УДК: 547.814.5:547.455.623`233.1:616.611-002

С. К. Шебеко[1], І. А. Зупанець[1], А. С. Шаламай[2]

Дослідження впливу Глюкваміну на перебіг гломерулонефриту з нирковою недостатністю в експерименті

[1]Національний фармацевтичний університет, м. Харків
[2]ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», м. Київ

Ключові слова: Глюквамін. кверцетин. глюкозаміну гідрохлорид, N-ацетилглюкозамін, гломерулонефрит, ниркова недостатність

Серед захворювань сечовидільної системи гломерулонефрит (ГН) має вагоме медико-соціальне значення, оскільки є однією з основних причин виникнення хронічної хвороби нирок (ХХН). Натепер в Україні налічується близько 500 тис. хворих на ХХН, більшість з яких не може отримати спеціалізовану медичну допомогу [1].

Згідно з даними статистики, ГН займає третє місце після цукрового діабету та артеріальної гіпертензії серед причин розвитку термінальної стадії ХХН. У загальній групі пацієнтів терапевтичного профілю частка хворих на ГН складає 2 % [2]. Розвиток даної патології призводить до неминучої ниркової недостатності, інвалідизації пацієнтів і втрати соціальної активності [3]. Сьогодні в медичній практиці відсутні ефективні засоби лікування ГН, тому пошук нових комплексно діючих нефропротекторів є актуальною задачею сучасної експериментальної фармакології.

Для цієї мети потенційно придатні комбіновані препарати, що містять мембранопротектори й антиоксиданти природного походження, серед властивостей яких є нефропротекторний вплив за різними механізмами дії. Як компоненти таких засобів доцільно використати деякі похідні аміноцукру глюкозаміну, який характеризується нефропротекторною та гіпоазотемічною дією, що було доведено в експериментальних дослідженнях на моделях ГН та ниркової недостатності [4, 5]. Також перспективними речовинами для цього є флавоноїди, зокрема, кверцетин, що проявив позитивний вплив на перебіг уражень нирок в експерименті [6, 7].

У раніше проведеному дослідженні нами було доведено високу нефропротекторну активність за комбінування похідних глюкозаміну з кверцетином на тлі мембранозного ураження нирок у щурів [8]. За цих умов найперспективнішою була комбінація з співвідношенням фракції аміноцурів та флавоноїдів 3 : 1, яка представлена на вітчизняному фармацевтичному ринку у вигляді дієтичної добавки Глюквамін (ПАТ НВЦ, «Борщагівський ХФЗ», Україна). У зв'язку з цим науковий інтерес представляє поглиблене дослідження ефективності Глюкваміну за умов ГН, що розвивається на тлі ниркової недостатності, порівняно з відомими засобами нефропротекторної та гіпоазотемічної дії.

Мета дослідження – експериментальне вивчення впливу препарату Глюквамін на перебіг гломерулонефриту для обґрунтування доцільності застосування в терапії ХХН.

Матеріали та методи. Експериментальне дослідження виконано на 50 білих щурах масою 150–180 г, яких утримували на стандартному харчовому раціоні віварію за вільного доступу до питної води, постійної вологості та температурного режиму [9]. Усі дослідження проводили відповідно до рекомендацій Європейської конвенції щодо захисту тварин, які використовуються для експериментальної та іншої наукової мети [10].

Як модель ГН використовували активний нефрит Хеймана, який відтворювали шляхом імунізації тварин

© Колектив авторів, 2017

20 % емульсією коркового шару нирок у сполученні (1:1) з повним ад'ювантом Фрейнда («Sigma», США) [11]. Імунізуючу суміш готували безпосередньо перед використанням і вводили тваринам у дозі 7,4 мл/кг у 5 ділянок тіла підшкірно, а також внутрішньоочеревинно. Така схема введення забезпечує максимальну силу імунної відповіді. Через 4 тижні з метою потенціювання автоімунного процесу введення імунізуючої суміші повторювали внутрішньоочеревинно. Через 7–8 тижнів після повторної імунізації захворювання набувало розгорнутого характеру.

Усі тварини були розділені на 5 груп по 10 щурів наступним чином: інтактний контроль; контрольна патологія; щури з ГН, що отримували Глюквамін у дозі 80 мг/кг ($ЕД_{50}$ за нефропротекторною активністю, визначена на попередньому етапі досліджень); щури з ГН, що отримували референтний об'єкт кверцетин у вигляді препарату Квертин (ПАТ НВЦ «Борщагівський ХФЗ», Україна) у еквівалентній дозі 20 мг/кг; щури з ГН, що отримували препарат порівняння Леспефрил (ПАТ «Лубнифарм», Україна) у дозі 2,2 мл/кг (середня терапевтична доза для людини, перерахована за константами біологічної активності [12]). Тест-зразки усіх засобів вводили внутрішньошлунково щоденно, починаючи з 60 доби експерименту протягом 2 міс. у вигляді розчинів або суспензій, виготовлених на фізіологічному розчині. Щури контрольних груп отримували фізіологічний розчин в еквівалентній кількості.

Функціональний стан нирок щурів оцінювали на 120 добу після відтворення патології. У тварин збирали добову сечу за допомогою індивідуальних метаболітних кліток, визначали відносний діурез, після чого їх виводили з досліду та отримували кров для біохімічних досліджень. Нирки тварин вилучали, піддавали макроскопічному аналізу та визначали масовий коефіцієнт нирок (МКН) стандартним методом. У зібраній сечі визначали вміст білка нефелометричним методом [13, 14]. Далі за допомогою біохімічних наборів «DiaSys» («DiaSys Diagnostic Systems GmbH» (Німеччина) з використанням автоматичного біохімічного аналізатора «Express Plus» («Bayer Diagnostics», Німеччина) визначали вміст у крові загального білка, альбуміну, сечовини, а також вміст креатиніну в крові й сечі [13], після чого розраховували показник швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за кліренсом ендогенного креатиніну стандартним методом [14].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою пакета програм «STATISTICA 10.0», використовуючи t-критерій Стьюдента та кутове перетворення Фішера (при аналізі показників летальності) для порівняння незалежних вибірок за рівня вірогідності $p < 0,05$ [15].

Результати та їх обговорення. Лабораторні спостереження за тваринами показали, що через 3 міс. після відтворення патології нефропатія набувала розгорнутого характеру. Тварини були кволими, малорухливими, з вираженими проявами асциту та набряків, що зумовлено затримкою рідини в організмі та гіпоальбумінемією. Деякі показники загального стану щурів та функціонального стану їхніх нирок під впливом експериментального лікування на 120 добу досліду наведено в таблиці 1.

На особливу увагу заслуговує летальність тварин, оскільки вона є інтегральним показником нефропротекторної дії дослідних засобів у даному експерименті. Так, рівень летальності в контрольній групі склав 30 % у разі застосування препаратів порівняння Квертину та Леспефрилу – по 20 %. У групі, де щури отримували Глюквамін, жодного випадку летальності зафіксовано не було (табл. 1). За даним показником Глюквамін вірогідно перевищував вплив референс-препаратів.

У групі контрольної патології спостерігали класичну картину ГН з нирковою недостатністю. Про це свідчило достовірне щодо інтактних тварин зменшення відносного діурезу в 1,3 разу, що свідчить про затримку рідини в організмі, підвищення показника МКН (до 0,45 %), що говорить про розвиток у нирках запально-деструктивних процесів, збільшення протеїнурії (до 119 мг/доба),

Таблиця 1

Перебіг гломерулонефриту в щурів за впливу Глюкваміну, M ± m

Умова досліду	Летальність, %	Відносний діурез, %	Протеїнурія, мг/доба	Масовий коефіцієнт нирок, %	Швидкість клубочкової фільтрації, мл/доба
Інтактний контроль (n = 10)	—	50,8 ± 0,6	1,4 ± 0,1	0,30 ± 0,01	422,5 ± 13,0
Контрольна патологія (n = 7)	30	37,9 ± 0,7[1]	118,8 ± 9,7[1]	0,45 ± 0,01[1]	138,6 ± 6,6[1]
Глюквамін (n = 10)	0[2]	46,7 ± 0,5[1, 2]	51,7 ± 3,5[1, 2]	0,37 ± 0,01[1, 2]	255,0 ± 8,5[1, 2]
Квертин (n = 8)	20[3]	43,3 ± 0,7[1, 2, 3]	65,3 ±4,57[1, 2]	0,40 ± 0,01[1, 2]	213,7 ± 8,0[1, 2, 3]
Леспефрил (n = 8)	20[3]	53,4 ± 0,7[1, 2, 3]	83,0 ± 5,6[1, 2]	0,43 ± 0,01[1, 3]	235,8 ± 7,7[1, 2]

Примітка. Тут і в табл. 2: [1]Відмінності вірогідні відносно інтактного контролю ($p < 0,05$); [2]відмінності вірогідні відносно контрольної патології ($p < 0,05$); [3]відмінності вірогідні відносно тварин, що отримували Глюквамін ($p < 0,05$), n – кількість тварин на завершенні експерименту.

що свідчить про ураження ниркового фільтра, та зниження ШКФ у 3 рази (до 137 мл/доба), що у свою чергу є ознакою приєднання ниркової недостатності (табл. 1).

Під впливом Глюкваміну спостерігали виражену нефропротекторну дію. Так, у тварин відбувалось вірогідне відносно контрольної патології зниження протеїнурії в 2,3 разу (до 52 мг/доба) та показника МКН до 0,37 %, що говорить про зменшення ушкоджень ниркового фільтра та проявів запально-деструктивних процесів у нирках. Суттєво збільшувалися значення відносного діурезу (на 23 %) та ШКФ – у 1,8 разу (до 255 мл/доба), що свідчить про зменшення проявів ниркової недостатності в щурів даної групи (табл. 1).

Дещо менший рівень активності було виявлено в разі застосування препарату порівняння Квертин. Під його впливом відбувалося вірогідне збільшення на 14 % відносного діурезу, зменшення в 1,8 разу протеїнурії та показника МКН до 0,4 %. Також Квертин чинив позитивний вплив на ШКФ, збільшуючи її в 1,5 разу відносно нелікованих тварин (табл. 1). Даний референтний препарат статистично значимо поступався Глюкваміну за впливом на показники відносного діурезу, протеїнурії та ШКФ.

Інший характер фармакодинаміки спостерігали в разі застосування референс-препарату Леспефрилу, який є відомим засобом діуретичної та гіпоазотемічної дії. Під його впливом показник відносного діурезу збільшувався в 1,4 разу та вірогідно перевищував інтактний рівень, що пояснюється сечогінною дією. Також достовірно відносно нелікованих тварин знижувався рівень протеїнурії на 40 % та збільшувався показник ШКФ у 1,7 разу (до 236 мл/доба), МКН залишався на рівні контрольної патології (табл. 1). Слід відмітити, що Леспефрил вірогідно поступився Глюкваміну за впливом на показники протеїнурії та МКН, які відображують запально-деструктивні зміни в нирках.

У таблиці 2 наведено деякі біохімічні показники крові щурів з ГН під впливом експериментального лікування.

Отримані результати свідчать, що в групі контрольної патології спостерігаються зміни, типові для хронічної ниркової недостатності. У тварин відбувається вірогідне зниження вмісту загального білка в 2,2 разу за збереження відсоткової частки альбуміну. Це пояснюється вираженою протеїнурією неселективного характеру. Також відмічається вірогідне збільшення азотистих речовин, уміст креатиніну збільшуєть-

Таблиця 2

Біохімічні показники крові щурів з гломерулонефритом за впливу Глюкваміну, M ± m

Умова досліду	Загальний білок, г/л	Альбумін, %	Креатинін, мкмоль/л	Сечовина, ммоль/л
Інтактний контроль (n = 10)	72,3 ± 2,1	32,6 ± 1,5	52,0 ± 2,5	4,3 ± 0,3
Контрольна патологія (n = 7)	33,2 ± 1,5[1]	30,1 ± 0,8	139,4 ± 9,6[1]	17,6 ± 0,6[1]
Глюквамін (n = 10)	55,3 ± 1,6[1, 2]	31,1 ± 1,5	79,3 ± 3,8[1, 2]	11,2 ± 0,6[1, 2]
Квертин (n = 8)	47,9 ± 2,5[1, 2, 3]	33,5 ± 2,2	110,7 ± 8,8[1, 2, 3]	14,4 ± 0,9[1, 2, 3]
Леспефрил (n = 8)	39,4 ± 1,1[1, 2, 3]	25,0 ± 1,3[1, 2, 3]	94,1 ± 4,4[1, 2, 3]	13,5 ± 0,7[1, 2, 3]

ся в 2,7 разу (до 139,4 мкмоль/л), а сечовини – у 4,1 разу (до 17,6 ммоль/л).

За умов застосування Глюкваміну спостерігається нормалізація даних показників. Загальний білок вірогідно підвищується в 1,7 разу порівняно з нелікованими тваринами за рахунок зменшення втрат як альбумінів, так і глобулінів, про що свідчить збереження відсотку альбуміну. Уміст креатиніну вірогідно зменшується в 1,8 разу (до 79,3 мкмоль/л), а сечовини – у 1,6 разу (до 11,2 ммоль/л), що говорить про виразну гіпоазотемічну дію дослідного засобу за умов автоімунного ураження нирок.

Під впливом препарату порівняння Квертин у щурів спостерігається вірогідне збільшення загального білка крові в 1,4 разу та невірогідне відсотка альбуміну. Креатинін і сечовина крові зменшуються достовірно в 1,3 та 1,2 разу відповідно. За ступенем впливу на дані показники Квертин статистично достовірно поступався Глюкваміну.

У разі застосування Леспефрилу вміст креатиніну в крові тварин знижувався вірогідно в 1,5 разу, а сечовини – в 1,3 разу. Уміст білка в крові підвищувався на 20 % за рахунок зменшення втрат з сечею глобулінів, про що говорить вірогідне зниження відсотка альбуміну. Слід відмітити, що Глюквамін статистично значимо переважав Леспефрил за впливом на всі досліджені біохімічні показники тварин, особливо – на вміст азотистих сполук. Це позитивно характеризує дослідний об'єкт, оскільки виражені гіпоазотемічні властивості є необхідним елементом фармакодинаміки препарату, що пропонується для корекції ХХН.

Таким чином, результати проведених досліджень показали, що за умов розвитку в щурів ГН, що супроводжується нирковою недостатністю, дослідний засіб Глюквамін знижує прояви в нирках запально-деструктивних процесів, покращує їхній функціональний стан, нормалізує процеси азотистого обміну, чинить загальний позитивний вплив на перебіг нефропатії та не поступається, а за більшістю показників навіть переважає препарат порівняння Квертин та відомий гіпоазотемічний засіб Леспефрил.

Висновки

1. Дослідний комбінований засіб Глюквамін, що містить глюкозаміну гідрохлорид, N-ацетилглюкозамін і кверцетин, у щурів з гломерулонефритом та нирковою недостатністю зменшує летальність, чинить виражену нефропротекторну та гіпоазотемічну дію та за більшістю показників переважає дію препаратів порівняння Квертину та Леспефрилу.
2. Доцільним є подальше експериментальне вивчення Глюкваміну як перспективного засобу лікування хронічної хвороби нирок.

1. Доступність лікування методом гемодіалізу в Україні хворих на ХХН V (2006–2015 рр.) / М. О. Колесник, Н. О. Сайдакова, Н. І. Козлюк [та ін.] // Український журнал нефрології та діалізу. – 2017. – № 1 (53). – С. 3–12.
2. Нефрологія : національний підручник; за ред. Л. А. Пирога, Д. Д. Іванова. – Донецьк : Видавець Заславський, 2014. – 292 с.

3. *Скворцов В. В.* Клиническая нефрология : краткий курс / В. В. Скворцов, А. В. Тумаренко. – Санкт-Петербург : СпецЛит, 2017. – 199 с.
4. *Шебеко С. К.* Дослідження фармакологічних властивостей деяких похідних глюкозаміну в умовах розвитку експериментального аутоімунного гломерулонефриту / С. К. Шебеко, І. А. Зупанець // Клінічна фармація. – 2006. – Т. 10, № 2. – С. 31–35.
5. *Зупанець І. А.* Вплив глюкозаміну гідрохлориду та його комбінації з диклофенаком натрію на перебіг хронічної ниркової недостатності в експерименті / І. А. Зупанець, С. К. Шебеко // Медична хімія. – 2007. – Т. 9, № 1. – С. 67–71.
6. *Зупанець І. А.* Експериментальне вивчення фармакологічних властивостей парентеральної форми кверцетину в умовах розвитку хронічної ниркової недостатності / І. А. Зупанець, С. К. Шебеко, Д. С. Харченко // Вісник фармації. – 2009. – № 2 (58). – С. 75–78.
7. *Kharchenko D. S.* The research of quercetin parenteral form influence on the course of experimental glomerulonephritis / D.S. Kharchenko // Drug Information Journal. – 2009. – V. 2 (43). – P. 228–229.
8. *Шебеко С. К.* Порівняльне експериментальне дослідження нефропротекторних властивостей похідних глюкозаміну у комбінації з кверцетином / С. К. Шебеко // Український біофармацевтичний журнал. – 2017. – № 5 (52). – С. 40–44.
9. Guide for the care and use of laboratory animals. – 8th ed. – Washington : The National Academies Press, 2011. – 246 p.
10. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose : Council of Europe. – Strasbourg, 1986. – 52 p.
11. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: методичні рекомендації / С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець [та ін.]. – Харків : Видавництво НФаУ, 2009. – 48 с.
12. Доклинические исследования лекарственных средств: методические рекомендации; под ред. А. В. Стефанова. – Киев : Авиценна, 2002. – 528 с.
13. Клиническая лабораторная диагностика: национальное руководство: в 2 т. – Т. 1; под ред. В. В. Долгова, В. В. Меньшикова. – Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 928 с.
14. Методы клинических лабораторных исследований; под ред. В. С. Камышникова. – 4-е изд. – Москва : МЕДпресс-информ, 2011. – 752 с.
15. *Трухачева Н. В.* Математическая статистика в медико-биологических исследованиях с применением пакета Statistica / Н. В. Трухачева. – Москва: ГЭОТАР-Медиа, 2012. – 379 с.

С. К. Шебеко, І. А. Зупанець, А. С. Шаламай

Дослідження впливу Глюкваміну на перебіг гломерулонефриту з нирковою недостатністю в експерименті

Гломерулонефрит має вагоме медико-соціальне значення, оскільки є однією з головних причин виникнення хронічної хвороби нирок (ХХН). Розвиток даної патології призводить до неминучої ниркової недостатності, інвалідизації хворих і втрати соціальної активності. Сьогодні в медичній практиці відсутні ефективні засоби лікування гломерулонефритів.

Мета дослідження – експериментальне вивчення впливу Глюкваміну на перебіг гломерулонефриту для обґрунтування доцільності його застосування в терапії ХХН.

Дослідження проводили на моделі активного нефриту Хеймана на 50 щурах. У тварин проводили дослідження сечі, визначали масовий коефіцієнт нирок, швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), уміст загального білка, альбуміну, креатиніну та сечовини в крові.

У ході дослідження було показано, що під впливом Глюкваміну станом на 120 добу дослідження спостерігали вірогідне зменшення рівня протеїнурії, масового коефіцієнта нирок та збільшення відносного діурезу й показнику ШКФ, що свідчить про нормалізацію функціонального стану нирок. Також у тварин спостерігали збільшення вмісту в крові загального білка й альбуміну та зменшення креатиніну й сечовини, що говорить про покращання білкового та азотистого обмінів. При цьому за ступенем впливу Глюквамін перевершував активність препаратів порівняння Кверцетину та Леспефрилу.

Дослідний препарат Глюквамін, що містить кверцетин і похідні глюкозаміну за умов розвитку гломерулонефриту з нирковою недостатністю в щурів чинить виражену нефропротекторну й гіпоазотемічну дію та є перспективним засобом лікування ХХН.

Ключові слова: Глюквамін, кверцетин, глюкозаміну гідрохлорид, N-ацетилглюкозамін, гломерулонефрит, ниркова недостатність

С. К. Шебеко, И. А. Зупанец, А. С. Шаламай

Исследование влияния Глюквамина на течение гломерулонефрита с почечной недостаточностью в эксперименте

Гломерулонефрит имеет огромное медико-социальное значение, поскольку является одной из основных причин возникновения хронической болезни почек (ХБП). Развитие данной патологии приводит к неминуемой почечной недостаточности, инвалидизации больных и потере социальной активности. На сегодняшний день в медицинской практике отсутствуют эффективные средства лечения гломерулонефрита.

Цель исследования – экспериментальное изучение влияния Глюквамина на течение гломерулонефрита для обоснования целесообразности его применения в терапии ХБП.

Исследования проводили на модели активного нефрита Хеймана на 50 крысах. У животных проводили изучение мочи, определяли массовый коэффициент почек, скорость клубочковой фильтрации (СКФ), содержание общего белка, альбумина, креатинина и мочевины в крови.

В ходе исследования было показано, что под влиянием Глюквамина по состоянию на 120 сутки исследования наблюдалось достоверное уменьшение уровня протеинурии, массового коэффициента почек и увеличение относительного диуреза и показателя СКФ, что свидетельствует о нормализации функционального состояния почек. Также у животных наблюдали увеличение содержания в крови общего белка и альбумина, а также уменьшение креатинина и мочевины, что говорит об улучшении белкового и азотистого обменов. При этом по степени влияния Глюквамин превосходил активность препаратов сравнения Кверцетина и Леспефрила.

Исследуемый препарат Глюквамин, содержащий кверцетин и производные глюкозамина, в условиях развития гломерулонефрита с почечной недостаточностью у крыс оказывает выраженное нефропротекторное и гипоазотемическое действие и является перспективным средством лечения ХБП.

Ключевые слова: Глюквамин, кверцетин, глюкозамина гидрохлорид, N-ацетилглюкозамин, гломерулонефрит, почечная недостаточность

S. K. Shebeko, I. A. Zupanets, A. S. Shalamay

The study of the influence of Glucuamine on the course of glomerulonephritis with renal failure in the experiment

Glomerulonephritis has a great medical and social importance, since it is one of the main causes of the onset of the chronic kidney disease (CKD). The development of this pathology leads to imminent renal failure, disability of patients and loss of social activity. For today in medical practice there are no effective drugs for glomerulonephritis treatment.

The aim of the study was to research the effect of Glucuamine on the course of glomerulonephritis in order to substantiate the feasibility of its use in CKD therapy.

The study were carried out on the active Heiman nephritis model using 50 rats. There was urine studied in animals and the kidney mass coefficient, the glomerular filtration rate (GFR), the total protein, albumin, creatinine and urea in the blood were determined.

In the course of the study, it was shown that under the influence of Glucuamine on the 120th day of the study there was a significant decrease in the level of proteinuria, the kidney mass index and an increase in the relative diuresis and GFR, which indicates the normalization of the functional state of the kidneys. Also in animals there was an increase in the total protein and albumin content in the blood as well as a decrease in creatinine and urea, which indicates an improvement in protein and nitrogen metabolism. At the same time according to the degree of influence Glucuamine was superior to the activity of the comparative drugs Quercetin and Lespephril.

The investigated medicament Glucuamine, containing quercetin and glucosamine derivatives, under the conditions of glomerulonephritis development with renal failure in rats exerts a pronounced nephroprotective and hypoazotemic action and is a promising drug of CKD therapy.

Key words: Glucuamine; quercetin; glucosamine hydrochloride; N-acetylglucosamine; glomerulonephritis, renal failure

Надійшла: 29 вересня 2017 р.

Контактна особа: Шебеко Сергій Костянтинович, кандидат фармацевтичних наук, доцент, кафедра клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, буд. 27, вул. Пушкінська, м. Харків, 61057. Тел.: +38 095 887 44 35.
Електронна пошта: shebeko.sk@gmail.com