

©С. М. Марчишин¹ <https://orcid.org/0000-0001-9585-1251>

©О. Г. Дорошенко² <https://orcid.org/0009-0003-0034-1163>

©О. П. Андрієшин¹ <https://orcid.org/0000-0001-7253-7761>

©Н. В. Пасєчко¹ <https://orcid.org/0000-0002-2081-4269>

©І. П. Савченко¹ <https://orcid.org/0000-0002-9687-1219>

©А. І. Хоміцька¹ <https://orcid.org/0009-0007-4654-3608>

¹Тернопільський національний медичний університет імені І. Я. Горбачевського МОЗ України,
Тернопіль, Україна

²Івано-Франківський національний медичний університет, Івано-Франківськ, Україна

ДОСЛІДЖЕННЯ ВПЛИВУ НЕФРОПРОТЕКТОРНОГО ЗБОРУ НА СТРУКТУРУ НИРОК ЩУРІВ З ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЮ ГЕНТАМІЦИНОВОЮ НЕФРОПАТІЄЮ

РЕЗЮМЕ. Захворювання нирок є однією з головних проблем охорони здоров'я та причиною 1,5 % усієї смертності у світі. Небезпечним ускладненням таких захворювань є гостра ниркова недостатність (ГНН). Окрім високої летальності, ГНН також асоціюється з розвитком хронічної хвороби нирок (ХХН).

Серед причин поширеності зазначених захворювань особливе місце має сьогодні медикаментозна гостра ниркова недостатність (ГНН), особливо внаслідок впливу антибіотиків. Провідне місце серед лікарських препаратів, які чинять нефротоксичний вплив, належить антибіотикам групи аміноглікозидів. Найвираженішим нефротоксичним антибіотиком є гентаміцин. Цей препарат найчастіше використовують як засіб для моделювання нефротоксичності у тварин.

З метою запобігання ушкодження нирок та прогресування і хронізації захворювань застосовують нефропротектори. Як нефропротектори у комплексному лікуванні захворювань нирок використовують лікарські рослини, які містять комплекс БАР, що проявляють антиоксидантні, діуретичні, протизапальні, антибактеріальні, спазмолітичні, мембраностабілізуючі властивості, покращують кровообіг в нирках, швидкість фільтрації сечі тощо.

Мета – вивчити коригуючий вплив нефропротекторного збору на мікроскопічну будову нирок та порівняти його ефективність із дією референс-препарату «Хофітол» за умов експериментального токсичного ураження нирок гентаміцином.

Матеріал і методи. Нефропротекторні властивості досліджуваного збору вивчали на моделі гострого токсичного ураження нирок гентаміцином. Досліди проведено на статевозрілих щурах-самках масою 160–280 г із дотриманням вимог біоетики. Щурів виводили з досліду під легким тіопентал-натрієвим наркозом шляхом декапітації, виділяли нирки. Шматочки нирок фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали в розчинах етанолу різної концентрації та заливали у парафін. Зрізи фарбували гематоксиліном та еозином за методом Ван Гізона.

Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum, мікрофотографування здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View.

Обговорення. Одержані морфологічні дані засвідчили, що досліджуваний нефропротекторний збір суттєво зменшує пошкоджувальну дію гентаміцину: зменшуються розміри уражених ділянок ниркової паренхіми, кровонаповнення ниркових тілець менше виражене, суттєво краще збережені нефроцити проксимальних, тонких і дистальних канальців та збірних проток (їх цитоплазма виглядає більш гомогенною, розміри і кількість вакуолей у ній суттєво менша). Особливо чітко це виражено в нирках тварин, які отримували більшу дозу рослинного збору.

Висновки. 1. Гістологічні дослідження показали, що нефропротекторний збір у дозах 5 мл/кг і 10 мл/кг запобігає розвитку гентаміцин-індукованої нефропатії: зменшуються структурні зміни у тубулярній структурі звивистих канальців кіркових нефронів, збільшуються структурно інтактні ділянки кори нирок. Нефропротекторний збір в обох дозах покращував морфометричні показники стану кори нирок, але в дозі 10 мл/кг ці позитивні зміни були вираженішими.

2. Цитопротективна дія досліджуваного збору на даній моделі ниркової патології має чіткий дозозалежний ефект.

3. Нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг за цитозахисним впливом на кіркові нефрони не поступався препарату порівняння Хофітолу.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: гентаміцинова нефропатія; морфологічні зміни; щури; нирка; нефропротекторний збір.

Вступ. Захворювання нирок є однією з головних проблем охорони здоров'я та причиною 1,5 % усієї смертності у світі [1–3]. Тому сьогодні усе

більшій актуальності набувають питання діагностики та лікування захворювань нирок. Це пов'язано не лише зі збільшенням частоти їх виникнення і

високою летальністю, але і з тяжкістю перебігу та несприятливими наслідками.

Однією з проблем хвороб нирок є гостра ниркова недостатність (ГНН). Щороку в усьому світі діагностують 13,3 мільйона випадків гострого ураження нирок (ГНН) [5, 6]. Окрім високої смертності, ГНН також асоціюється з розвитком хронічної хвороби нирок (ХХН). ХХН вражає сьогодні 8,0–16,0 % дорослого населення світу. Очікується, що цей показник підніметься з 16-ї основної причини смерті в 2016 році до 5-ї в 2040 році [4].

Високу поширеність має сьогодні медикаментозна гостра ниркова недостатність (ГПН), особливо внаслідок впливу антибіотиків. Провідне місце серед лікарських препаратів, які чинять нефротоксичний вплив, належить антибіотикам групи аміноглікозидів. Аміноглікозид-індукована нефротоксичність характеризується повільним підвищенням рівня креатиніну плазми, тубулярним некрозом та значним зниженням швидкості клубочкової фільтрації [7]. Аміноглікозиди протягом тривалого часу були одними з найпоширеніших причин медикаментозно-індукованої нефротоксичності. Але, не зважаючи на несприятливі побічні ефекти, аміноглікозиди залишаються основними антибактеріальними засобами при лікуванні багатьох захворювань. Це в основному пояснюється їх хімічною стабільністю, швидкою бактерицидною активністю, синергією з β -лактамами антибіотиками, обмеженою резистентністю та недорогою ціною [8]. Найтоксичнішими серед аміноглікозидів є стрептоміцин, амікацин, неоміцин, гентаміцин, канаміцин, тобраміцин. Частота нефротоксичних реакцій при застосуванні аміноглікозидів сьогодні сягає до 30 % [12]. Найвираженішим нефротоксичним антибіотиком є гентаміцин, який виявляє свою токсичність навіть при низьких дозах [9]. Окрім того, в експериментальних дослідженнях гентаміцин часто використовується як засіб для моделювання нефротоксичності у тварин [10, 11].

З метою запобігання ушкодженню нирок, прогресуванню і хронізації захворювань застосовують нефропротектори – лікарські засоби, які чинять інтегральний захисний вплив на нирки, захищають їх клітини від ушкодження та загибелі, відновлюють метаболічні процеси та функціональну активність органів, покращують прогноз захворювання [9, 13, 14, 15].

Для підвищення ефективності лікування захворювань нирок як нефропротектори використовують лікарські рослини, які містять комплекс БАР, що проявляють антиоксидантні, діуретичні, протизапальні, антибактеріальні, спазмолітичні, мембраностабілізуючі властивості, покращують кровообіг у нирках, швидкість фільтрації сечі тощо [16–20].

Для профілактики або лікування гентаміциніндукованої нефропатії можна з успіхом використовувати фітозасоби, що містять речовини з антиоксидантною активністю [16, 18, 20]. Антиоксиданти лікарських рослин здатні зменшувати окисне індуковане пошкодження нирок шляхом зменшення перекисного окиснення ліпідів і посилення очищувальної здатності системи антиоксидантного захисту. Додавання лікарських рослин з антиоксидантними властивостями можна вважати одним із засобів для усунення патології пошкодження нирок, спричиненого окислювальним стресом [3, 7].

З огляду на те, що нефропротекторний збір містить загальновідомі за антиоксидантними властивостями фенольні сполуки (флавоноїди, гідроксикоричні кислоти, дубильні речовини) [21], доцільним було дослідити його нефропротекторну активність.

Попередні дослідження показали, що нефропротекторний збір, який містить траву споришу, траву суниці, листя горіха, листя мучниці, листя кропиви, корені і кореневища пирію (по 25,0) та квітки цмину (20,0), чинить нефропротекторну активність за умов гентаміциніндукованої нефропатії [18].

Метою нашої роботи було вивчити коригувальний вплив нефропротекторного збору на мікроскопічну будову нирок та порівняти його ефективність із дією референс-препарату «Хофітол» за умов експериментального токсичного ураження нирок гентаміцином.

Матеріал і методи дослідження. З метою верифікації інтенсивності патологічного процесу та порівняльної оцінки фармакологічної дії досліджуваного збору в умовах експериментальної гентаміцинової нефропатії проводили гістологічне дослідження нирок піддослідних щурів.

Досліди проведено на статевозрілих щурах-самках масою 160–280 г із дотриманням вимог біоетики [22]. Рандомізацію піддослідних тварин проводили методом випадкової вибірки.

Протягом експерименту тварин утримували в стандартних умовах віварію на звичайному раціоні. Протягом тижня щурам групи модельної патології та дослідних груп внутрішньом'язово один раз на день вводили розчин гентаміцину сульфату (АТ «Галичфарм», Україна) у дозі 80 мг/кг [23]. Щури групи інтактного контролю отримували в аналогічному режимі еквівалентну кількість 0,9 % розчину натрію хлориду. Протягом всього курсу введення гентаміцину тварини досліджуваних груп отримували внутрішньошлунково настій (1:10) оригінального нефропротекторного збору в дозах 5 мл/кг або 10 мл/кг та препарат порівняння «Хофітол» (Laboratories Rosa-Phytopharma, Франція, таблетки) [24] у дозі 100 мг/кг. Доза «Хо-

фітолу» розрахована з урахуванням коефіцієнтів видової чутливості та відповідає добовій терапевтичній дозі для людини. Розподіл тварин на групи наведено нижче:

1. Інтактний контроль (n=7);
2. Модельна патологія (n=7);
3. Гентаміцин + настій збору № 3, 5 мл/кг (n=6);
4. Гентаміцин + настій збору № 3, 10 мл/кг (n=6);
5. Гентаміцин + «Хофітол», 100 мг/кг (n=6).

Щурів виводили з досліду під легким тіопентал-натрієвим наркозом шляхом декапітації, видаляли нирки. Зразки нирок фіксували у 10 % розчині формаліну, зневоднювали в розчинах етанолу різної концентрації та заливали в парафін. Зроблені на санному мікротомі зрізи фарбували гематоксиліном та еозином за методом Ван Гізон [25].

Нефротоксичну дію гентаміцину пов'язують із його накопиченням у нирках, що призводить до пошкодження мембран лізосом мітохондрій та активації процесів вільнорадикального окиснення.

З джерел літератури відомо, що гентаміцин викликає ураження переважно проксимальних частин канальців нефронів. Структура ниркових клубочків і інших частин канальців нефронів при цьому практично не пошкоджується [26].

Виходячи з цього була проведена напівкількісна (бальна) оцінка тубулярної структури кіркових нефронів. У кожному зрізі у 10 полях зору мікроскопа за 5-бальною системою оцінювали розмір зон ураження та стан нефроцитів проксимальної частини канальців нефронів. Критерії оцінки були такими: розмір зон ураження (окуляр 10, об'єктив 20) – 0 балів – відсутність змін канальців; 1 бал – канальці зі змінами займають до $\frac{1}{4}$ поля зору мікроскопа; 2 бали – канальці зі змінами займають до $\frac{1}{2}$ поля зору мікроскопа; 3 бали – канальці зі змінами займають до $\frac{2}{3}$ поля зору мікроскопа; 4 бали – канальці зі змінами займають усе поле зору мікроскопа.

Стан нефроцитів (окуляр 10, об'єктив 40) визначали за критеріями вакуолізації цитоплазми та некрозу. Кожен тип пошкодження оцінювали окремо: 0 балів – відсутність змін нефроцитів канальців у полі зору; 1 бал – зміни нефроцитів виявлені у 5–10 % канальців у полі зору; 2 бали – зміни нефроцитів простежені у 15–20 % канальців у полі зору; 3 бали – зміни нефроцитів простежені більш ніж у 30–50 % канальців у полі зору; 4 бали – зміни нефроцитів простежені більш ніж у 75 % канальців у полі зору мікроскопа.

Для отримання статистичних висновків застосовували дисперсійний аналіз (критерій Краскала – Уолеса), при порівнянні вибірок – критерій Манна – Вітні при рівні імовірності $p \leq 0,05$. Для статистичної обробки використовували програму Statistica 6.0.

Мікроскопічне вивчення мікропрепаратів проводили під мікроскопом Granum, мікрофотографування мікроскопічних зображень здійснювали цифровою відеокамерою Granum DCM 310. Фотознімки обробляли на комп'ютері Pentium 2,4GHz за допомогою програми Tour View.

Обговорення. При вивченні нирок інтактних щурів у світлооптичному мікроскопі виявлено, що паренхіма їх має типову будову кіркової та мозкової речовин. Ниркові тільця нормального розміру, малюнок їх судинних клубочків достатньо чіткий, кількість ядер у петлях помірна, кровонаповнення капілярів у межах норми. Просвіт капсули клубочків рівномірний, без сторонніх елементів. Зрізи дистальних та проксимальних канальців нефронів звичайного розміру. Нефротелій не змінений, ядра в клітинах добре контуровані, цитоплазма епітеліоцитів проксимальних канальців дещо темніша, ніж у дистальних. Клітини в останніх світліші та нижчі, тому просвіти їх ширші (рис. 1).

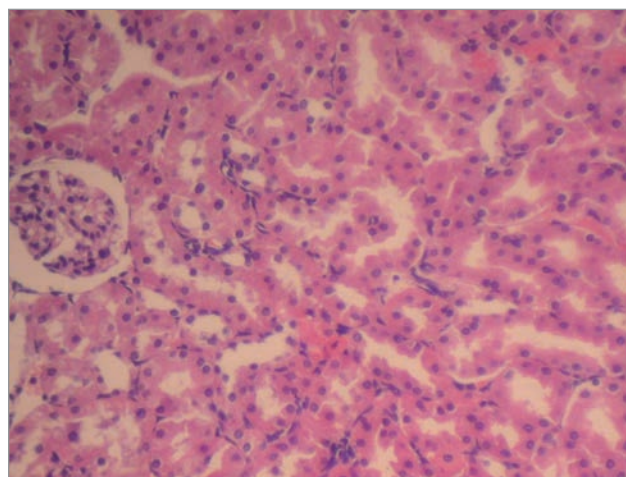


Рис. 1. Кіркова речовина нирки інтактного щура. Нормальний стан ниркового клубочка та звивистих канальців нефронів, просвіт капсули Шумлянського-Боумена, проксимальний каналець, дистальний каналець. Гематоксилін-еозин. $\times 250$.

У мозковому шарі органів гістоструктура низхідних та висхідних прямих канальців та збірних проток не змінена. Просвіти прямих канальців вузькі, а стінки їх вистелені плоскими клітинами. Збірні трубочки у нирковому сосочку мають більший діаметр і кубічний епітелій. Внутрішньоорганні кровоносні судини та компоненти строми без особливостей (рис. 2).

У щурів групи контрольної патології після введення гентаміцину сульфату виявлено суттєве пошкодження звивистих канальців кіркових нефронів. Епітеліальні клітини зруйновані, базальні мембрани не контуровані, а інтерстиційні елементи не розрізняються, на їх місці видно гомогенну

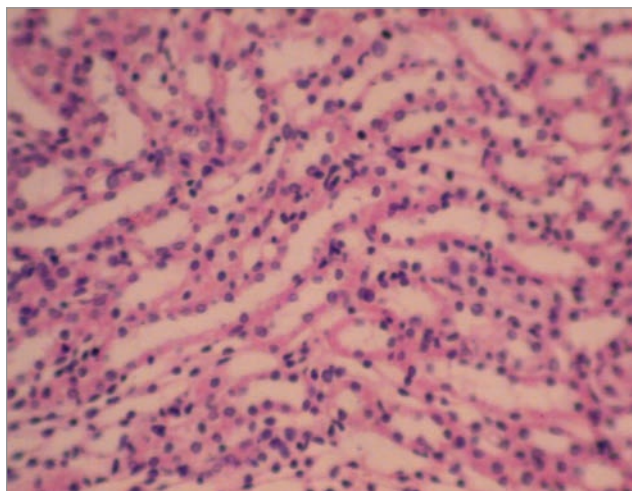


Рис. 2. Фрагмент мозкової речовини нирки інтактного щура. Стан епітелію тонких канальців та збірних проток ниркового сосочка відповідає нормі, тонкий каналець, збірна протока. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

бліду еозинофільну масу. Інколи у ній видно поодинокі ядра-тіні та подібність канальцевих контурів. У незначній частини збережених канальців висота клітин, які вистеляють стінку, значно знижена, вони мають плоску форму, щіткова облямівка на апікальній поверхні порушена, а цитоплазма клітин нерівномірно просвітлена. В окремих канальцях цитоплазма нефроцитів вакуолізована, а просвіти заповнені гомогенною оксифільною масою (гіаліновими білковими циліндрами) (рис. 3).

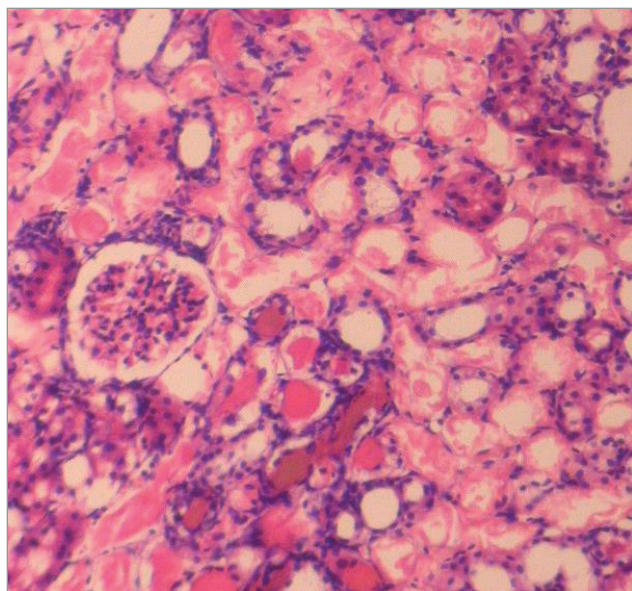


Рис. 3. Нирка щура з гентаміциновою нефропатією. Некроз більшості звивистих канальців, вакуолізація цитоплазми окремих нефроцитів, гіалінові циліндри у просвіті деяких канальців. Нирковий клубочок виразно кровонаповнений. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Більшість ниркових клубочків візуально відносно збережена, хоча певна частина знаходила-

ся у стані атрофії. У цитоплазмі нефроцитів прямих канальців мозкового шару (рис. 4) та епітелію збірних проток ниркового сосочка (рис. 5) виявляються численні вакуолі.

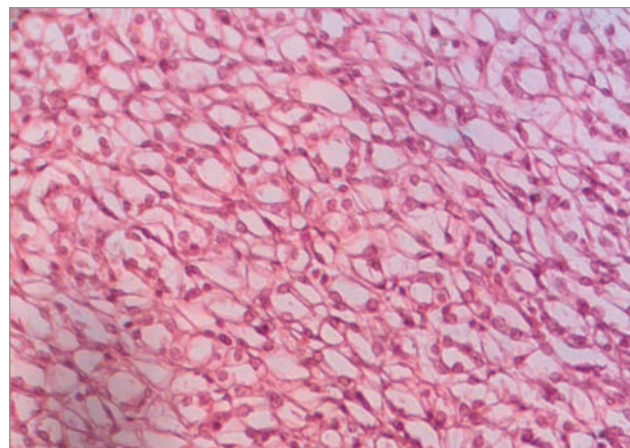


Рис. 4. Нирка щура з гентаміциновою нефропатією. Виразна вакуолізація цитоплазми нефроцитів прямих канальців мозкового шару. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

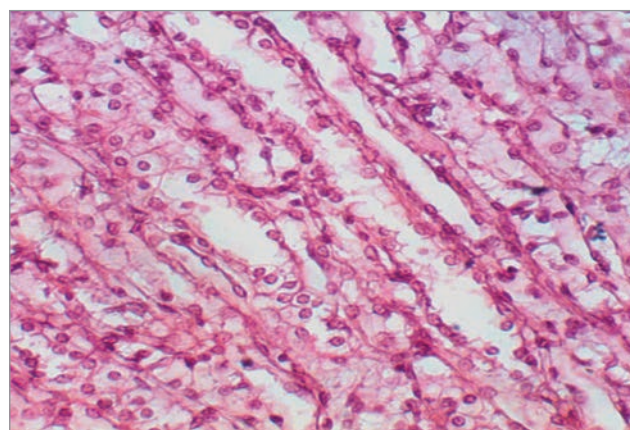


Рис. 5. Фрагмент мозкової речовини нирки щура з гентаміциновою нефропатією. Різнокаліберні вакуолі в цитоплазмі епітеліальних клітин збірних проток ниркового сосочка. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Введення нефропротекторного збору у дозі 5 мл/кг на тлі антибіотика візуально зменшило розмір ділянок із виразним порушенням канальцевих структур кіркових нефронів. У цих зонах виявляється менше канальців із ознаками некрозу нефроцитів, більше було канальців із менш виразними структурними порушеннями клітин (вакуолізація цитоплазми). Деякі звивисті канальці візуально зберігали нормальний стан нефроцитів (рис. 6). Видимі зміни ниркових клубочків у препаратах нирок тварин цієї групи не спостерігаються.

Порівняно з щурами контрольної групи, у цій групі тварин досить помітно зменшена виразність вакуолізації нефроцитів прямих канальців мозкового шару (рис. 7) і дещо менше – епітелію збірних проток ниркових сосочків (рис. 8).

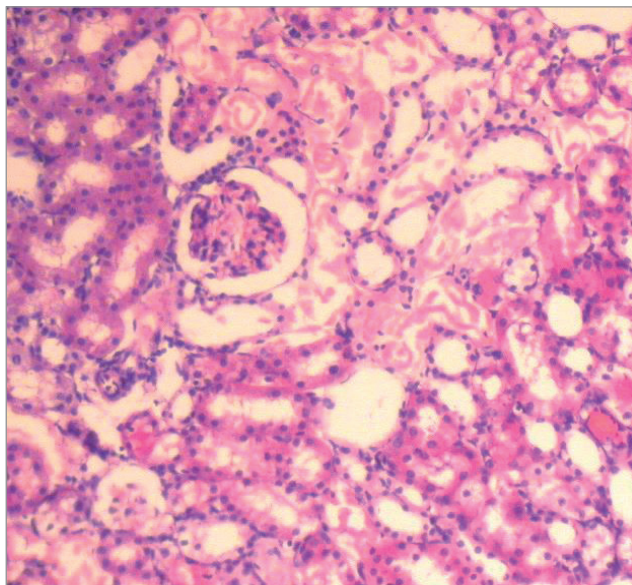


Рис. 6. Структура кіркової речовини нирки щура, який на тлі гентаміцину отримувач нефропротекторний збір у дозі 5 мл/кг. Зменшення ділянок із зруйнованими звивистими канальцями кіркових нефронів та збільшення кількості канальців із вакуолізацією нефроцитів та зовсім нормальних. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

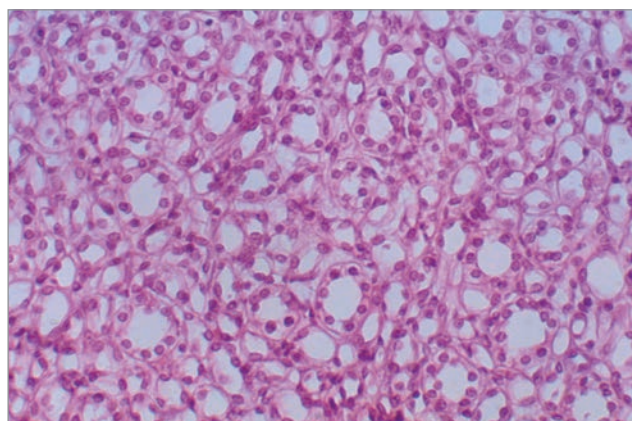


Рис. 7. Мозкова речовина нирки щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач нефропротекторний збір у дозі 5 мл/кг. Помітне зменшення вакуолізації цитоплазми нефроцитів прямих канальців мозкового шару. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Збільшення дози збору до 10 мл/кг має більш виразний позитивний вплив на збереженість структурних компонентів кіркових нефронів – як на розмір ушкоджених ділянок, так і на виразність пошкоджень клітин у цих зонах. Окремі нефроцити у канальцях, де більшість епітеліальних клітин суттєво змінені, мають досить помірні пошкодження (рис. 9). В мозковій речовині за таких умов виявляється більше ділянок без видимих ознак ушкодження. У збережених канальцях в основному спостерігається помірний набряк клітин, зрідка незначна вакуолізація цитоплазми. У деяких звивистих канальцях ядра окремих нефроци-

тів дещо збільшені, а в поодиноких клітинах виявляються картини мітозу (рис. 10), що свідчить про ознаки відновлення епітелію тубулярної системи кіркових нефронів.

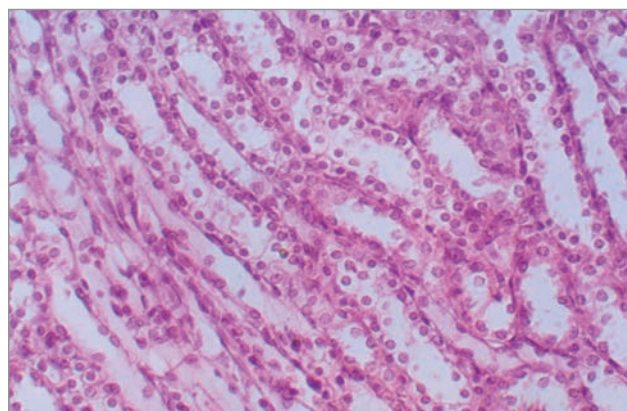


Рис. 8. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач нефропротекторний збір у дозі 5 мл/кг. Помірне зменшення вакуолізації цитоплазми епітеліальних клітин збірних проток ниркового сосочка. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

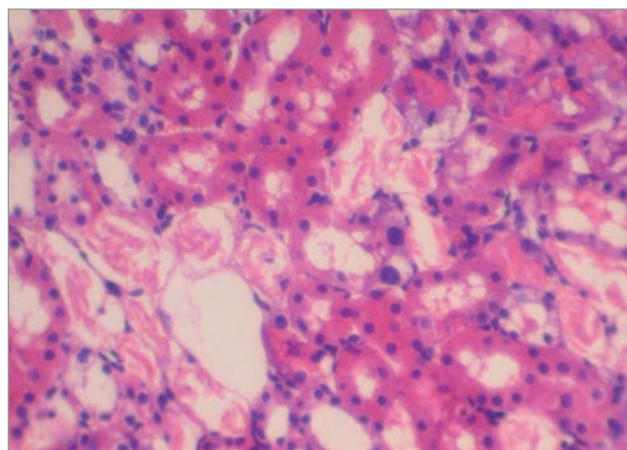


Рис. 9. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг. Невеликі зони зруйнованих канальців, помірне пошкодження окремих нефроцитів у канальцях з більшістю зруйнованих клітин, гіпертрофія ядер окремих нефроцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

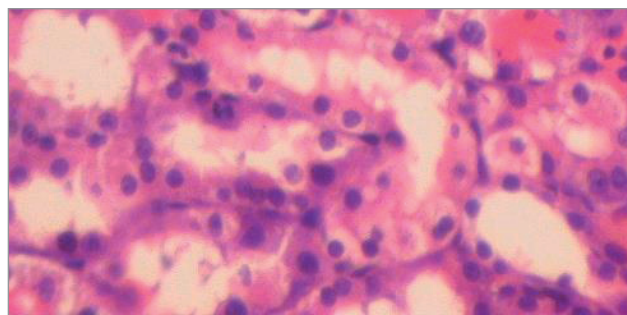


Рис. 10. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг. Метафаза мітозу в епітеліальній клітині, гіпертрофія ядер. Гематоксилін-еозин. $\times 400$.

Добре видно позитивний вплив введення піддослідним тваринам нефропротекторного збору у дозі 10 мл/кг на збереження епітелію збірних проток у мозковій речовині нирок. Клітини мають правильну кубічну форму, ядра в них нормохромні, цитоплазма майже однорідна. Окремі клітини більш округлі, як і належить, виглядають темнішими (рис. 11).

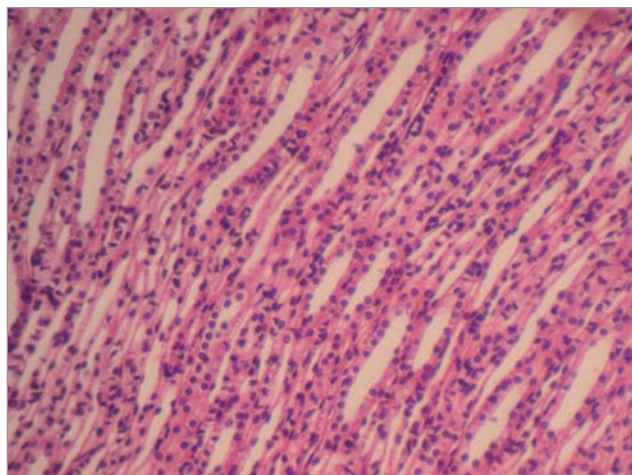


Рис. 11. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг. Практично повне відновлення епітелію збірних проток ниркового сосочка. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Щодо нефроцитів прямих канальців мозкового шару, то ознаки незначної вакуолізації цитоплазми ще мали місце. Округлі ядра в клітинах низької кубічної форми добре вирізняються на тлі неоднорідної гіалоплазми (рис. 12).

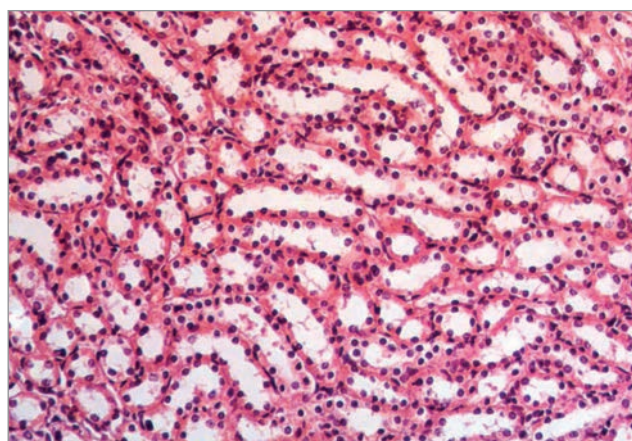


Рис. 12. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг. Помірна вакуолізація цитоплазми нефроцитів прямих канальців мозкового шару. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Введення препарату порівняння Хофітолу піддослідним щурам також позитивно впливало на стан канальців у кірковій речовині нирок, порівняно з тваринами із змодельованою гентамі-

циновою нефропатією. Розмір і поширеність зон із загиблими канальцями зменшується, рідше виявляються і нефроцити з різними структурними змінами (рис. 13).

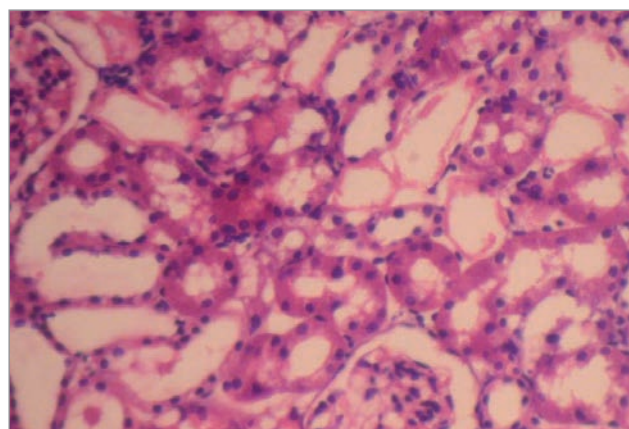


Рис. 13. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач Хофітол. Виразне зменшення зон некротично змінених звивистих канальців кіркових нефронів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Менше, ніж у тварин із контрольною патологією, виражені ознаки гідропічної вакуолізації цитоплазми нефроцитів прямих канальців мозкового шару і епітелію збиральних трубок ниркового сосочка (рис. 14).

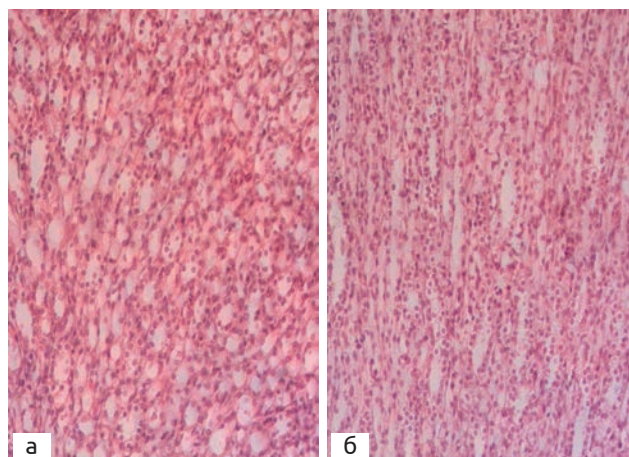


Рис. 14. Нирка щура, який на тлі ураження гентаміцином отримувач Хофітол. Зменшення вакуолізації цитоплазми нефроцитів прямих канальців мозкового шару (а) та епітелію збиральних трубок ниркового сосочка (б). Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Відповідно до поставлених завдань і для зручності порівняння виразності розвинутої патології у нирках щурів різних експериментальних груп та її корекції досліджуваним нефропротекторним збором була проведена напівкількісна оцінка розміру зон кори з порушенням структури звивистих канальців та стану нефротелію канальців кіркових нефронів. Результати проведеної оцінки наведено у таблиці 1.

Таблиця 1. Напівкількісна оцінка стану тубулярної системи кіркових нефронів щурів з гентаміцин-індукованою нефропатією і під коригуючим впливом нефропротекторного збору (бали) Me (LQ;UQ)

Група щурів	Розмір зон кори з порушенням структури звивистих каналців	Стан нефроцитів звивистих каналців	
		некротичні зміни	вакуольна дистрофія
Інтактний контроль	0(0;0)	0(0;0)	0(0; 0)
КП (гентаміцин)	3,4(3,4; 3,4)*	3,3(3,1; 3,4)*	0,6(0,4; 0,7)*
КП + збір у дозі 5 мл/кг	1,8(1,6; 2,0)*/**	2,5(2,2; 2,6)*/**	1,1(0,9; 1,1)*/**
КП + збір у дозі 10 мл/кг	1,5(1,3; 1,5)*/**/#	1,6(1,5; 1,7)*/**/#	0,4(0,3; 0,4)*/#
КП + Хофітол	1,3(1,1; 1,5)*/**/#	1,4(1,4; 1,4)*/**/#/ф	0,6(0,4; 0,7)*/#
p	0,01		

Примітки: 1. p – рівень статистичної значущості при порівнянні вибірок за допомогою критерію Крускала – Уолліса.

2. * – рівень статистичної значущості при порівнянні дослідних груп з групою ІК за допомогою критерію Манна – Уїтні;

3. ** – рівень статистичної значущості при порівнянні дослідних груп з групою КП за допомогою критерію Манна – Уїтні;

4. # – рівень статистичної значущості при порівнянні дослідних груп з групою збір 5 мл/кг за допомогою критерію Манна – Уїтні;

5. ф – рівень статистичної значущості при порівнянні дослідних груп з групою збір 10 мл/кг за допомогою критерію Манна – Уїтні.

Як видно з даних таблиці, у щурів, яким вводили гентаміцин, нефроцити кіркових нефронів з незворотною патологією (некроз) значно переважають над клітинами зі змінами, які мають зворотний характер (вакуольна дистрофія).

Нефропротекторний збір в обох досліджуваних дозах покращує обрані морфометричні критерії оцінки стану кори, але у дозі 10 мл/кг ці позитивні зміни були вираженішими, в той час як при дії меншої дози все ще залишається достатня кількість нефроцитів як із незворотними, так і зі зворотними змінами.

Нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг за позитивним впливом на стан нефротелію звивистих каналців за деякими параметрами (розмір зон кори з порушенням структури звивистих каналців, ступінь прояву вакуольної дистрофії нефроцитів) не поступається препарату порівняння Хофітолу та поступається останньому за антинекротичним впливом.

Висновки. 1. Гістологічні дослідження показали, що нефропротекторний збір у дозах 5 мл/кг і 10 мл/кг запобігає розвитку гентаміцин-індукованої нефропатії: зменшуються структурні зміни у тубулярній структурі звивистих каналців кіркових нефронів, збільшуються структурно інтактні

ділянки кори нирок. Нефропротекторний збір в обох дозах покращував морфометричні показники стану кори нирок, але в дозі 10 мл/кг ці позитивні зміни були вираженішими.

2. Цитопротективна дія досліджуваного збору на даній моделі ниркової патології має чіткий дозозалежний ефект.

3. Нефропротекторний збір у дозі 10 мл/кг за цитозахисним впливом на кіркові нефрони не поступався препарату порівняння Хофітолу.

Джерела фінансування. Власні кошти авторів.

Внесок авторів:

С. М. Марчишин – ідея, дизайн дослідження, коректування статті;

О. Г. Дорошенко – збір та аналіз літератури, участь у написанні статті;

О. П. Андріїшин – збір та аналіз літератури, участь у написанні статті, висновки;

Н. В. Пасечко – участь у написанні статті, коректування статті;

І. П. Савченко – участь у написанні статті, анотації;

А. І. Хоміцька – участь у написанні статті.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

ЛІТЕРАТУРА

1. Bencheikh N., Elachouri M., Subhash C. M. Ethnobotanical, pharmacological, phytochemical, and clinical investigations on Moroccan medicinal plants traditionally used for the management of renal dysfunctions. *J Ethnopharmacol.* 2022. Vol. 292. P. 115178.
2. Global health inequalities of chronic kidney disease: a meta-analysis / R. Duff, O. et al. *Nephrol Dial Transplant.* 2024. Vol. 39 (10). P.1692–1709.
3. Josa E., Barril G., Ruperto M. Potential Effects of Bioactive Compounds of Plant-Based Foods and Medicinal

Plants in Chronic Kidney Disease and Dialysis: A Systematic Review. *Nutrients.* 2024. Vol. 16 (24). P. 4321.

4. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause and cause-specific mortality for 250 causes of death: reference and alternative scenarios for 2016–2040 for 195 countries and territories / K. J. Foreman et al. *Lancet.* 2018. Vol. 10. P. 2052–2090.

5. International Society of Nephrology's 0 by 25 Initiative for Acute Kidney Injury (Zero Preventable Deaths by 2025): A Human Rights Case for Nephrology /

R. L. Mehta et al. *Lancet*. 2015. Vol. 385. P. 2616–2643.

6. Yuan M., Briscese K., Hong T.S., Brunetti L. Natural products for the prevention of antibiotic-associated kidney injury. *Curr Opin Toxicol*. 2022. Vol. 32. P. 100363.

7. Bencheikh N., Ouahhoud S., Cordero M. A. W. Nephroprotective and Antioxidant Effects of Flavonoid-Rich Extract of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur Aerial Part. *Appl. Sci*. 2022. Vol. 12 (18). P. 9272.

8. Edson R., Terrell C. L. The Aminoglycosides. *Mayo Clin. Proc*. 1999. Vol. 74. P. 519–528.

9. The Nephroprotective Effect of *Zizyphus lotus* L. (Desf.) Fruits in a Gentamicin-Induced Acute Kidney Injury Model in Rats: A Biochemical and Histopathological Investigation / N. Bencheikh, M. Bouhrim, L. Kharchoufa et al. *Molecules*. 2021. Vol. 26. P. 4806.

10. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: An integrative point of view / J. M. Lopez-Novoa, Y. Quiros, L. Vicente et al. *Kidney Int*. 2011. Vol. 79. P. 33–45.

11. Єрмоленко Т. І., Онашко Ю. М., Гордійчук Д. О. Побічні дії на нирки при застосуванні гентаміцину. *Сучасні проблеми клінічної фармакології з позиції доказової медицини*: науково-практична конференція з міжнародною участю, Тернопіль, 13–14 квітня 2017 року. Тернопіль, 2017. С. 27.

12. Oliveira J. F. P. Cipullo J. P., Burdmann E. A. Aminoglycoside nephrotoxicity. *Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery*. 2006. Vol. 21. Iss. 4. P. 444–452.

13. Катеренчук І. П., Ткаченко Л. А., Ярмола Т. І. Можливості сучасної фітотерапії в комплексному лікуванні й профілактиці захворювань нирок і сечовивідних шляхів у практиці сімейного лікаря. *Практикуючий лікар*. 2013. № 1. С. 67–72.

14. Товчига О. В., Ролік С. М., Штриголь С. Ю. Препарати з нефропротекторною дією: огляд фармацевтичного ринку України. *Український біофармацевтичний журнал*. 2011. № 2 (13). С. 29–36.

15. Фітотерапевтичні лікарські засоби з нефропротекторною активністю (огляд) / О. А. Подплетня, Н. В. Хомяк, К. В. Соколова та ін. *Медичні перспективи*. 2017. Т. 22, № 1. С. 10–19.

16. Laorodphun P., Rada Cherngwell, Panya A., Arjinajarn P. Curcumin protects rats against gentamicin-

induced nephrotoxicity by amelioration of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis. *Pharm Biol*. 2022. Vol. 60 (1). P. 491–500.

17. Identification of medicinal plants used for chronic kidney disease: An update of reported literature in South Africa / S. Govender, K. Singh, R. M. Coopoosamy, J. Adam. *Journal of Medicinal Plants for Economic Development*. 2023. Vol. 7 (1). P. a182.

18. Marchyshyn S., Doroshenko O., Nakonechna S., Koyro O. Original medicinal plant collection reduces nephrotoxicity of gentamicin in rats. *The Pharma Innovation Journal*. 2018. No. 7 (4). P. 145–148.

19. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants for renal injury prevention. *J Renal Inj Prev*. 2013. Vol. 2 (2). P. 63–65.

20. Promoting Plant-Based Therapies for Chronic Kidney Disease / M. Ali Khan, A. J. Kassianos, W. E. Hoy et al. *J. Evid. Based. Integr. Med*. 2022. Vol. 27. P. 2515690X221079688.

21. Дорошенко О. Г., Марчишин С. М. Фітохімічне дослідження збору діуретичного. *Медична та клінічна хімія*. 2016. Т. 18, № 3 (68). С. 50–53.

22. Commission of the European Communities: Council Directive of 18 December 1986 on the Laws, regulating the Application of Principles of Good laboratory Practice and the Verification of their Applications for Tests on Chemical Substances (87/18/EEC). The Rules Governing Medicinal Products in the European Community. 1991. No. 1. P. 145–146.

23. Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: метод. реком. / С. Ю. Штриголь, В. М. Лісовий, І. А. Зупанець та ін. Х.: НФаУ, 2009. 48 с.

24. Товчига О. В. Дослідження сечогінної, нефропротекторної, гіпоурикемічної дії яглиці звичайної (*Aegoropodium podagraria* L.) як основа для створення лікарських засобів: автореф. дис. канд. фармац. наук: 14.03.05 "Фармакологія". Харків, 2009. 21 с.

25. Горальський Л. П., Хомич В. Т., Кононський О. І. Основи гістологічної техніки і морфофункціональні методи досліджень у нормі та при патології. Житомир, 2011. 288 с.

26. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes / J. Pedraza-Chaverri et al. *Free Radic. Biol. Med*. 2000. No. 29. P. 602–611.

REFERENCES

1. Bencheikh N, Elachouri M, Subhash CM. Ethnobotanical, pharmacological, phytochemical, and clinical investigations on Moroccan medicinal plants traditionally used for the management of renal dysfunctions. *J Ethnopharmacol*. 2022;292:115178.

2. Duff R, Awofala O, Arshad MT, et al. Global health inequalities of chronic kidney disease: a meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2024;39(10):1692-1709.

3. Josa E, Barril G, Ruperto M. Potential Effects of Bioactive Compounds of Plant-Based Foods and Medicinal Plants in Chronic Kidney Disease and Dialysis: A Systematic Review. *Nutrients*. 2024;16(24):4321.

4. Foreman KJ, Marquez N, Dolgert A, et al. Forecasting life expectancy, years of life lost, and all-cause

and cause-specific mortality for 250 causes of death: Reference and alternative scenarios for 2016–2040 for 195 countries and territories. *Lancet*. 2018;10: 2052-2090.

5. Mehta RL, Cerda J, Burdmann EA, et al. International Society of Nephrology's 0 by 25 Initiative for Acute Kidney Injury (Zero Preventable Deaths by 2025): A Human Rights Case for Nephrology. *Lancet*. 2015;385:2616-2643.

6. Yuan M, Briscese K, Hong TS, Brunetti L. Natural products for the prevention of antibiotic-associated kidney injury. *Curr Opin Toxicol*. 2022; 32:100363.

7. Bencheikh N, Ouahhoud S, Cordero MAW. Nephroprotective and Antioxidant Effects of Flavonoid-Rich Extract of *Thymelaea microphylla* Coss. et Dur Aerial Part. *Appl. Sci*. 2022;12(18):9272.

8. Edson R, Terrell CL. The Aminoglycosides. Mayo Clin. Proc. 1999; 74:519-528.
9. Bencheikh N, Bouhrim M, Kharchoufa L, et al. The Nephroprotective Effect of Zizyphus lotus L. (Desf.) Fruits in a Gentamicin-Induced Acute Kidney Injury Model in Rats: A Biochemical and Histopathological Investigation. Molecules. 2021; 26:4806.
10. Lopez-Novoa JM, Quiros Y, Vicente L, et al. New insights into the mechanism of aminoglycoside nephrotoxicity: an integrative point of view. Kidney Int. 2011;79:33-45.
11. Yermolenko TI, Onashko YuM, Hordiyshuk DO. Pobichni diyi na nyrky pry zastosuvanni hentamitsynu. Suchasni problemy klinichnoyi farmakolohiyi z pozytsiyi dokazovoyi medytsyny: naukovo-praktychna konferentsiya z mizhnarodnoyu uchastyu, Ternopil, 13–14 kvitnya 2017 roku [Side effects on the kidneys when using gentamicin. Modern problems of clinical pharmacology from the perspective of evidence-based medicine: scientific and practical conference with international participation, Ternopil, April 13–14, 2017]. Ternopil. 2017; 27. Ukrainian.
12. Oliveira JFP, Cipullo JP, Burdmann EA. Aminoglycoside nephrotoxicity. Brazilian Journal of Cardiovascular Surgery. 2006;21(4):444-452.
13. Raterenchuk IP, Tkachenko LA, Yarmola TI. Mozhlyvosti suchasnoyi fitoterapiyi v kompleksnomu likuvanni y profilaktytsi zakhvoryuvan nyrok i sechovyvidnykh shlyakhiv u praktytsi simeynoho likarya [Possibilities of modern phytotherapy in the complex treatment and prevention of kidney and urinary tract diseases in the practice of a family doctor]. Praktykuyuchyy likar. 2013;1:67-72. Ukrainian.
14. Tovchyha OV, Rolik SM, Shtryhol SYu. Preparaty z nefroprotektornoyu diyeyu: ohlyad farmatsevtichnoho rynku Ukrayiny [Drugs with nephroprotective effect: a review of the pharmaceutical market of Ukraine]. Ukrayinskyy biofarmatsevtichnyy zhurnal. 2011;2(13):29-36. Ukrainian.
15. Podprietnia OA, Khomiak NV, Sokolova KV, et al. Fitoterapevtychni likarski zasoby z nefroprotektornoiu aktyvnistiu (ohliad) [Phytotherapeutic drugs with nephroprotective activity (review)]. Medychni perspektyvy. 2017; 22(1):10-19. Ukrainian.
16. Laorodphun P, Chergwelling Rada, Panya A., Arjinajarn P. Curcumin protects rats against gentamicin-induced nephrotoxicity by amelioration of oxidative stress, endoplasmic reticulum stress and apoptosis. Pharm Biol. 2022; 60(1):491-500.
17. Govender S, Singh K, Cooposamy RM, Adam J. Identification of medicinal plants used for chronic kidney disease: An update of reported literature in South Africa. Journal of Medicinal Plants for Economic Development. 2023; 7(1):a182.
18. Marchyshyn S, Doroshenko O, Nakonechna S, Koyro O. Original medicinal plant collection reduces nephrotoxicity of gentamicin in rats. The Pharma Innovation Journal. 2018; 7(4):145-148.
19. Rafieian-Kopaei M. Medicinal plants for renal injury prevention. J Renal Inj Prev. 2013; 2(2):63-65.
20. Ali Khan M, Kassianos AJ, Hoy WE. et al. Promoting Plant-Based Therapies for Chronic Kidney Disease. J. Evid. Based. Integr. Med. 2022; 27:2515690X221079688.
21. Doroshenko OH, Marchyshyn SM. Fitokhimichne doslidzhennya zboru diuretychnoho [Phytochemical study of diuretic collection]. Medical and Clinical Chemistry. 2016;18(3)(68):50-53. Ukrainian.
22. Commission of the European Communities: Council Directive of 18 December 1986 on the Laws, regulating the Application of Principles of Good laboratory Practice and the Verification of their Applications for Tests on Chemical Substances (87/18/EEC). The Rules Governing Medicinal Products in the European Community. 1991;1:145-146.
23. Shtryhol SYu, Lisovyi VM, Zupanets IA, et al. Metody eksperymentalnoho modelyuvannya urazhennya nyrok dlya farmakolohichnykh doslidzhen: metod. rekom. [Methods of experimental modeling of kidney damage for pharmacological studies: method. rec.]. Kharkiv: NPHU. 2009; 48. Ukrainian.
24. Tovchyha OV. Doslidzhennya sechohinnoyi, nefroprotektornoyi, hipourykemichnoyi diyi yahlytsi zvychnoyi (Aegopodium podagraria L.) yak osnova dlya stvorenniya likarskykh zasobiv: avtoref. dys. kand. farmats. nauk: 14.03.05 "Farmakolohiya" [Research on the diuretic, nephroprotective, hypouricemic action of common yarrow (Aegopodium podagraria L.) as a basis for the creation of medicines: author's abstract of the dissertation of the candidate of pharmaceutical sciences: 14.03.05 "Pharmacology"]. Kharkiv. 2009; 21. Ukrainian.
25. Horalskyi LP, Khomych VT, Kononskyi OI. Osnovy histolohichnoyi tekhniki i morfofunktsionalni metody doslidzhen u normi ta pry patolohiyi [Fundamentals of histological techniques and morphofunctional research methods in normal and pathological conditions]. Zhytomyr. 2011; 288. Ukrainian.
26. Pedraza-Chaverri J, et al. Garlic ameliorates gentamicin nephrotoxicity: relation to antioxidant enzymes. Free Radic. Biol. Med. 2000; 29:602-611.

**S. M. Marchyshyn¹, O. G. Doroshenko², O. P. Andriyishyn¹,
N. V. Pasiecto¹, I. P. Savchenko¹, A. I. Homitska¹**

¹*Ivan Horbachevsky Ternopil National Medical University of the Ministry of Health of Ukraine,
Ternopil, Ukraine*

²*Ivano-Frankivsk National Medical University, Ivano-Frankivsk, Ukraine*

STUDY OF THE EFFECT OF NEPHROPROTECTIVE COLLECTION ON THE KIDNEY STRUCTURE OF RATS WITH EXPERIMENTAL GENTAMICIN NEPHROPATHY

SUMMARY. Diseases of kidneys are one of the urgent problems of health protection and the cause of 1.5 % of all deaths in the world. Acute renal failure (ARF) is a dangerous complication of such diseases. Apart from high mortality, ARF is also associated with the development of chronic kidney diseases (CKD).

Drug-induced acute renal failure (ARF), especially due to the influence of antibiotics, has a special place among the reasons for the prevalence of renal diseases. Aminoglycosides have a leading place among these drugs with nephrotoxic effect, especially gentamicin. This preparation is most often used as a means of simulating nephrotoxicity in animals.

In order to prevent kidney damage and progression and chronicity of diseases, nephroprotectors are used. For this purpose, in complex treatment of renal diseases, some medicinal plants that contain a Biologically Active Substances (BAS) complex, are also used. They exhibit antioxidant, diuretic, anti-inflammatory, antibacterial, antispasmodic, membrane-stabilizing properties that improve blood circulation in the kidneys, the rate of urine filtration, etc.

The aim – to study the corrective effect of nephroprotective herbs collection on the microscopic structure of the kidneys and compare its effectiveness with the action of a reference-drug “Hofitol” under conditions of the experimental toxic damage to the kidneys by gentamicin.

Material and Methods. Nephroprotective properties of the subject herbs collection was studied on the model of acute toxic kidney damage by gentamicin. The experiments have been carried out on sexually mature female rats weighing 160–280 g in compliance with the requirements of bioethics. Rats were removed from the experiment by decapitation under light thiopental sodium anesthesia, kidneys were isolated. Pieces of organ were fixed in 10 % formalin solution, dehydrated in ethanol solutions of various concentrations and embedded in paraffin. Sections were stained with hematoxylin and eosin according to Van Gieson method.

Microscopic examination of specimens was carried out under a Granum microscope, photomicrographs were made with Granum digital video camera DCM 310. Photographs were processed on a Pentium 2,4 GHz computer using Toup View program.

Results. The obtained morphological data proved that researched nephroprotective plant collection significantly reduced the damaging effect of gentamicin: the size of the affected areas of renal parenchyma decreased, blood filling of renal corpuscles was less pronounced, nephrocytes of proximal, distal and loop of Henle tubuli and collecting ducts were significantly better preserved (their cytoplasm looked homogenous, size and number of vacuoles were significantly smaller). This observation was particularly noted in the kidneys of animals that received higher dosage of plant collection.

Conclusions. 1. Histological research showed that nephroprotective herbs collection in doses of 5ml/kg and 10 ml/kg prevented the development of gentamicin-induced nephropathy: structural changes in the convoluted tubes of cortical nephrons were reduced, while structurally intact areas of the renal cortex increased in size.

2. Cytoprotective influence of the studied collection in this model of renal pathology had a clear dose-dependent effect.

3. Nephroprotective herbs collection in a dose of 10 ml/kg for cytoprotective influence on cortical nephrons was not lower comparing to the reference-drug “Hofitol”.

KEY WORDS: gentamicin nephropathy; morphological changes; rats; kidney; nephroprotective herbs collection.

Отримано 05.04.2025

Електронна адреса для листування: marchyshyn@tdmu.edu.ua