а також протизапальною активністю, що активізує дію антибактеріальних лікарських засобів [1, 3, 6].

ВИСНОВКИ. Підсумовуючи отримані дані можна заключити, що у хворих на ПН з рецидивуючим перебігом доповнення традиційної антибактеріальної терапії Нуклеїнатом натрію у дозі 0,25 г 4 рази / добу сприяє зниженню активності окислативних процесів та відновленню О/А балансу крові, що, у свою чергу, зменшує негативний вплив окислативного стресу на організм хворого та підвищує антиоксидантний захист.

ЛІТЕРАТУРА:

1. Андріюк Л. В. Від нуклеїнових кислот до препарату Нуклеїнат / Л. В. Андріюк // *Новости медицины и фармации.* – 2007. – 14 (220). – С. 16-20.
2. Біохімічні методи оцінки окислативного статусу у хворих на хронічну хворобу нирок: метод. рекомендації / уклад. Л. В. Король, Л. Я. Мигаль, Г. Г. Нікуліна, М. О. Колесник; Міністерство охорони здоров'я Уераїни, Національна академія медичних наук України, Український Центр наукової медичної інформації та патентно-ліцензійної роботи. – К. : [б. в.], 2013. – 30 с.
3. Дріянська В.Є. Вплив нуклеїнату на показники імунітету і лізосомальної ензимурії у хворих на пієлонефрит / В.Є. Дріянська, Н.М. Степанова, Ф.З. Гайсенюк та ін. // *Імунологія та алергологія : наука і практика.* – 2013. - №4. – С. 4-9.
4. Колесник М. Патогенез пієлонефриту: що ми знаємо і що ні / М. Колесник, Н. Степанова, В. Дріянська, А. Руденко, Н. Калініна, В. Кругліков, Л. Лебідь // *Укр. журн. нефрології та діалізу.* – 2011. – N 3 (31). – С. 34-46.
5. Нагорная Н. В. Окислативный стресс: влияние на организм человека, методы оценки / Н. В. Нагорная, Н. А. Четверик // *Здоровье ребенка.* – 2010. – № 2 (23). – С. 31-35.
6. Пат. № 82540 . Спосіб корекції імунологічних та біохімічних порушень у хворих на хронічний пієлонефрит / В. Є. Дріянська, Л. В. Король, Л. Я. Мигаль, Ф. З. Гайсенюк, Н. М. Степанова, О. А. Романенко ; ДУ "ІННАМНУ"; у 2013 04530, 11.04 .2013; Оpub. 12. 08. 2013. – Бюл. № 15. – 2013. – 6 с.
7. Реброва О. Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA / О. Ю. Реброва. – М. : Медиаасфера, 2003. – 312 с.
8. Heymann F. Monocytes and macrophages as cellular targets in liver fibrosis / F. Heymann, C. Trautwein, F. Tacke // *Inflamm Allergy Drug Targets.* - 2009. - Sep. 8 (4). - P. 307-18.
9. Jones Dean P. Radical-free biology of oxidative stress / Dean P. Jones // *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* – 2008.- Vol. 295: P.849-868 <http://ajpcell.physiology.org/cgi/content/full/295/4/C849>
10. Kao M. P. Oxidative stress in renal dysfunction: mechanisms, clinical sequelae and therapeutic options [Текст] / М. Р. Као, D. S., Ang, A. Pall, A. D. Struthers // *J. Hum. Hypertens.* – 2010. – Vol. 24. – N 1. – P. 1-8.
11. Puchades Montesa M. J. Study of oxidative stress in advanced kidney disease [Текст] / М. J. Puchades Montesa, М. А. González Rico, М. А. Solís Salguero [et al.] // *Nefrología.* – 2009. – Vol. 29. – N 5. – P. 464-473.

Надійшла до редакції 5.06.2014

Прийнята до друку 24.07.2014