



УКРАЇНА

(19) UA (11) 51089 (13) U
(51) МПК (2009)
A61K 31/00

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ КОРЕКЦІЇ НЕФРОПАТІЇ НА ФОНІ АРТЕРІАЛЬНОЇ ГІПЕРТЕНЗІЇ (В ЕКСПЕРИМЕНТІ)

1

2

(21) u201002708

(22) 11.03.2010

(24) 25.06.2010

(46) 25.06.2010, Бюл.№ 12, 2010 р.

(72) БАЛАБАЙ АЛІНА АНАТОЛІЇВНА

(73) НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ
ІМ. О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

(57) Спосіб корекції нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії (в експерименті), що включає призначення метаболічних препаратів, який **відрізняється** тим, що як метаболічний препарат призначають тіотриазолін у дозі 50 мг/кг щоденно, додаючи до їжі протягом 45 діб.

Корисна модель, що заявляється, належить до медицини, а саме до клінічної фармакології, кардіології та нефрології і може бути використана для корекції та профілактики нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії.

Артеріальна гіпертензія залишається однією із найбільш поширених патологій серцево-судинної системи, не дивлячись на досягнення вітчизняних і зарубіжних вчених у вивченні патогенетичних механізмів її розвитку і створення нових антигіпертензивних стратегій фармакотерапії цього захворювання. Артеріальна гіпертензія вважається науково-практичною проблемою внаслідок епідемічної масштабності її розповсюдження та великої частоти тяжких ускладнень з боку органів-мішеней (інсульту, інфаркту міокарда, серцевої та ниркової недостатності), які визначають високий рівень смертності серед працездатного населення. Нирки - одні із перших органів-мішеней, які зазнають ураження за умов підвищення артеріального тиску, проте механізми формування та прогресування гіпертензивної нефропатії залишаються маловивченими. Враховуючи той факт, що функціональний стан нирок часто визначає особливості перебігу та прогнозу захворювання, а розвиток нефросклерозу достовірно приводить до розвитку хронічної ниркової недостатності, проблема гіпертензивної нефропатії приваблює дедалі більшу увагу дослідників з точки зору перспективності пошуку ренопротекторної фармакотерапії [1].

Клінічний діагноз гіпертензивної нефропатії зумовлюється наявністю артеріальної гіпертензії, ознаками ураження інших органів-мішеней і лабораторними показниками порушення функції нирок. За умов есенціальної артеріальної гіпертензії відбувається поступова структурно-функціональна

перебудова фільтраційного, реабсорбційного та ендокринного апаратів нирок таким чином, що вони безпосередньо залучаються у процес стабілізації підвищеного артеріального тиску. Враховуючи це, виникає гостра необхідність впровадження ефективного способу ранньої корекції гіпертензивної нефропатії, що може не тільки уповільнити розвиток морфологічних змін у нирках а й сприятиме їхньому зворотному напрямку.

Тіотриазолін є вітчизняним препаратом із широким спектром фармакологічної дії і використовується у кардіології, гепатології, хірургії, неврології, офтальмології та інших медичних галузях. Результати досліджень впливу тіотриазоліну на параметри водно-сольового обміну вказують на властивість препарату зменшувати об'єм позаклітинної рідини внаслідок посилення процесів клубочкової фільтрації та блокування реабсорбції натрію у ниркових каналах і об'рунтовують його застосування при порушеннях водно-сольового обміну та функціонального стану нирок, що може бути використане при лікуванні гіпертензивної нефропатії [2, 3].

Відсутність подібних робіт у науковій літературі та літературних оглядах стосовно впливу тіотриазоліну на структуру нирок привернула нашу увагу з точки зору пошуку можливих нефропротекторних ефектів цього препарату на морфофункціональний стан нирок за умов гіпертензивної нефропатії.

Найбільш близьким за технічними характеристиками до способу, що заявляється, є спосіб застосування тіотриазоліну з метою корекції АГ в експерименті у щурів лінії СІСАГ [4]. Експериментальні щури даної лінії є адекватною моделлю, на якій відтворюються усі ознаки і симптоми серцевих

(19) UA (11) 51089 (13) U

та ниркових ускладнень, притаманних АГ людини [5], тому ці експериментальні тварини використовуються у всьому світі для вивчення ефективності антигіпертензивних засобів. Цей спосіб передбачає застосування тіотриазоліну у дозі 25мг/кг та корвазану у дозі 20мг/кг, додаючи до їжі протягом 90 днів. Однак цей спосіб має певні недоліки: не враховується вплив препарату на стан нирок, немає морфологічних досліджень ультраструктури нирок за умов лікування тіотриазоліном для з'ясування його ефективності, потребує багато часу.

Задача, яка вирішується способом, що з'являється, полягає у вдосконаленні способу корекції нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії в експерименті шляхом призначення лікарського метаболітного препарату тіотриазоліну, що дозволить підвищити ефективність корекції гіпертензивної нефропатії та покращити структурно-функціональний стан нирок за умов артеріальної гіпертензії.

Технічний результат, що досягається, полягає у підвищенні ефективності лікування нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі, що включає призначення метаболітного препарату згідно корисної моделі, як лікарський препарат призначають тіотриазолін у дозі 50мг на добу щоденно, додаючи до їжі протягом 45 діб.

Реєструють морфологічні зміни ниркових структур, що дозволить на структурному рівні проконтролювати якість лікування нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії даним препаратом.

Спосіб, що заявляється, здійснюється наступним чином: для корекції нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії (гіпертензивна нефропатія) в експерименті лабораторним тваринам вводять тіотриазолін у дозі 50мг/кг протягом 45 діб, додаючи до їжі.

Теоретичне підґрунтя для застосування способу. Досліди проведено на 44 експериментальних щурах, які були розподілені на 3 групи: I група - 17 контрольних щурів нормотензивної лінії WKY (Wistar-Kyoto rats), II група - 15 щурів лінії CICAГ (спадково індукована стресом артеріальна гіпертензія), III група - 12 щурів лінії CICAГ, які одержували тіотриазолін (50мг/кг). Препарат розчиняють у воді, застосовуючи *per os* протягом 45 діб, додаючи одноразово щоденно до їжі.

Для визначення якості лікування нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії тіотриазоліном на морфологічний стан нирок здійснювали електронномікроскопічне дослідження шматочків тканини нирок. Фіксацію матеріалу проводять розчином 2,5% глютарового альдегіду на какодилатному буфері з дофіксацією в 1% розчині осмієвої кислоти. Зневоднюють у спиртах 70%, 80%, 90%, 100% концентрації та ацетоні. Заливають в суміш епо-наралдиту, згідно загальноприйнятій методиці [6]. Напівтонкі та ультра тонкі зрізи з отриманих блоків виготовляють на ультратомках LKB III (Швеція) та Reihart (Швеція). Напівтонкі зрізи забарвлюють метиленовим синім, толуїдиновим синім, основним фуksiном та методом *Naayat*. Ультра тонкі зрізи контрастують 2% розчином уранілацетату та цит-

ратом свинцю. Препарати досліджують під електронними мікроскопами ЕВМ-100БР та ПЕМ-125К. Фотодокументування проводять з використанням фотопластинок «для ядерних досліджень».

У цілому слід відмітити, що метаболітний препарат тіотриазолін впливає позитивно на структуру нирок за умов гіпертензивної нефропатії. Аналіз нирки щурів із спонтанною гіпертензією, які отримували тіотриазолін, показав збільшення кількості органел метаболічного плану. Так, на фоні внутрішньоклітинного набряку, розміри якого значно зменшені у порівнянні з гіпертензивними щурами, чітко відслідковується активність каналців ендоплазматичної сітки, рибосом та полісом у всіх структурних компонентах нефрона.

Елементи фільтраційного апарату III групи тварин, які отримували тіотриазолін, демонструють кращу збереженість, ніж у щурів II групи. Збережені цитоподії подоцитів видовжуються, тіло подоцита містить збільшене ядро із численними інвагінаціями каріоплазми, набряк цитоплазми зберігається, проте значно менший ніж у тварин із гіпертензією. В нуклеоплазмі розташовуються ядерця та переважає еухроматин. В навіколядерній зоні та цитотрабекулах розповсюджені у великій кількості полісоми, каналці ендоплазматичної сітки, мітохондрії, які мають чітко структуровані зовнішні та внутрішні мембрани і матрикс помірної електронної щільності. В значній кількості виражені фібрилярні елементи - мікротрубочки та мікрофібрили. В той же час електроннощільні депозити в цитоплазмі спостерігаються не так часто, як у нелікованих тварин. Це ж відноситься і до цитоподій, цитоплазма яких характеризується меншою електронною щільністю у зрівнянні із експериментальними тваринами до застосування тіотриазоліну.

Гломерулярна базальна мембрана приблизно рівномірної товщини, менше зустрічаються ділянки значного її потовщення та розшарування, як у гіпертензивних щурів. Просвіт капілярів переважно розкритий. Цитоплазма ендотеліоцитів помірної електронної щільності, в периферійних ділянках безперервний ендотелій чергується із стоншеним фенестрованим, при чому проміжки у фенестрах часто заповнені дисперсним матеріалом, подібним базальній мембрані, або перекриті діафрагмами. На люменальній та базальній поверхнях нефенестрованих ділянок спостерігаються багаточисленні міхурці, які приймають безпосередню участь у трансцелюлярному транспорті речовин. Слід відмітити, що відшарування частин цитоплазми ендотеліальних клітин у просвіт гемокапіляра, яке було притаманне гіпертензивним щурам, практично не зустрічається. Будова ядра, а також поширеність рибосом, полісом, каналців зернистої ендоплазматичної сітки, мітохондрій свідчать про активні біосинтетичні процеси у клітинах.

Кращу збереженість ультраструктури, ніж у нелікованих гіпертензивних щурів, демонструють і мезангіальні клітини, але ядровмісні зони спостерігаються не часто.

Епітеліоцити проксимальних каналців проявляють гетерогенність ультраструктурної організації, як і до лікування спостерігаються функціональ-

но активні клітини та епітеліоцити із ознаками дистрофічно-деструктивних змін. Збережені клітини спостерігаються у більшій кількості, ніж до лікування, містять у цитоплазмі ядро округлої форми, в якому домінує транскрипційно активний еухроматин. Базальна мембрана помірної електронної щільності і товщини. Базальні екструзії зберігають паралельність будови. В цитоплазмі цих клітин знайдена велика кількість лізосом із електроннощільним вмістом. Комплекс Гольджі, ендоплазматична гранулярна та агранулярна сітка клітин каналця розширені. Структура мітохондрій добре збережена, містить кристи, гранули і матрикс помірної електронної щільності, зустрічаються органели із електроннощільним крупнодисперсним вмістом. Необхідно відмітити появу дрібних мітохондрій, які ймовірно є юними формами цих органел. Для епітеліоцитів проксимального каналця також характерна рибосомальна активність. Мікроворсинки щіткової облямівки розташовуються переважно паралельно одна до одної, нефрагментовані, що спостерігається і у нормотензивних щурів. Поряд з тим спостерігається певна кількість апоптично змінених епітеліоцитів, але загальна їх кількість суттєво менша ніж у гіпертензивних щурів. Базальна мембрана проксимальних і дистальних каналців рівномірної товщини, міжклітинні контакти в епітеліоцитах представлені вкороченими щільними контактами з локальними розширеннями інтерцелюлярних просторів.

В дистальних каналцях більшість епітеліальних клітин без виразних ультраструктурних пошкоджень і мають ознаки функціональної активності. Розповсюдженість полісом, каналців ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі, великі за розмірами мітохондрії, ядра, де переважає еухроматин, свідчать про активні біосинтетичні процеси. Присутність мітохондрій у великій кількості та глибоких розгалужених базальних екструзій вказують на активні реабсорбційні процеси.

У порівнянні із гіпертензивними щурами, просвіт перитубулярних капілярів розширений. Крім того, ендотеліальні клітини гемомікросудин характеризуються підвищеною активністю. В них спостерігається значна кількість рибосом і полісом, мітохондрій з добре збереженими матриксом та кристами, каналців зернистої ендоплазматичної сітки та комплексу Гольджі, що свідчить про виражені біосинтетичні процеси. Мікропіноцитозні везикули, які приймають участь в трансендотеліально-

му переносі речовин і які майже повністю заповнюють периферійні відділи ендотелію інтактних тварин, спостерігаються в помірній кількості у гіпертензивних щурів, лікованих тіотриазоліном.

Узагальнюючи результати ультраструктурного дослідження нефрона у щурів із САГ, можливо зробити висновок, що застосування в якості лікувального засобу препарату метаболітного ряду тіотриазоліну призводить до активізації органел метаболічного плану в клітинах нефрона, покращує обмін речовин в клітинах, здійснює позитивний вплив на судинний компонент клубочка, що покращує його мікроциркуляцію, а відповідно і фільтраційну функцію.

Таким чином, даний спосіб, що полягає у призначенні тіотриазоліну в дозі 50мг/кг щоденно одноразово впродовж 45 діб здійснює вплив, який нормалізує ультраструктурну будову нирок щурів із артеріальною гіпертензією.

Спосіб, що заявляється, був апробований на базі Інституту проблем патології НМУ імені О.О. Богомольця. Отримані позитивні результати дозволяють рекомендувати його для широкого впровадження в клінічну медицину з метою корекції та профілактики нефропатії на фоні артеріальної гіпертензії.

Джерела інформації:

1. Kamper A. L. Hypertension and renal disease / A. L. Kamper, E. B. Pedersen, S. Strandgaard // Ugeskr. Laeger. - 2009. - Vol. 25. - P.2109-2113.
2. Геруш О. В. Тіотриазолін і функціональний стан нирок / О.В. Геруш, І.В. Геруш // «ХИСТ» Всеукр. мед. журн. молодих вчених. - 2005. - №7. - С. 87.
3. Мазур И. А. Метаболитотропные препараты / И. А. Мазур, И. С. Чекман, И. Ф. Беленичев и соавт. // - Запорожье. - 2007. - 309С.
4. Патент України №37558, А61К33/00. Спосіб лікування артеріальної гіпертензії в експерименті / М. І. Загородний, А. С. Свінціцький, Л. І. Антоненко, Л. Л. Аршиннікова - Національний медичний університет імені О. О. Богомольця. Опубл. 25.11.2008, Бюл. №22, 2008р.
5. Zhou X. Analogy of cardiac and renal complications in essential hypertension and aged SHR- or L-NAME/SHR / X. Zhou, E. D. Frohlich // Medical chemistry. - 2007. - Vol. 3. - P. 61-65.
6. Карупу В. Я. Электронная микроскопия / В. Я. Карупу // Киев: Вища школа, 1984. - 208с.