

ВПЛИВ СТАТИНІВ НА ФУНКЦІОНАЛЬНИЙ СТАН НИРОК ЩУРІВ ТА ВМІСТ ПРОЗАПАЛЬНИХ ЦИТОКІНІВ У ПЛАЗМІ КРОВІ ПРИ ТОКСИЧНІЙ ФОРМІ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

©І. І. Заморський, О. В. Геруш, В. Г. Зеленюк

Буковинський державний медичний університет

Резюме: досліджено вплив статинів (аторвастатину, ловастатину, симвастатину) в дозі 20 мг/кг на функціональний стан нирок щурів при токсичній гострій нирковій недостатності. При дії препаратів спостерігали збільшення діурезу, підвищення швидкості клубочкової фільтрації та зменшення концентрації білка в сечі. Одним із встановлених механізмів нефропротекторного впливу статинів було зменшення вмісту прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α). Серед досліджуваних препаратів найкращий профіль впливу продемонстрував симвастатин.

Ключові слова: статини, гентаміцин, гостра ниркова недостатність, цитокіни.

Вступ. Порівняно з іншими формами ренальної патології гостра ниркова недостатність є частим та небезпечним невідкладним станом, що досить швидко призводить до летального наслідку [4]. Оскільки на сьогодні залишається невирішеним питання ефективності фармакотерапії при ГНН [12], перспективним є пошук лікарських засобів із впливом на патогенез захворювань нирок [10]. Серед відомих лікарських засобів є лише невелика кількість нефропротекторів для покращення прогнозу при гострій нирковій недостатності [1, 8]. В контексті наведеного вище, інтерес становить група статинів, що інгібують ГМГ-КоА редуктазу та зменшують вміст ліпопротеїнів низької щільності. Останні внаслідок окиснення чи глікозилювання можуть модифікуватися та стимулювати секрецію моноцитами/макрофагами підвищеної кількості цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α) [15]. Наведені цитокіни призводять до адгезії лейкоцитів та моноцитів до ендотелію, підвищуючи ризик тромбоутворення [2], долучаються до розвитку патологічних змін паренхіми нирок [10], беруть участь у розвитку процесу запалення, ішемічно-реперфузійних, метаболічних та гемодинамічних порушень [11]. За даними літератури, для ГНН характерне підвищення концентрації у плазмі крові прозапальних цитокінів, а саме ІЛ-1 β , ІЛ-6, ІЛ-8 та ФНП- α , які здатні залучати один одного в серії каскадних подій, що призводять до синергічного потенціювання з патобіологічними ефектами [16].

Мета дослідження – встановити взаємозв'язок між впливом статинів (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) на функцію нирок та зміною цитокінового профілю плазми крові лабораторних тварин при ГНН.

Методи дослідження. Дослідження проводили на 40 нелінійних статевозрілих білих щурах масою 140–180 г, які знаходились в умовах віварію з підтриманням постійної температури та вологості з вільним доступом до води та їжі. Тварин розподілили на 5 груп (n=8): інтактних тварин, модельної патології та 3-х груп лікованих різними статинами тварин. ГНН викликали внутрішньом'язовим введенням щурам 4 % розчину гентаміцину сульфату у дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом 6 днів [6, 13]. Статини (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) вводили у дозі 20 мг/кг з першого дня застосування гентаміцину внутрішньошлунково в 1 % розчині крохмалю з розрахунку 1 мл суспензії препарату на 100 г маси тіла. Для оцінки функціонального стану нирок на 24 год експерименту за умов індукованого діурезу (ентеральне введення питної води в об'ємі 5 % від маси тіла) протягом 2 год збирали сечу. Після цього виводили тварин із експерименту шляхом декапітації під тіопенталовим (80 мг/кг) наркозом з метою забору крові та нирок, дотримуючись положень «Європейської конвенції із захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» [14].

Концентрацію креатиніну в плазмі крові визначали за методом Поппера у модифікації Мерзона, у сечі – за методом Фоліна [9], вміст білка в сечі – за реакцією за сульфосаліциловою кислотою [7]. Концентрацію іонів калію та натрію в сечі і плазмі крові оцінювали методом полум'яної фотометрії на ФПЛ-1 (Україна) [3]. Концентрацію загального холестерину у плазмі крові визначали за ферментативним методом G. Schettler [17], а концентрацію β -ліпопротеїнів –

турбодиметричним методом Бурштейна-Самая [5]. Вміст цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α) у плазмі крові, стабілізованій 5 % розчином етилендіамінтетраацетату, досліджували імуноферментним методом (набір реактивів фірми Vector Best, Новосибірськ, Росія). Абсорбцію проб вимірювали на апараті «Stat Fax Plus» відповідно до протоколу виробника. Статистичну значущість міжгрупових відмінностей визначали за критерієм Манна-Уїтні, кореляційний аналіз вибірок здійснювали за коефіцієнтом Спірмена за допомогою програми «Statistica 6.0».

Результати й обговорення. Уведення щуром гентаміцину призвело до тяжкого ураження нирок, що підтверджується високою летальністю тварин, яка становила 62,5 % у групі модельної патології, та глибоким порушенням функції нирок: зменшення швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) у 2,5 раза, екскреції іонів натрію та калію у 5,8 та 2,7 раза відповідно, збільшення концентрації креатиніну в плазмі крові у 1,8 раза та концентрації білка в сечі в 3 рази (табл. 1).

Застосування статинів сприяло покращенню функціонування нирок на тлі ГНН завдяки підви-

щенню ШКФ в 1,9 раза, збільшенню екскреції іонів натрію в 2,2 раза та екскреції іонів калію в 2,1 раза в середньому для усіх груп препаратів. Значно зменшилася концентрація білка в сечі в 2 рази, що є критичним чинником прогресування хвороб нирок. Стосовно концентрації креатиніну в плазмі крові, яка є важливим діагностичним та прогностичним показником, спостерігали тенденцію до її зменшення. Серед використаних препаратів найвищу нефропротекторну ефективність продемонстрував симвастатин завдяки покращанню екскреторної функції нирок (збільшення екскреції іонів натрію на 24 % та іонів калію на 39 %, зменшення протеїнуриї на 29 % порівняно з іншими застосовуваними статинами).

Основна, гіпохолестеролемічна, дія статинів реалізувалась у зменшенні на 12 % підвищеної на тлі ГНН концентрації загального холестерину у плазмі крові та на 20 % – вмісту β -ліпопротеїнів (в середньому для усіх препаратів) (табл. 2). Серед досліджуваних препаратів найкраще зменшував вміст загального холестерину аторвастатин – на 28 %, концентрацію вліпопротеїнів – симвастатин на 43 %.

Таблиця 1. Вплив статинів на виживаність та функцію нирок щурів на тлі гентаміцинової гострої ниркової недостатності ($M \pm m$, $n=8$)

Показники	Інтактний контроль	Модельна патологія	ГНН + аторвастатин	ГНН + ловастатин	ГНН + симвастатин
Вживаність, %	100	62,5 $p \leq 0,01$	87,5 $p_1 \leq 0,01$	87,5 $p_1 \leq 0,01$	100 $p_1 \leq 0,01$
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	469,03 \pm 59,2	190,94 \pm 21,7 $p \leq 0,01$	375,82 \pm 29,0 $p_1 \leq 0,01$	372,97 \pm 63,7 $p_1 \leq 0,01$	317,97 \pm 46,98 $p_1 \leq 0,05$
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	41,65 \pm 3,21	74,37 \pm 5,29 $p \leq 0,01$	66,93 \pm 3,84	69,91 \pm 4,93	65,45 \pm 7,08
Концентрація білка в сечі, г/л	0,028 \pm 0,005	0,084 \pm 0,008 $p \leq 0,01$	0,041 \pm 0,002 $p_1 \leq 0,01$	0,047 \pm 0,003 $p_1 \leq 0,01$	0,038 \pm 0,003 $p_1 \leq 0,01$
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/2 год	3,71 \pm 0,51	5,79 \pm 0,55 $p \leq 0,05$	3,79 \pm 0,34 $p_1 \leq 0,01$	4,59 \pm 0,50	3,79 \pm 0,39 $p_1 \leq 0,01$
Екскреція K ⁺ , мкмоль/2 год	27,61 \pm 2,66	10,22 \pm 1,11 $p \leq 0,01$	19,69 \pm 1,66 $p_1 \leq 0,01$	20,08 \pm 1,72 $p_1 \leq 0,01$	23,85 \pm 2,53 $p_1 \leq 0,01$
Фракційна екскреція Na ⁺ , %	0,71 \pm 0,13	2,99 \pm 0,47 $p \leq 0,01$	0,83 \pm 0,14 $p_1 \leq 0,01$	1,04 \pm 0,08 $p_1 \leq 0,01$	0,68 \pm 0,09 $p_1 \leq 0,01$

Примітки: p – вірогідність різниці з даними групи інтактного контролю;
p₁ – вірогідність різниці з даними групи тварин із експериментальною ГНН.

Таблиця 2. Рівень загального холестерину та β -ліпопротеїнів у плазмі крові щурів ($M \pm m$, $n=8$)

Показники	Інтактний контроль	Модельна патологія	ГНН + аторвастатин	ГНН + ловастатин	ГНН + симвастатин
Загальний холестерин, мг/дл	44,64 \pm 2,53	50,00 \pm 2,89	39,02 \pm 2,09 $p_1 \leq 0,05$	40,18 \pm 3,3	39,73 \pm 3,95 $p_1 \leq 0,05$
β -ліпопротеїни, у. о.	14,79 \pm 0,71	17,71 \pm 0,75 $p \leq 0,05$	12,86 \pm 0,67 $p_1 \leq 0,01$	13,57 \pm 0,48 $p_1 \leq 0,01$	12,36 \pm 0,6 $p_1 \leq 0,01$

Примітки: p – вірогідність різниці з даними групи інтактного контролю;
p₁ – вірогідність різниці з даними групи тварин із експериментальною ГНН.

Як показали результати нашого дослідження, на 6-ту добу експерименту спостерігали значне зростання вмісту прозапальних цитокінів в групі тварин із гентаміциновою нефропатією порівняно з групою інтактного контролю (ІЛ-1 β – у 3,3 раза, ІЛ-6 – у 3,1 раза, ФНП- α – у 3,7 раза) (табл. 3). Застосування статинів призводило до значного вірогідного зменшення концентрації досліджуваних цитокінів у плазмі крові щурів, проте мало відмінності у різних групах препаратів. Найвиразніше зменшення вмісту ІЛ-1 β у 3,12 раза відзначали у лікованих симвастатином тварин, введення аторвастатину та ловастатину менш виразно нормалізувало цей показник – у 2 та 1,5 раза відповідно. Концентрація ІЛ-6 при застосуванні статинів зменшувалась в групі аторвастатину в 1,9 раза, ловастатину – в 1,5 раза, симвастатину – в 1,7 раза. Найістотніше достовірне зменшення вмісту ФНП- α спос-

терігали при введенні симвастатину – у 2,6 раза, а найменше – при введенні ловастатину – в 1,3 раза. Порівнюючи вплив досліджуваних препаратів на рівень прозапальних цитокінів можна зробити висновок, що симвастатин найкраще нормалізував вміст ІЛ-1 β та ФНП- α , аторвастатин – ІЛ-6, а ловастатин найменш активно впливав на цитокіновий профіль. Такий прояв дії статинів можна пояснити вираженістю їх плейотропних ефектів та взаємозв'язком між параметрами функції нирок, β -ЛП та маркерами запального процесу. Так, при застосуванні препарату із найвищою в контексті нашого експерименту антиатерогенною активністю, симвастатину, встановлено сильну кореляційну залежність між вмістом ІЛ-1 β та β -ЛП ($r=0,84$), а також ІЛ-1 β та ШКФ ($r=0,88$). Взаємозв'язок цих показників підтверджується і у тварин групи модельної патології: ІЛ-1 β та β -ЛП ($r=0,50$), ІЛ-1 β та ШКФ ($r=0,90$).

Таблиця 3. Вплив статинів на вміст цитокінів у плазмі крові щурів на тлі гентаміцинової гострої ниркової недостатності ($M \pm m$, $n=8$)

Показники	Інтактний контроль	Модельна патологія	ГНН + аторвастатин	ГНН + ловастатин	ГНН + симвастатин
ІЛ-1 β , пг/мл	9,50 \pm 0,68	31,63 \pm 1,66 $p \leq 0,05$	15,63 \pm 0,78 $p_1 \leq 0,01$	21,63 \pm 1,46 $p_1 \leq 0,01$	10,13 \pm 0,90 $p_1 \leq 0,01$
ІЛ-6, пг/мл	12,13 \pm 0,93	37,88 \pm 1,41 $p \leq 0,05$	20,25 \pm 1,15 $p_1 \leq 0,01$	25,38 \pm 1,57 $p_1 \leq 0,01$	22,25 \pm 1,53 $p_1 \leq 0,01$
ФНП- α , пг/мл	3,88 \pm 0,73	14,19 \pm 1,19 $p \leq 0,05$	7,56 \pm 0,85 $p_1 \leq 0,01$	10,56 \pm 0,87 $p_1 \leq 0,05$	5,50 \pm 0,72 $p_1 \leq 0,01$

Примітки: p – вірогідність різниці з даними групи інтактного контролю;
 p_1 – вірогідність різниці з даними групи тварин із експериментальною ГНН.

Висновки. При токсичній гострій нирковій недостатності статини знижують продукцію прозапальних цитокінів (ІЛ-1 β , ІЛ-6, ФНП- α), нормалізують швидкість клубочкової фільтрації та усувають протеїнурію. Нефропротекторні властивості статинів зумовлюють кореляційні взаємозв'язки між плейотропними та ренальни-

ми ефектами препаратів. Можна зробити припущення, що вища нефропротекторна ефективність симвастатину в умовах наведеного експерименту зумовлюється найвиразнішим зменшенням під впливом симвастатину атерогенної форми ліпопротеїнів порівняно з іншими статинами.

Література

1. Аракелян Н. Г. Профілактика та лікування гострої ниркової недостатності: пошук нових підходів / Н. Г. Аракелян, С. Ю. Штриголь // Вісник фармації. – 2005. – № 4. – С. 52–55.
2. Атрощенко Е. С. Плейотропные эффекты статинов: новый аспект действия ингибиторов ГМГ-КоА-редуктазы / Е. С. Атрощенко // Медицинские новости. – 2004. – № 3. – С. 59–66.
3. Берхин Е. Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов. – Барнаул, 1972. – 199 с.
4. Горошко О.М. Нефропротекторні властивості препаратів кверцетину (корвітин та ліпофлавіон) на мо-

- делі гентаміцинової нефропатії / О. М. Горошко, І. І. Заморський, О. В. Геруш // Клін. та експерим. патологія. – 2009. – Т. 8, № 3 (29). – С. 19–22.
5. Горячковский А. М. Клиническая биохимия / А. М. Горячковский. – Одесса: Астропринт, 1998. – 608 с.
6. Методи експериментального моделювання ураження нирок при фармакологічних дослідженнях: методичні рекомендації ДФУ України / С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець та ін. – К., 2009. – С. 9–10.
7. Михеева А. И. К методике определения общего белка в моче на ФЭК–Н–56 / А. И. Михеева, И. А. Богодарова // Лаб. дело. – 1969. – № 7. – С. 441–442.
8. Товчига О. В. Препарати з нефропротекторною дією:

Огляд фармацевтичного ринку України / О. В. Товчи-га, С. М. Ролік, С. Ю. Штриголь // Укр. біофармац. журн. – 2011. – № 2 (13). – С. 29–35.

9. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. – СПб.: Лань, 1997. – 304 с.

10. Синиця В. О. Вплив рекомбінантного антагоніста рецепторів інтерлейкіну-1 на гістоструктуру та функцію нирок за ішемічної гострої ниркової недостатності / В. О. Синиця, К. Г. Щокіна, С. Ю. Штриголь // Бук. мед. вісник. – 2012. – Т. 16, № 1 (61). – С. 139–143.

11. Соловьев А. Г. Роль ангиотензина и цитокинов в развитии почечной недостаточности в эксперименте и эффекты антицитокиновой терапии: автореф. дис. на соиск. науч. ст. канд. мед. наук / А. Г. Соловьев. – СПб., 2007 – 21 с.

12. Хилтон Р. Острая почечная недостаточность / Р. Хилтон // Реферативный жур. – 2007. – № 23. – С. 1727–1733.

13. Animal models of acute renal failure / Amrit Pal Singh,

Arunachalam Muthuraman, Amteshwar Singh Jaggi [et al.] // Pharmacological Reports. – 2012. – № 64. – P. 31–44.

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

15. Effect of simvastatin on proinflammatory cytokines production during lipopolysaccharide-induced inflammation in rats / L. Nezic, R. Skrbic, S. Dobric [et al.] // Gen. Physiol. Biophys. – 2009. – Vol. 28, Special Issue. – P. 119–126.

16. Ortega M. L. Role of cytokines in the pathogenesis of acute and chronic kidney disease, glomerulonephritis, and end-stage kidney disease / M. L. Ortega, A. Fornoni // International J. of Interferon, Cytokine and Mediator Research. – 2010. – N 2. – P. 49–62.

17. Schettler G. Determination of triglycerides / G. Schettler, E. Nussel // Arbeitsmed. Sozialmed. Chol. Praventiv. Med. – 1975. – № 10. – P. 25.

ВЛИЯНИЕ СТАТИНОВ НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ПОЧЕК КРЫС И СОДЕРЖАНИЕ ПРОВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ЦИТОКИНОВ В ПЛАЗМЕ КРОВИ ПРИ ТОКСИЧЕСКОЙ ФОРМЕ ОСТРОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ

И. И. Заморский, О. В. Геруш, В. Г. Зеленюк

Буковинский государственный медицинский университет, Черновцы

Резюме: исследовано влияние статинов (аторвастатина, ловастатина, симвастатина) в дозе 20 мг/кг на функциональное состояние почек крыс при токсической острой почечной недостаточности. При действии препаратов наблюдали увеличение диуреза, повышение скорости клубочковой фильтрации и уменьшение концентрации белка в моче. Одним из установленных механизмов нефропротекторного влияния статинов было снижение содержания провоспалительных цитокинов (ИЛ-1 β , ИЛ-6, ФНО- α). Среди исследованных препаратов лучший профиль влияния продемонстрировал симвастатин.

Ключевые слова: статины, гентамицин, острая почечная недостаточность, цитокины.

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

I. I. Zamorskyi, O. V. Herush, V. H. Zeleniuk

Bukovyna State Medical University, Chernivtsi

Summary: the research study was targeted at the examination of statin (atorvastatin, lovastatin, simvastatin) influence at 20 mg/kg on renal function in rats under the conditions of toxic acute renal failure. As has been found in our experiments, statin administration led to increased diuresis, increased glomerular filtration rate and a decrease in proteinuria. One of the determined mechanisms of statins' renoprotective action was a decrease in the proinflammatory cytokines plasma content (IL-1 β , IL-6, TNF- β). Among the studied drugs better profile of impact was demonstrated by simvastatin.

Key words: statins, gentamicin, acute kidney failure, cytokines

Отримано 15.05.14