

## ВЛИЯНИЕ «НЕФРОФИТА» НА АКТИВНОСТЬ ФЕРМЕНТОВ ЭНДОГЕННОЙ АНТИОКСИДАНТНОЙ ЗАЩИТЫ ПРИ ИШЕМИИ / РЕПЕРФУЗИИ ПОЧЕК

Федорова А.В.

*Институт общей и экспериментальной биологии СО РАН, г. Улан-Удэ, Россия (670047, Улан-Удэ, ул. Сахьяновой, 6), e-mail: [afd@lenta.ru](mailto:afd@lenta.ru).*

Изменение активности каталазы (Кат) в сыворотке крови, супероксиддисмутаза (СОД), глутатионредуктаза (ГР) в эритроцитах крови изучено на модели двусторонней ишемии почки. Показано влияние «Нефрофита» на активность указанных ферментов у лабораторных животных. Выявлено выраженное положительное влияние комплексного растительного средства «Нефрофит» на активность Кат, СОД, ГР при экспериментальной нефропатии. Свойства лекарственного средства, позволяющие ему принять участие в контроле активности продуктов перекисного окисления липидов, оценивались в сравнении с препаратом «Цитофлавин», созданным на основании непосредственно митохондриальных субстратов. Полученные в ходе эксперимента результаты позволяют утверждать, что действие обоих препаратов однонаправлено и в сочетании с комплексом ранее установленных при исследованиях характеристик «Нефрофита» являются достаточным основанием для рекомендации его более широкого применения в терапии заболеваний мочевыделительной системы.

Ключевые слова: антиоксидантная система, каталаза, супероксиддисмутаза, глутатионредуктаза, «Нефрофит», двусторонняя ишемия почек.

## EFFECT OF “NEPHROPHYT” ON THE ACTIVITY OF ENZYME OF ENDOGENOUS ANTIOXIDANT PROTECTION IN ISCHEMIA/REPERFUSION OF KIDNEY

Fedorova A.V.

*Institute of General and Experimental Biology SB RAS, Ulan-Ude, Russia (670047, Ulan-Ude, 6 Sakhyanova-str.), e-mail: [afd@lenta.ru](mailto:afd@lenta.ru).*

The changes of the catalase (Cat) activity in the blood serum and the activity of super oxide dismutase (SOD) and glutathione reductase (GR) in blood erythrocytes have been studied in the model of kidney bilateral ischemia. The influence of “Nephrophyt” on the activity of these enzymes in laboratory animals has been shown. The complex plant remedy “Nephrophyt” has demonstrated the marked positive effect on the activity of Cat, SOD, GR in experimental nephropathy. The properties of the medicinal remedy enabling to take part in the control over the activity of lipid peroxidation products were estimated in comparison with “Cytoflavin”, the preparation created on the base of mitochondrial substrata. The findings of the experiments allow us to consider that the effect of both preparations is unidirectional and the complex of the “Nephrophyt” properties, which have been revealed in previous studies, is a sufficient basis to recommend it for wide use in the therapy of the urine system diseases.

Keywords: antioxidant system, catalase, super oxide dismutase, glutathione reductase, “Nephrophyt”, kidney bilateral ischemia.

### Введение

Актуальность рассматриваемой темы определяется высокой распространённостью заболеваний органов мочевыводящей системы, как взрослого, так и детского населения. Статистические данные Министерства здравоохранения РФ и Госкомстата РФ по заболеваниям органов мочевыделительной системы выявляют постоянный рост заболеваемости: в 1995г. в России на 100 тысяч взрослого населения приходилось 5351.7 больных с заболеваниями мочевыводящей системы, в 2000 г. таких больных – 8794.5, а в 2006 г. – уже 10444.3. Заболеваемость нефро- и уропатиями у детей до 14 лет за последние 10 лет возросла в 1.6 раз, а у подростков – 2 раза.

Большинство используемых в современной фармакотерапии лекарств имеют синтетическую природу и относятся к ксенобиотикам, у которых эффективность ограничена побочными эффектами. Значительные ресурсы организма отвлекаются и для биотрансформации и элиминации синтетических препаратов, а также нередко происходит нарушение работы систем энергопродукции клеток, что может являться причиной осложнений лечения и торможения саногенеза [4]. Лекарственные препараты искусственной природы при бесспорном фармакотерапевтическом влиянии оказывают токсическое действие на организм, в то время как использование растительных средств, являющихся мало- или нетоксичными, в дополнение к базисной терапии с учётом стадии и тяжести процесса при любой патологии помогает решить вышеуказанную проблему за счёт мультифакторного фармакотерапевтического влияния без риска развития нежелательных побочных эффектов.

При широком распространении заболеваний почек на территории России разрешено к применению не более 10 наименований растительных средств комплексного нефропротекторного действия. Вышесказанное определяет актуальность поиска новых средств растительного происхождения, обладающих нефропротекторным действием, не оказывающих токсического влияния на организм, и представляют интерес для исследования и внедрения в клиническую практику [8, 9].

Контролируя количество продуктов перекисного окисления липидов (ПОЛ), генерацию активных форм кислорода, фармакологическое средство оказывает серьёзное влияние на важное звено патогенеза. В данной статье рассматривается влияние комплексного растительного средства «Нефрофит» на активность ферментов каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы, играющих главную роль в нейтрализации активных кислородных радикалов.

Каталаза широко распространена в тканях животных, в том числе человека, катализирует реакцию разложения перекиси водорода на воду и молекулярный кислород. Биологическая роль каталазы заключается в деградации перекиси водорода, образующейся в клетках в результате действия флавопротеиновых оксидаз, и обеспечении эффективной защиты клеточных структур от разрушения под действием перекиси водорода [9].

Супероксиддисмутаза – фермент, индуцируемый в зависимости от активности ПОЛ, мощный ингибитор свободнорадикального окисления в организме, защищающий биополимеры от окислительной деструкции, превращает супероксид – анион кислорода в менее реакционноспособный и более гидрофобный пероксид водорода, разрушаемый каталазой. Важным аспектом является действие рассматриваемых ферментов именно в комплексе – пероксид водорода, не будучи преобразован каталазой в молекулярный кислород и воду, повреждает молекулы самой СОД [1].

Основная роль глутатионредуктазы – восстанавливать дисульфидную связь окисленного глутатиона, увеличивая содержание редуцированной формы этого соединения в клетках [2]. Но кроме этого ГР, обладая высокой специфичностью к глутатиону, может, хотя и с низкой скоростью, катализировать восстановление ряда других соединений, содержащих дисульфидную связь, проявляя трансгидрогеназную, электронтрансферазную и диафоразную активность.

Представляет интерес оценка изменения активности нескольких ферментов в рамках одного эксперимента ввиду известной взаимосвязанности их действия. Антиоксидантная система организма человека многокомпонентна, имеет определённые параметры, связанные с каждым комплексом органов, и поэтому её изучение более информативно при рассмотрении нескольких составляющих механизма действия системы.

Результаты эксперимента при исследовании активности данных ферментов позволяют оценить эффективность «Нефрофита» как препарата, обладающего антиоксидантным действием в условиях ишемии почки.

### **Цель исследования**

Оценить влияние комплексного растительного средства «Нефрофит» при экспериментальной патологии почек (ишемия/реперфузия) на активность ферментов системы антиоксидантной защиты крови: каталазы, супероксиддисмутазы, глутатионредуктазы.

### **Материалы и методы исследования**

Объект исследования: растительное средство «Нефрофит» (условное название), представляющее собой 4<sup>x</sup>-компонентный сухой экстракт, полученный из сырья ортосифона тычиночного (*Orthosiphonstamineus* Benth.), горца птичьего (*Polygonum aviculare* L.), толокнянки обыкновенной (*Arctostaphylosuva – ursi* L.) и десмодиума канадского (*Desmodium canadense* (L.) D.S.), взятых в соотношении 4.0 : 3.5 : 2.0 : 0.5 масс. частей.

Эксперимент выполнен на 30 белых крысах линии Wistar обоего пола, масса 180 – 200 г. Условия содержания в виварии Института общей и экспериментальной биологии СО РАН, рацион стандартные (Приказ МЗ СССР № 1179 от 10.10.83 г.). Эксперименты проводили в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных» (Приложение к приказу МЗ СССР № 755 от 12.08.77 г.) и «Правилами Европейской конвенции по защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях» (Страсбург, 1986 г.). Эвтаназию животных осуществляли методом мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом.

Двустороннюю ишемию почек воспроизводили путём выделения почек крыс из жировой капсулы и окклюзии сосудистых пучков обеих почек на 60 мин. [10], время реперфузии – 45 мин.

Крысы 1<sup>ой</sup> опытной группы получали превентивно водный раствор «Нефрофита» в дозе 150 мг/кг, внутривентрикулярно, ежедневно в течение 6 дней до ишемии/реперфузии почек. В качестве препарата сравнения крысам 2<sup>ой</sup> опытной группы вводили водный раствор «Цитофлавина» в дозе 100 мг/кг по аналогичной схеме. Крысы контрольной группы получали воду дистиллированную в эквивалентном количестве. Активность каталазы определяли в сыворотке крови [6], активность супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы определяли в эритроцитах [5].

### Результаты

В ходе проведённых исследований получены следующие данные: в условиях экспериментальной ишемии почек нарушается деятельность эндогенной антиоксидантной системы; активность ферментов менялась следующим образом – у животных контрольной группы активность каталазы снизилась на 32.54%, СОД – на 39.96%, ГР – на 61.05% по отношению к результатам интактной группы.

Результаты, полученные в опытных группах лабораторных животных, свидетельствуют о том, что приём «Нефрофита» и «Цитофлавина» способствовали повышению мощности внутриклеточных механизмов защиты. В 1<sup>ой</sup> опытной группе животных активность каталазы выше на 41.82 %, СОД – на 18.39 %, ГР – на 19.83 % по отношению к результатам, полученным в контрольной группе крыс. Во 2<sup>ой</sup> опытной группе животных активность каталазы выше на 58.18 %, СОД – на 32.29 %, ГР – на 23.71 % по отношению к результатам, полученным в контрольной группе крыс.

Полученные результаты отображены в таблице № 1.

Таблица № 1. Влияние «Нефрофита» на активность каталазы, СОД, ГР в условиях экспериментальной ишемии.

Показатели	Группы животных			
	Интактная	Контрольная	Опытная 1	Опытная 2
1	2	3	4	5
Каталаза, мкат/л (ЕД активности)	1.69±0.05	0.55±0.04	0.78±0.05	0.87±0.05
СОД, ЕД/мл эритроцитов	5.58±0.06	2.23±0.05	2.64±0.05	2.95±0.06
ГР, μМоль/мл эритроцитов	183.28±0.05	111.90±0.05	134.09±0.05	138.43±0.05

### Заключение

Любое патогенное воздействие приводит к формированию метаболического ответа, в основе которого, как правило, лежит включение типовых механизмов нарушения клеточного гомеостаза [3]. Повреждающее действие гипоксии реализуется за счёт совокупности факторов, обеспечивающих активацию ПОЛ, снижение мощности антиоксидантной системы, нарушение тканевого дыхания и, как следствие, дефицит АТФ [7]. При адаптации к патологическому процессу или внешнему экстремальному воздействию осуществляется структурно-функциональная реорганизация элементов крови. Сыворотка и эритроциты крови, находящиеся в контакте со всеми тканями и органами, гибко изменяют свой обмен, и своей качественной и количественной перестройкой информативно отражают метаболические изменения, происходящие в ответ на то или иное воздействие, и могут служить показателем состояния гомеостаза. Данный факт важен как при разработке лекарственных средств, так и для диагностики патологий, оценки динамики состояния органов и систем в процессе лечения.

В условиях ишемии/реперфузии у животных контрольной группы активность компонентов антиоксидантной системы крови снижалась намного больше, чем у животных, получавших объект исследования и препарат сравнения. Этот факт позволяет утверждать, что лекарственные средства «Нефрофит» и «Цитофлавин» оказывают однонаправленное выраженное действие на содержание в сыворотке крови и эритроцитах ферментов, способствующих улучшению метаболического состояния клетки при патологических состояниях, характеризующихся усиленной генерацией активных форм кислорода. Контроль содержания количества продуктов перекисного окисления липидов с помощью лекарственных средств растительного происхождения даёт дополнительные возможности воздействия на течение заболевания посредством применения менее токсичных препаратов. Проведение подобного рода исследований средств терапии заболеваний почек имеют значение для выяснения механизмов патологических и адаптивных изменений, что в дальнейшем позволяет обоснованно рекомендовать их для более широкого применения в клинической практике.

### **Список литературы**

1. Берёзов Т.Т. Биологическая химия / Т.Т. Берёзов, Б.Ф. Коровкин. – М.: Медицина, 1998. – 134 с.
2. Герасимов А.М. Окисление и НАДФ-Н-зависимое восстановление внутримитохондриального глутатиона / А.М. Герасимов, А.Б. Капитанов, Л.Ф. Панченко // Доклады АН СССР. – М., 1973. – Т.212. - №5. – С. 1231-1234.

3. Дизрегуляторная патология системы крови / Под ред. Е.Д. Гольдберга, Г.Н.Крыжановского. – М., 2009. – 232-234 с.
4. Мазина Н.К. Системный подход к обоснованию применения регуляторов энергетического обмена в схемах фармакотерапии и оздоровления: дис.док.мед.наук. – Томск, 2007. – С. 10 – 13.
5. Макаренко Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионредуктазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени / Е.В. Макаренко // Лабораторное дело. – 1988. - №11. – С. 48-50.
6. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, Н.О. Майорова, В.Е. Токарев// Лабораторное дело. – 1988. - №1. – С.16-19.
7. Микашинович З.И. Анализ биохимических изменений в эритроцитах крыс при длительном приеме симвастина / З.И. Микашинович, Е.С. Белоусова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2013. – Т. 155. - №5. – С. 576-579.
8. Мондодоев А.Г. Экспериментальная фармакотерапия повреждений почек растительными лекарственными средствами: дис.док.мед.наук. – Улан-Удэ, 2009. – С. 3-10.
9. Справочник Видаль. Лекарственные препараты в России: Справочник – М.: АстраФармСервис, 2007. – С. Г-1309.
10. Функционально-биохимические изменения и их фармакологическая коррекция пиррокеаном при ишемии почек / В.И. Шепотиновский, Г.А. Микашинович, Г.А. Шапиро и др. // Патол. физиол. и exper. Терапия. – 1989. – С. 24-27.

**Рецензенты:**

Мондодоев А.Г., д.м.н., заведующий лабораторией экспериментальной фармакологии ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, г. Улан-Удэ.

Ажунова Т.А., д.б.н., профессор, в.н.с. лаборатории безопасности биологически активных веществ ФГБУН «Институт общей и экспериментальной биологии» СО РАН, г. Улан-Удэ.