

© А.И.Гоженко, М.В.Трусова, 2007
УДК 616.61-008.64-036.92-02:615.872.4]:615.272-092.4

А.И. Гоженко, М.В. Трусова

ВЛИЯНИЕ ГЛЮТАРГИНА И АРГИНИНА НА ТЕЧЕНИЕ ИНДУЦИРОВАННОЙ ИФОСФАМИДОМ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС

A.I. Gozhenko, M.V. Trusova

EFFECTS OF GLUTARGINE AND ARGININE ON THE COURSE OF IFOSFAMIDE INDUCED EXPERIMENTAL RENAL FAILURE IN WHITE RATS

Лаборатория экспериментальной и клинической патологии Научно-исследовательского института медицины транспорта, г. Одесса, Украина

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Экспериментальное исследование нефропротекторного эффекта аргинина и глютаргина у крыс, получавших цитостатик ифосфамид. **МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ.** Нефротоксическое влияние ифосфамида изучали на белых крысах в условиях 5% водного диуреза через 7 суток после ежедневного в/б введения цитостатика в количестве 5 мг/100 г м.т. Защитное действие аргинина или глютаргина исследовали в условиях водного диуреза после 7-суточного комбинированного введения ифосфамида и одного из препаратов. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** Установлено, что введение ифосфамида белым крысам в течение 7 суток вызывает умеренное снижение скорости клубочковой фильтрации и значений стандартизированной на 1 мл клубочкового фильтрата экскреции осмотически активных веществ и белка. В свою очередь, комбинированное с ифосфамидом введение животным глютаргина или аргинина способствует восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации и нормализации почечного транспорта осмотически активных веществ и протеинов. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** Нефротоксическое действие ифосфамида реализуется на канальцевом и клубочковом уровне, а глютаргин и аргинин снижают степень повреждения почек.

Ключевые слова: ифосфамид, нефротоксичность, нефропротекция, аргинин, глютаргин.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to study in experiments the nephroprotective effect of arginine and glutargine in rats receiving cytostatic ifosfamide. **MATERIALS AND METHODS.** The nephrotoxic effects of ifosfamide were studied in white rats under conditions of 5% water diuresis in 7 days after daily administration of the cytostatic (5 mg/100 g b.m). Protective effects of arginine or glutargine were studied under conditions of water diuresis after the 7-day combined administration of ifosfamide and one of the substances. **RESULTS.** It was found that administration of ifosfamide to white rats during 7 days caused a moderate decrease of glomerular filtration rate and the values of standardized per 1 ml of the glomerular filtrate of excretion of osmotically active substances and proteins. In its turn, a combined administration to the animals of glutargine and arginine contributes to re-establishment of the glomerular filtration rate and normalization of transport of osmotically active substances and proteins. **CONCLUSION.** The nephrotoxic effects of glutargine and arginine are realized at the channel and glomerule level, and glutargine and arginine decrease the degree of kidney lesion.

Key words: ifosfamide, nephrotoxicity, nephroprotection, glutargine, arginine.

ВВЕДЕНИЕ

По данным литературы, хроническое введение пациентам противоопухолевого препарата ифосфамида вызывает отчетливый нефротоксический эффект, проявляющийся наряду с поражением канальцевого отдела нефрона [1] в патологических изменениях кровеносных сосудов почки [2] и склерозировании клубочков [3]. Поскольку полная отмена или замена препарата в большинстве клинических случаев невозможна, предпринимаются попытки минимизировать его нефротоксическое действие [4,5]. Возможно, нарушение путей биотрансформации и метаболического клиренса ифос-

фамида, а также его высокотоксичных промежуточных метаболитов ферментными комплексами гепатоцитов вносит определенный вклад в усиление ренотропного влияния препарата [6]. Вместе с тем, в отечественной литературе предлагается к использованию аминокислота аргинин, способствующая нормализации деятельности почек в условиях ренальных дисфункций токсического генеза [7], а также фармакологический препарат глютаргин, повышающий устойчивость гепатоцитов к токсическим воздействиям различным ксенобиотиков, обладающий способностью к восстановлению внутриорганного кровотока [8]. Таким образом,

Таблица 1

Влияние аргинина и глутаргина на функциональное состояние почек белых крыс, получавших ифосфамид в течение 7 суток ($\bar{X} \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль n=10	Ифосфамид гр.1, n=10	Ифосфамид +глутаргин гр.2, n=10	Ифосфамид +аргинин гр.3, n=10
Диурез, мл/ч/100 г м.т.	1,8±0,2	2,3±0,2	2,3±0,2	2,1±0,2
Креатинин мочи, мкмоль/л	1807±92 p<0,01	971±70	1184±46 p<0,05	1257±51 p<0,01
Экскреция креатинина, мкмоль/ч/100 г м.т.	2,8±0,3 p<0,01	2,1±0,2	2,3±0,2	2,7±0,2 p<0,05
Белок мочи, мг/л	27±4	32±2	34±4	37±3
Экскреция белка, мг/ч/100 г м.т.	0,047±0,003	0,067±0,002	0,069±0,005	0,076±0,004
Осмоляльность мочи, мосм/кг H ₂ O	98±7	105±3	107±8	110±9
Экскреция осмотически активных веществ, мосм/ч/100 г м.т.	0,16±0,01	0,23±0,02	0,23±0,02	0,23±0,02

n – число наблюдений; p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой животных, получавших только ифосфамид.

целью данной работы было исследование нефропротекторного эффекта аргинина и глутаргина в условиях индуцированного цитостатиком ифосфамидом токсического поражения почек у белых крыс.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В эксперимент отбирали беспородных белых крыс-самцов с массой тела 100-120 г. Животных произвольным образом распределяли на 4 группы и содержали на стандартном рационе в течение всего эксперимента. Крысам 1-й группы (n=10) на протяжении 7 суток внутрибрюшинно вводили водный раствор ифосфамида (производства фирмы ASTA Medica AG, Германия) по 5 мг на 100 г м.т. Животным 2-й группы (n=10) ифосфамид вводили по выше указанной схеме, кроме того, через 5 часов после каждого введения ифосфамида крысам внутрибрюшинно вводили глутаргин (производства ФК «Здоров'я», Украина) по 4 мг на 100 г м.т. Животным 3 группы (n=10), на фоне назначения ифосфамида, вводили внутривенно водный раствор препарата L-аргинина гидрохлорида (производство Луганского ХФЗ, Украина) из расчета 2 мг на 100 г массы тела. Крысам контрольной группы (n=10) ежедневно вводили воду, не содержащую ифосфамида. Функциональное состояние почек животных исследовали по данным индуцированного водного диуреза в соответствии с описанной в литературе методикой [9]. С этой целью животным внутривенно металлическим зондом вводили отстоявшуюся водопроводную воду в объеме 5 % от массы тела и помещали для сбора мочи на 2 часа в обменные клетки. Из эксперимента животных выводили путем декапитации под легкой эфирной анестезией. Собранный кровь стабилизировали гепарином, центрифугировали 15 мин при 3000 об/мин., а полученную плазму крови отбирали для дальнейших исследований. В полученных образцах мочи и плазмы крови определяли концентрацию креатини-

на фотометрическим методом в реакции с пикриновой кислотой [10] на спектрофотометре СФ-46 (Россия), осмоляльность – криоскопическим методом на осмометре 3D3 (США). Концентрацию белка в моче определяли фотометрически в реакции с сульфосалициловой кислотой [11]. Расчетные параметры деятельности почек вычисляли в соответствии с описанными в литературе формулами [9]. Показатели экскреции почками исследуемых веществ представлены в расчете на 100 г м.т. животных. Статистический анализ полученных данных проводили с использованием критерия Стьюдента по общепринятой методике.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Согласно представленным в табл. 1 результатам исследований функции почек, введение животным только ифосфамида в течение 7 суток (1-я группа) вызывает умеренные изменения исследуемых показателей: понижение концентрации креатинина в моче в 2 раза и его экскреции на 25%. В свою очередь, комбинированное с ифосфамидом назначение глутаргина (2-я группа) или L-аргинина (3-я группа) способствует нормализации данных параметров в сравнении с 1-й группой. Отметим, что ни в одной из групп животных, получавших цитостатик не найдено статистически значимого повышения концентрации белка в моче, а также усиления экскреции почками белка или осмотически активных веществ.

Вместе с тем, использование клиренс-методов (табл. 2) позволяет установить достоверное уменьшение значений клиренса креатинина – маркера скорости клубочковой фильтрации в группе животных, получавших только ифосфамид. Наряду с этим, в ходе изучения деятельности почек животных в группах 2 и 3 установлено, что введение соответственно глутаргина и аргинина предотвращают падение уровня клиренса креатинина, вызван-

Таблица 2

Данные клиренс-метода о влиянии аргинина и глютаргина на деятельность почек белых крыс, получавших ифосфамид в течение 7 суток ($\bar{M} \pm m$)

Исследуемые показатели	Контроль n=10	Ифосфамид гр.1, n=10	Ифосфамид+глютаргин гр.2, n=10	Ифосфамид+аргинин гр.3, n=10
Клиренс креатинина, мкл/мин Стандартизированная на 1 мл клубочкового фильтрата экскреция осмотически активных веществ, мосм/мл Стандартизированная на 1 мл клубочкового фильтрата экскреция белка, мг/мл	578±29p<0,01 (5,0±0,3)×10 ⁻³ p<0,01 (1,4±0,1)×10 ⁻³ p<0,01	438±42 (8,1±0,5)×10 ⁻³ (2,6±0,2)×10 ⁻³	640±48p<0,01 (5,8±0,3)×10 ⁻³ p<0,01 (1,6±0,2)×10 ⁻³ p<0,01	690±34p<0,01 (6,1±0,4)×10 ⁻³ p<0,01 (1,9±0,2)×10 ⁻³ p<0,05

n – число наблюдений; p – показатель достоверности отличий в сравнении с группой животных, получавших только ифосфамид.

ное ифосфамидом. Кроме того, в 1-й группе найден отчетливый прирост значений стандартизированной экскреции белка и осмотически активных веществ (ОАВ). Однако комбинированное с глютаргином и аргинином введение ифосфамида снижает темпы почечных потерь протеинов и ОАВ.

ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно опубликованным в литературе данным, доза однократно вводимого крысам ифосфамида, составляет от 5 до 32 мг на 100 г массы тела в экспериментах по изучению кинетики препарата [12]. Кроме того, продолжительное введение цитостатика в количестве 5 мг на 100 г массы тела используется с целью моделирования индуцированной ифосфамидом почечной недостаточности [5]. При этом ежедневное назначение крысам ифосфамида в дозе по 5 мг/100 г м.т. в течение 5 суток сопровождается повреждением эпителия проксимального сегмента нефрона, снижением клиренса креатинина и более высокими темпами выделения почками натрия и фосфатов в условиях спонтанного диуреза [5]. Авторы указывают, что понижение скорости клубочковой фильтрации в данной серии экспериментов не является необратимым, что может свидетельствовать об адаптивном характере угнетения процессов фильтрации в ответ на ослабление эффективности проксимальной реабсорбции натрия и воды [13].

Результаты наших исследований демонстрируют, что назначение животным только ифосфамида в течение 7 суток по 5 мг на 100 г м.т. сопровождается умеренными изменениями параметров функционального состояния почек в условиях водной нагрузки: снижением скорости клубочковой фильтрации и повышением стандартизированных на 1 мл клубочкового фильтрата показателей экскреции почками белка и ОАВ. С другой стороны, введение глютаргина или аргинина в сочетании с ифосфамидом оказывает благоприятное воздействие на деятельность почек как на сосудисто-клубочко-

вом, так и на канальцевом уровнях. Подтверждением такого вывода является положительная динамика значений клиренса креатинина и стандартизированных параметров экскреции белка и ОАВ у животных 2-й и 3-й групп. По нашему мнению, такой позитивный ренотропный эффект исследуемых препаратов заслуживает внимания. Поскольку, согласно данным литературы, восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации под влиянием гипернатриевой диеты у крыс в острый и подострый периоды токсического повреждения проксимального сегмента нефрона, как правило, сопутствует увеличение почечных потерь физиологически важных веществ: белков, неорганических фосфатов, воды [13]. В то же время, повышенная активность внутрипочечных гуморальных систем, обуславливающих устойчивое снижение клиренса креатинина, не только ухудшает экскреторную функцию почек, что актуально в условиях длительного курса цитостатика, но и создает предпосылки для неблагоприятного прогноза течения ренальных дисфункций [14]. Действительно, данные литературы подтверждают, что назначение аргинина крысам с экспериментальной патологией почек токсического генеза способствует восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации, канальцевого транспорта веществ, а также уменьшению почечных потерь осмотически активных веществ и нормализации почечного кровотока [15]. Экспериментально подтверждено, что обогащенная аргинином диета снижает риск хронизации почечной недостаточности вследствие угнетения активности ренин-анготензиновой системы [16]. К сожалению, ренопротекторное действие глютаргина изучено недостаточно. Возможно, наличие в составе препарата молекулы аргинина играет определенную роль в реализации исследованного в данной работе фармакологического эффекта. В то же время нельзя исключить, что его способность усиливать резистентность органов и функциональных систем к воздействию

токсических факторов [8] имеет важное значение в снижении нефротропного эффекта ифосфамида.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Введение ифосфамида белым крысам в течение 7 суток вызывает умеренное снижение скорости клубочковой фильтрации и значений стандартизированной на 1 мл клубочкового фильтрата экскреции осмотически активных веществ и белка.

2. Комбинированное с ифосфамидом введение животным глутаргина или аргинина способствует восстановлению величины скорости клубочковой фильтрации и нормализации почечного транспорта осмотически активных веществ и протеинов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Rossi R, Godde A, Kleinebrand A et al. Concentrating capacity in ifosfamide-induced severe renal dysfunction. *Ren Fail* 1995; 17(5): 551-557
2. Berns JS, Haghighat A, Staddon A et al. Severe, irreversible renal failure after ifosfamide treatment. A clinicopathologic report of two patients. *Cancer* 1995; 76 (3): 497-500
3. Prasad VK, Lewis IJ, Aparicio SR et al. Progressive glomerular toxicity of ifosfamide in children. *Med Pediatr Oncol* 1996; 27(3): 149-155
4. Bokemeyer C, Fels LM, Dunn T et al. Silibinin protects against cisplatin-induced nephrotoxicity without compromising cisplatin or ifosfamide anti-tumour activity. *Br J Cancer* 1996; 74(12): 2036-2041
5. Nissim I, Weinberg JM. Glycine attenuates Fanconi syndrome induced by maleate or ifosfamide in rats. *Kidney Int* 1996; 49(3): 684-695
6. Foxall PJ, Lenz EM, Lindon JC et al. Nuclear magnetic resonance and high-performance liquid chromatography-nuclear magnetic resonance studies on the toxicity and metabolism of ifosfamide. *Ther Drug Monit* 1996; 18(4): 498-505
7. Возіанов ОФ, Гоженко АІ, Федорук ОС. *Гостра ниркова недостатність*. Одеський медичний університет, Одесса, 2003; 375
8. Меркулова ЮВ, Гомон ОН, Чайка ЛА. Глутаргін – нові принципи фармакотерапії захворювань печінки: Зб. наук. праць наук.-практ. конф. Харків, 2003: 7-9
9. Берхин ЕБ, Иванов ЮИ. *Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена*. Алтайское кн. Изд., Барнаул, 1972; 199
10. Рябов СИ, Наточин ЮВ, Бондаренко ББ. *Диагностика болезней почек*. Медицина, Л., 1979; 256
11. Михеева АИ, Богодарова ИА. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56. *Лаб дело* 1969; (7): 441-442
12. Stuben J, Port R, Bertram B et al. Pharmacokinetics and whole-body distribution of the new chemotherapeutic agent beta-D-glucosylisophosphoramide mustard and its effects on the incorporation of [methyl-3H]-thymidine in various tissues of the rat. *Cancer Chemother Pharmacol* 1996; 38(4): 355-365
13. Гоженко АІ. *Энергетическое обеспечение основных почечных функций и процессов в норме и при повреждении почек*. Дис... д-ра мед. наук. Черновцы, 1987; 368
14. Пішак ВП, Гоженко АІ, Роговий ЮЄ. *Тубуло-інтерстиціальний синдром*. Медакадемія, Чернівці, 2002; 221
15. Lopau K, Kleinert D, Erler J et al. Tacrolimus in acute renal failure: does L-arginine-infusion prevent changes in renal hemodynamics? *Transpl Int* 2000; 13 (6): 436-442
16. Higashi Y, Oshima T, Ono N et al. Intravenous administration of L-arginine inhibits angiotensin-converting enzyme in humans. *J Clin Endocrinol Metab* 1995; 80(7): 2198-2202

Поступила в редакцию 07.01.2007 г.

Принята в печать 22.06.2007 г.