

УДК 615.25

НЕФРОЗАЩИТНОЕ ДЕЙСТВИЕ КОМБИНАЦИИ ТАУРИНА С ЦИНКА ДИАСПАРТАТОМ ПРИ ГЕНТАМИЦИНОВОЙ НЕФРОПАТИИ У КРЫС

О.Н. Басалай, Е.Ч. Михальчук,
С.М. Зиматкин, М.И. Бушма,
О.А. Борисенок

УО «Гродненский государственный
медицинский университет» МЗ РБ, кафедра
фармакологии им. профессора
М.В. Кораблева; кафедра гистологии,
цитологии и эмбриологии, 230005, г. Гродно,
Беларусь

Комбинация таурина с цинка диаспартадом при соотношении компонентов соответственно: 1,0 г + 0,14 г – 250 мг/кг и, особенно, 1,0 г + 0,06 г – 500 мг/кг, вводимых в желудок в течение 10 дней у крыс с гентамициновой (внутрибрюшинно, 60 мг/кг/день x 10) нефропатией обладает нефрозащитным действием. Это подтверждается ослаблением повреждения проксимальных извитых канальцев корковых нефронов.

Ключевые слова: крысы, гентамициновая нефропатия, комбинация таурина с цинка диаспартадом, нефрозащитное действие.

Введение. Широкое применение высокоэффективных аминогликозидных антибиотиков в значительной степени сдерживается развитием поражения почек (у каждого 4-5 пациента) [1]. Несмотря на значительные усилия исследователей, направленные на разработку лекарственных средств профилактики и терапии аминогликозидной нефропатии, современная клиническая медицина не располагает ими.

Ранее нами показано, что комбинация таурина с цинка диаспартадом (тауцин) в значительной степени улучшает метаболизм в почках и функцию органа [2]. В настоящей исследовании предпринята попытка оценить возможное цитопротекторное действие комбинации аминокислоты таурина с органической солью цинка (цинка диаспартад) при этой патологии.

Материалы и методы исследования. Опыты проведены на 48 беспородных крысах-сам-

ках массой 150 – 200 г в соответствии с Хельсинской декларацией о гуманном обращении с животными. Гентамицин (производитель – РУП «Борисовский завод медицинских препаратов», Беларусь) вводили внутрибрюшинно в дозе 60 мг/кг/день в течение 10 дней. Комбинацию таурина с цинка диаспартадом составляли по принципу: 1 г/моль цинка диаспартата (0,348 г) с различными г/молярными соотношениями таурина: 5 (0,625 г) – тауцин-5; 10 (1,25 г) – тауцин-10; 20 (2,50 г) – тауцин-20 и 50 (6,25 г) – тауцин-50. При этом вводимое количество металла составляло от 1 до 3 суточных потребностей крыс в нем [3]. Комбинации веществ вводили в желудок в виде взвеси в слизи крахмала в дозах 500 (тауцин-50) и 250 мг/кг (другие соотношения компонентов), 1 раз в день, 10 дней. Через 24 часа после последнего введения веществ животных под-

Басалай Ольга Николаевна (Basalai Olga Nikolaevna), аспирант кафедры фармакологии им. проф. М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, basalai2012@mail.ru

Михальчук Елена Чеславовна (Mikhalchuk Elena Cheslavovna), к.б.н., доцент каф. гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, milena6519@mail.ru

Зиматкин Сергей Михайлович (Zimatkin Sergey Mikhailovich), д.б.н., профессор, зав. каф. гистологии, цитологии и эмбриологии УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, zimatkin@grsmu.by

Бушма Михаил Иванович (Bushma Mikhail Ivanovich), д.м.н., профессор кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, pharma@grsmu.by

Борисенок Ольга Александровна (Borisenok Olga Aleksandrovna), к.м.н., ст. преподаватель кафедры фармакологии им. профессора М.В. Кораблева УО ГрГМУ, 230023, г. Гродно, Беларусь, pharma@grsmu.by

Исследование выполнено в рамках Государственной научно-технической программы Республики Беларусь «Фармацевтические субстанции и лекарственные средства» (подпрограмма «Аминокислоты») по заданию «Разработать цитопротектор и корректор метаболизма эпителиальных тканей «тауцин» и освоить его производство на СП ООО «Фармлэнд» (2011 – 2019 гг.).

вергали эвтаназии и извлекали левую почку.

О характере и степени аминогликозидной нефропатии судили по данным морфологических и морфометрических исследований гистологических препаратов, окрашенных гематоксилином и эозином [4]. Морфометрические и цитофотометрические исследования проводили с использованием компьютерного анализа изображений «Bioscan NT 2.0», микроскопа (Carl Zeiss Jana) и цифровой видеокамеры (Panasonic Colour CCTV Camera WV, CP 40/G).

Количественную оценку результатов, полученных в обеих сериях, проводили методом непараметрической статистики Манна-Уитни, применяя поправку Бонферрони с использованием пакета программ «Statistica» 6.0.437.0 для Windows (StatSoft, Inc., США), лицензионный номер 31415926535897 [5].

Результаты и обсуждение. Гентамицин оказывает нефротоксическое действие, проявляющееся преимущественным поражением проксимальных извитых канальцев корковых нефронов (табл.), что согласуется с литературными данными [6].

Основные физиологические параметры (поведение, потребление корма и воды, прирост массы тела) крыс, получавших тауцин, не отличались от таковых у животных, получавших только гентамицин.

Тауцин-10 и, в меньшей степени, тауцин-5 оказывают слабовыраженное нефрозащитное действие, поэтому результаты в таблице не представлены.

Тауцин-20 обладает более выраженным нефрозащитным действием. Патологические изменения в почечных тельцах (увеличение их наружного и внутреннего диаметров) сохраняются. Количество проксимальных извитых канальцев корковых нефронов 1 и 2 типов увеличивается за счет снижения – 3, а процент канальцев, заполненных клеточным детритом, – уменьшается (на 47%). Их внутренний диаметр также снижается на 50%, в то время, как высота выстилающих эпителиоцитов – возрастает на 35% (табл.). Степень поражения почечных телец юкстамедуллярных нефронов незначительная и соответствует таковой в контроле. Проксимальные извитые канальцы этих нефронов поражены в меньшей степени (количество неповрежденных – возрастает на 12%, а поврежденных – снижается на 24%) .

Тауцин-50 обладает более выраженным нефрозащитным действием. Под его влиянием в почечных тельцах корковых нефронов редко встречаются изменения структурных компонентов сосудистых клубочков. Коли-

чество проксимальных извитых канальцев корковых нефронов 1 и 2 типов превышает значения контрольных крыс в 8,9 и 1,7 раз соответственно. Снижается процент канальцев с большей степенью повреждения (4 тип) – на 69%. Количество канальцев, заполненных детритом, уменьшается на 55%. Наружный и внутренний диаметры проксимальных извитых канальцев корковых нефронов снижаются, соответственно на 32 и 82%, а высота выстилающих их эпителиоцитов – повышается на 58% (табл.). Поражение почечных телец юкстамедуллярных нефронов сохраняется. Количество неповрежденных проксимальных извитых канальцев этих нефронов повышается на 34%, а поврежденных – снижается на 70%.

Основной мишенью цитотоксического действия гентамицина являются проксимальные извитые канальцы корковых нефронов. Пусковую роль играет снижение метаболизма фосфолипидов в лизосомах. В последующем ингибируется функция митохондрий с генерацией цитотоксичных радикалов кислорода [7]. В финальной стадии патологии отторгается щеточная каемка эпителия, выстилающего проксимальные извитые канальцы корковых нефронов (клеточный детрит). Она закупоривает нижележащие канальцы с меньшим просветом с развитием «внутриканальцевого гидронефроза». Это приводит к увеличению наружного и внутреннего диаметров канальцев и сдавлению клеток, о чем свидетельствует снижение высоты эпителиоцитов. Менее выраженное повреждение юкстамедуллярных нефронов, по-видимому, обусловлено их меньшей ролью в мочеобразовании в связи с преимущественной специализацией в секрети ренина [8].

Комбинация таурина с цинка диаспаратом (тауцин, 250 мг/кг) обладает нефрозащитными свойствами, усиливающимися по мере увеличения в ней относительного содержания таурина (тауцин-20 > тауцин-10 > тауцин-5). Тауцин-50 обладает еще более выраженным цитопротекторным действием. Что вносит вклад в усиление цитопротекции (относительное увеличение доли таурина или общей дозы компонентов с 250 до 500 мг/кг) остается не ясным.

Предполагается, что эффективность комбинации обусловлена свойствами входящих в ее состав компонентов. Таурин – антиоксидант, стабилизатор биомембран, осморегулятор [9, 10]. Цинк – кофактор супероксиддисмутазы, являющихся ферментами антиоксидантной защиты. Кроме того, он входит в состав более 200

Таблица

Степень повреждения проксимальных извитых канальцев корковых нефронов крыс с гентамициновой (внутрибрюшинно, 60 мг/кг/день – 10 доз) нефропатией и цитопротекторное действие тауцина (в желудок – 10 доз)

Проксимальные извитые канальцы корковых нефронов	Условия опыта			
	Контроль	Гентамицин	Гентамицин + тауцин-20, 250 мг/кг/день	Гентамицин + тауцин-50, 500 мг/кг/день
1 тип – без повреждения эпителия (%),	95,0 (94,0;96,0)	4,0 (3,0; 5,0) 0,004 -	9,0 (7,0; 11,0) 0,004 0,002	35,5 (28,5; 38,0) 0,001 0,008
2 тип – деструкция только апи-кальных отделов эпителия (%)	5,0 (4,0; 6,0)	18,0 (17,0; 19,0) 0,004 -	28,0 (18,0; 38,0) 0,004 0,08	30,0 (29,5; 37,5) 0,001 0,0008
3 тип – деструкция более ½ высоты эпителия (%)	0,0 (0)	28,5 (24,0; 31,0) 0,003 -	24,0 (20,0; 32,0) 0,003 0,5	19,0 (14,0; 23,5) 0,007 0,02
4 тип – полное разрушение эпителия с сохранением базальной мембраны (%)	0,0 (0)	49,5 (45,0; 53,0) 0,003 -	39,0 (30,0; 42,0) 0,003 0,01	15,5 (9,5; 19,5) 0,007 0,008
Заполненные детритом (%)	0,0 (0)	40,0 (38,0; 43,0) 0,0002 -	21,0 (18,0; 28,0) 0,0002 0,0002	18,0 (13,0; 25,0) 0,0001 0,0002
Наружный диаметр (мкм)	27,48 (21,9; 30,7)	39,3 (30,4; 49,8) 0,009 -	32,3 (30,5; 38,6) <u>0,05</u> 0,06	30,62 (23,2; 41,4) <u>0,016</u> 0,009
Внутренний диаметр (мкм)	1,67 (0,1; 6,3)	23,0 (14,3; 32,6) 0,0001 -	11,4 (6,5; 22,3) 0,0001 0,0007	4,2 (0,2; 20,4) <u>0,2</u> 0,0005
Высота эпителиоцитов (мкм)	11,9 (10,3; 14,1)	8,1 (6,6; 9,4) 0,0002 -	10,9 (8,2; 12,3) <u>0,3</u> 0,0008	12,8 (10,5; 15,5) <u>0,3</u> 0,002

Примечания. Первая строка цифр – значения Me. Вторая (в скобках) – 25% и 75% квартилей. Третья и четвертая строки – значения p: третья – в сравнении с контрольными, четвертая – с получавшими гентамицин крысами. Полу жирным шрифтом выделены статистически значимые величины p (с учетом поправки Бонферрони).

ферментов, контролирующих ключевые стадии внутриклеточного метаболизма. Это обеспечивает рост, деление клеток и регенерацию тканей [11]. Преимуществом органической соли цинка над неорганической являются его большая биодоступность и фиксация в тканях.

Заключение. Комбинация таурина с цинка диаспаратом (таурин-50, 500 мг/кг > таурин-20 > таурин-10 > таурин-5, все по 250 мг/кг) в значительной степени ослабляет повреждение проксимальных извитых канальцев корковых нефронов, вызываемых гентамицином.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Стречунский Л.С. Современная антимикробная химиотерапия. Руководство для врачей. Москва: Боргес; 2002.
2. Басалай О.Н., Михальчук Е.Ч., Зиматкин С.М., Бушма М.И. Коррекция комбинацией таурина с цинка диаспаратом нарушение метаболизма в почках и функции органа у крыс с гентамициновой нефропатией. Токсикологический вестник. 2014; 127 (4): 25-29.
3. W. Maret. Molecular aspects of human

- cellular zinc homeostasis: redox control of zinc potentials and zinc signals. *Biomaterials*. 2009; 22: 149-157.
4. Можейко Л.А. Классические методы окраски в гистологии. Гродно: ГрГМУ; 2010.
5. Реброва О.Ю. Статистический анализ медицинских данных. Применение пакета прикладных программ STATISTICA. Москва: МедиаСфера; 2002.
6. Beauchamp D. et al. Attenuation of gentamicin induced nephrotoxicity in

- rats by fleroxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 1237-1245.
7. Houghton D.C. et al. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.* 1976; 82: 589-12.
8. Быков В. Л. Частная гистология человека (краткий обзорный курс), 2-е изд. СПб: СТИС; 1997.
9. Шейбак В.М., Шейбак Л.Н. Биологическая роль таурина в организме млекопитающих. *Медицинские новости*.

- 2005; 10: 65-15.
10. Шейбак В. М., Шейбак Л. Н. Биосинтез и обмен таурина. Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2005; 1: 9-12.
11. Шейбак В. М., Шейбак Л. Н. Биологическая роль цинка и перспективы медицинского применения цинк-содержащих препаратов. Гродно: ГрГМУ; 2003.

REFERENCES:

1. Strachunskiy L.S. Modern antimicrobial chemotherapy. Moskva: Borges; 2002 (in Russian).
2. Basalay O.N., Mikhal'chuk E.Ch., Zimatkin S.M., Bushma M.I. Correction combination of taurine and zinc diaspартатом metabolic disorder in the kidney and organ function in rats with gentamicin nephropathy. *Toxicological vestnik*. 2014; 127 (4): 25-29 (in Russian).
3. W. Maret. Molecular aspects of

- human cellular zinc homeostasis: redox control of zinc potentials and zinc signals. *Biomaterials*. 2009; 22: 149-157.
4. Mozheyko L.A. Classical staining methods in histology. Grodno: GrGMU; 2010 (in Russian).
5. Rebrova O.Yu. Statistical analysis of medical data. Application software package STATISTICA. Moskva: MediaSfera; 2002 (in Russian).
6. Beauchamp D. et al. Attenuation of

- gentamicin induced nephrotoxicity in rats by fleroxacin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1997; 41: 1237-1245.
7. Houghton D.C. et al. A light and electron microscopic analysis of gentamicin nephrotoxicity in rats. *Am. J. Pathol.* 1976; 82: 589-12.
8. Bykov V. L. Private Histology (brief survey course), 2nd ed. SPb: SOTIS; 1997 (in Russian).
9. Sheybak V.M., Sheybak L.N. The biological role of taurine in mammals.

- Meditsinskie novosti*. 2005; 10: 65-15 (in Russian).
10. Sheybak V. M., Sheybak L. N. Biosynthesis and exchange of taurine. *Zhurnal Grodenskogo gosudarstvennogo meditsinskogo universiteta*. 2005; 1: 9-12 (in Russian).
11. Sheybak V. M., Sheybak L. N. The biological role of zinc and zinc prospects for medical use-containing preparations. Grodno: GrGMU; 2003 (in Russian).

O.N. Basalai, E.Ch. Mikhalchuk, S.M. Zimatkin, M. I. Bushma, O. A. Borisenok

NEPHROPROTECTIVE ACTION OF COMBINATION OF TAURINE WITH ZINC DIASPARTATE IN RATS WITH GENTAMICIN NEPHROPATHY

Education establishment «Grodno State Medical University» of Ministry of health of Republic of Belarus: M.V. Korablev department of pharmacology of professor; department of histology, cytology and embryology, 230005, Grodno, Belarus

In rats with gentamicin nephropathy (gentamicin injected intra-abdominally, 60 mg/kg daily over 10 days), a combination of taurine with zinc diaspартат administered in the stomach in the ratio of 1.0 g + 0.14g -250 mg/kg and particularly of 1.0+0.06 g - 500 mg/kg) has a nephroprotective effect that is proved by weakened lesions of cortical nephrons proximal convoluted tubules.

Keywords: rats, gentamicin nephropathy, combination of taurine with zinc diaspартат, nephroprotective action

Материал поступил в редакцию 14.04.2015 г.