

В.Г. Зеленюк, І.І. Заморський, О.М. Горошко

## Вплив статинів на розвиток ниркової недостатності у білих щурів

*В експерименті на щурах досліджена дія трьох статинів (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) на функцію нирок за умов гострої ниркової недостатності (ГНН) і встановлено ефективні дози, у яких вони найбільш виражено виявляють нефропротекторні властивості. Виявлено, що всі статини у різних дозах викликали відновлення функціональної активності нирок на тлі змодельованої рабдоміолітичної ГНН, проте у дозі 20 мг/кг відзначали найбільш істотне покращення основних показників функцій нирок: посилення діурезу на 32 %, швидкості клубочкової фільтрації на 90 %, зменшення протеїнурії більше ніж удвічі. При цьому активність креатинфосфокінази плазми крові тварин була всього на 14 % вища за значення інтактного контролю. Водночас у тварин із модельною патологією без застосування препаратів цей показник підвищувався на 141 %, що вказує на незначну міотропну активність статинів у обраному режимі введення. Отже, застосування дози 20 мг/кг є найбільш обґрунтованим з точки зору нефропротекторної ефективності та безпеки.*  
*Ключові слова:* гостра ниркова недостатність, статини, нефропротекція, креатинфосфокіназа.

### ВСТУП

Відомо, що при захворюваннях нирок, які супроводжуються розвитком ниркової недостатності, виникає також і гіперліпідемія. Доведено, що ці порушення можуть викликати прискорення прогресування ураження нирок [1]. У експериментальних дослідженнях встановлено, що збільшення споживання холестерину викликає гломерулосклероз, проліферацію мезангію та помірну протеїнурію у тварин з нормальною функцією нирок, а також посилює ураження клітин і протеїнурію у тварин із уже існуючими захворюваннями нирок. За результатами гістологічного дослідження тканини нирок при ушкодженні клубочків встановлено відкладення ліпопротеїнів в ендотеліальних і мезангіальних клітинах [2, 3].

Інгібітори 3-гідрокси-3-метилглутарилкоензим А-редуктази (статини) є ефективними в боротьбі з гіперхолестеролемією навіть на пізніх стадіях ниркової недостатності [4]. Гіполіпідемічний ефект статинів поєднується

із їх неліпідними (плейотропними) властивостями: антиоксидантними, протизапальними, імуномодулювальними і антитромботичними [2, 5]; та, на відміну від гіполіпідемічної дії, плейотропний їх вплив є швидкоплинним [6]. Враховуючи вищенаведене, можна припустити, що основні та додаткові ефекти статинів при нирковій недостатності можуть уповільнити порушення функції нирок і забезпечити її відновлення.

Метою нашого дослідження було встановлення нефропротекторної ефективності у різних статинів (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) та доз, у яких вони будуть найкраще виявляти нефропротекторні властивості на тлі експериментальної гострої ниркової недостатності (ГНН).

### МЕТОДИКА

Дослідження проводили на 77 нелінійних ставтевозрілих білих щурах масою 140–180 г, які знаходились в умовах віварію з підтриманням постійної температури та вологості з вільним

доступом до води та їжі. Тварин розподілили на 11 груп ( $n=7$ ): I – контрольна (інтактні); II – неліковані тварини, у яких моделювали рабдоміолітичну ГНН введенням 50%-го розчину гліцеролу внутрішньом'язово у дозі 10 мл/кг [7]; з III по XI – тварини, яким вводили досліджувані препарати (аторвастатин, ловастатин та симвастатин) у дозах 10, 20 та 30 мг/кг відповідно. Для дослідження використовували різні статини, керуючись при цьому ступенем вираженості їх гіполіпідемічної дії [8]. Дозу 10 мг/кг обрали як базову для встановлення ефективної нефропротекторної на підставі літературних даних [9–11]. Препарати вводили одноразово внутрішньошлунково в 1%-му розчині крохмалю з розрахунку 1 мл суспензії препарату на 100 г маси тіла через 40 хв після моделювання ГНН. Для оцінки функціонального стану нирок на 24-ту годину експерименту за умов індукованого діурезу (внутрішньошлункове введення питної води в об'ємі 5 % від маси тіла) протягом 2 год збирали сечу. Після цього виводили тварин з експерименту декапітацією під тіопенталовим (80 мг/кг) наркозом для забору крові та нирок із дотриманням положень “Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях” [12].

Концентрацію креатиніну в плазмі крові досліджували за методом Поппера у модифікації Мерзона, у сечі – за методом Фоліна [13], вміст білка в сечі – за реакцією за сульфосаліциловою кислотою [14]; рН сечі визначали на мікробіоаналізаторі “Radelkis” (Угорщина), вміст кислот та аміаку в сечі – титруванням [15]. Концентрацію іонів калію та натрію в сечі і плазмі крові оцінювали методом полум'яної фотометрії на “ФПЛ-1” (Україна) [15]. Вміст загального холестерину у плазмі крові визначали за ферментативним методом Schettler [16], а концентрацію  $\beta$ -ліпопротеїнів – турбодиметричним методом Бурштейна–Самая [17]. Активність креатинфосфокінази (КФК) вивчали за допомогою набору реактивів виробництва “Lachema” (Чехія) [18].

Статистичну обробку результатів проводили за допомогою програми Statistica 6.0. Оцінку нормальності їх розподілу виконували з допомогою тесту Шапіро–Уїлка. Оскільки більшість вибірок показників не відповідала критеріям нормального розподілу, для їх порівняння користувалися непараметричним критерієм Манна–Уїтні. Зміни вважали статистично значущими при  $P \leq 0,05$ . При проведенні кореляційного аналізу вибірок застосовували коефіцієнт кореляції Спірмена.

## РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

В умовах змодельованої патології встановили, що застосування статинів підтвердило їх гіполіпідемічну дію і призводило до вірогідного вираженого зниження вмісту загального холестерину та  $\beta$ -ліпопротеїнів у плазмі крові щурів та було дозозалежним (табл. 1). Найбільш ефективним виявився аторвастатин, який у дозі 20 мг/кг достовірно зменшував вміст загального холестерину на 42 %, а при підвищенні дози – на 44 %. Аналогічну тенденцію спостерігали стосовно вмісту  $\beta$ -ліпопротеїнів, причому введення аторвастатину, ловастатину та симвастатину у найвищій дозі призвело до зменшення вмісту атерогенних ліпідів на 28, 18 та 26 % відповідно. Згідно з одержаними результатами, досліджувані препарати можна розмістити в такому порядку зменшення ступеня їх гіполіпідемічної активності: аторвастатин, симвастатин, ловастатин.

Варто відзначити, що зміни показників ліпідного обміну при збільшенні дози статинів з 20 до 30 мг/кг були незначними та становили стосовно зменшення вмісту загального холестерину та  $\beta$ -ліпопротеїнів у середньому 3 та 5 % відповідно, водночас збільшення дози з 10 до 20 мг/кг становили 13 та 4 % відповідно. Отже, у дозі 20 мг/кг виявляється достатня гіполіпідемічна дія статинів, а при її підвищенні приріст ефективності виявився незначним.

Таблиця 1. Характеристика вмісту загального холестерину та  $\beta$ -ліпопротеїнів у щурів при введенні статинів у різних дозах ( $M \pm m$ ,  $n=7$ )

Група тварин	Загальний холестерин, мг/дл	$\beta$ -ліпопротеїни, ум.од
Інтактні тварини	62,36 $\pm$ 1,72	19,43 $\pm$ 1,38
Тварини з модельованою патологією	76,92 $\pm$ 5,57*	24,71 $\pm$ 1,01*
Тварини, яким вводили		
аторвастатин		
10 мг/кг	62,91 $\pm$ 3,27	21,14 $\pm$ 1,53
20 мг/кг	54,35 $\pm$ 4,49**	20,71 $\pm$ 1,89
30 мг/кг	53,30 $\pm$ 1,77**	19,29 $\pm$ 2,10**
ловастатин		
10 мг/кг	70,88 $\pm$ 4,1	21,50 $\pm$ 1,4
20 мг/кг	65,11 $\pm$ 5,06	21,07 $\pm$ 1,49
30 мг/кг	64,01 $\pm$ 3,93	20,93 $\pm$ 2,05
симвастатин		
10 мг/кг	69,78 $\pm$ 3,43	21,64 $\pm$ 1,46
20 мг/кг	64,84 $\pm$ 2,81	20,43 $\pm$ 2,14
30 мг/кг	61,81 $\pm$ 3,10**	19,67 $\pm$ 1,17**

Примітка. Тут і в табл. 2 \* $P < 0,05$  порівняно з інтактними тваринами; \*\* $P < 0,05$  порівняно зі значеннями у нелікованих тварин.

Крім того, вірогідне збільшення вмісту  $\beta$ -ліпопротеїнів і загального холестерину у щурів з модельованою нелікованою патологією порівняно з інтактними тваринами (загального холестерину – на 23 % та  $\beta$ -ліпопротеїнів – на 28 %) узгоджується з наведеними вище відомостями щодо ролі дисліпідемії, зокрема ретенційної гіперліпідемії, у розвитку патології нирок, що також підтверджується виявленим прямим кореляційним зв'язком між рівнем протеїнурії та вмістом  $\beta$ -ліпопротеїнів ( $r=0,62$ ; рис. 1а), а також загального холестерину ( $r=0,70$ ; рис. 1б).

Функціональний стан нирок тварин на 24-ту годину експерименту на тлі гліцеролової ГНН значно погіршився, що позначилося у щурів із модельованою патологією зниженням швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) на 92 %, зменшенням діурезу на 45 %, збільшенням концентрації білка в сечі в 3 рази порівняно із інтактним контролем, порушенням іоно- та кислотнорегулювальної функцій нирок (див. табл. 2).

Застосування статинів сприяло покращенню роботи нирок і мало дозозалежний характер, причому зростання їхньої ефек-

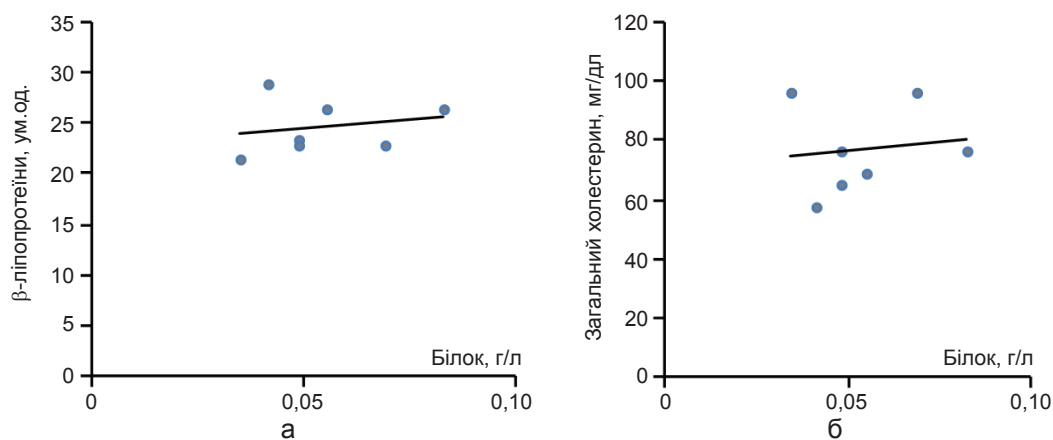


Рис. 1. Співвідношення вмісту  $\beta$ -ліпопротеїнів і білка (а) та вмісту загального холестерину і білка в сечі щурів (б)

Таблиця 2. Показники функціонального стану нирок щурів при введенні статинів у різних дозах (M±m, n=7)

Групи тварин	Діурез, мл/год	Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв	Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	Концентрація білка в сечі, г/л	рН сечі	Екскреція, мкмоль/ год			
						титрованих кислот	амонію	іонів натрію	
Інгакні тварини	4,08±0,29	367,19±36,04	68,42±3,65	0,017±0,002	7,55±0,07	30,13±2,16	66,85±3,26	2,29±0,17	34,85±1,89
Тварини з моделюваною патологією	2,81±0,13*	190,93±17,76*	127,92±4,38*	0,054±0,006*	6,98±0,1*	37,16±3,32	45,26±3,91*	4,02±0,38*	40,72±1,19*
Тварини, яким вводили агорвастатин	2,99±0,22	311,57±57,55	96,68±9,29**	0,027±0,005**	6,78±0,07	37,57±3,98	87,67±6,53**	1,75±0,15**	35,99±4,59
10 мг/кг	3,66±0,16**	378,13±28,25**	72,88±3,94**	0,023±0,004**	7,16±0,13	27,12±4,63**	99,50±9,08**	2,03±0,27**	33,04±2,28**
20 мг/кг	3,59±0,15**	348,05±23,77**	89,24±5,01**	0,038±0,005**	6,87±0,15	40,40±3,41	91,55±7,02**	1,45±0,13**	42,94±2,40
ловастатин	3,01±0,11	301,32 ±21,45**	81,81±5,76**	0,036±0,005**	6,91±0,17	36,37±3,09	76,64±5,01**	1,79±0,15**	35,73±2,23
10 мг/кг	3,57±0,19**	347,49±26,31**	72,88±3,21**	0,030±0,006**	7,22±0,17	27,18±2,24**	62,87±2,49**	2,08±0,32**	33,88±2,23**
20 мг/кг	2,97±0,20	330,49±39,85**	75,86±8,72**	0,034±0,005**	6,85±0,13	37,13±4,94	73,59±8,25**	2,13±0,26**	40,27±3,05
симвастатин	3,62±0,28**	323,21±51,31**	77,34±3,84**	0,035±0,003**	7,02±0,1	33,76±3,41	85,51±5,97**	2,81±0,27**	37,19±4,22
10 мг/кг	3,92±0,14**	362,31±31,07**	56,37±3,18**	0,021±0,003**	7,18±0,07	31,70±2,26	91,19±3,05**	2,89±0,18**	31,27±3,7**
20 мг/кг	3,75±0,19**	341,64±43,41**	73,77±2,83**	0,031±0,005**	7,11±0,15	30,41±2,24	69,54±5,08**	3,26±0,28	33,16±4,14

тивності відзначили у дозі 20 мг/кг. Так, при застосуванні аторвастатину у згаданій дозі діурез зростав найбільше – на 30 %, а при підвищенні дози – на 28 %. У групах тварин, яким вводили інші статини, зміни при збільшенні дози з 20 до 30 мг/кг були виражені яскравіше: ловастатин збільшував діурез на 27 та 6 % відповідно; симвастатин – на 40 та 33 % відповідно. Досліджувані препарати вірогідно збільшували ШКФ, причому спостерігалась аналогічна тенденція, наведена вище. Найбільш виражене зростання цього показника фільтраційної здатності нирок встановили при застосуванні аторвастатину, ловастатину, симвастатину у дозі 20 мг/кг на 98, 82 і 90 % відповідно. Концентрація креатиніну в плазмі крові під впливом препаратів вірогідно зменшувалася, хоча і була вищою, ніж у інтактного контролю. Зменшення протеїнурії спостерігали в усіх групах лікованих тварин. Найкращі показники при цьому відзначили при введенні статинів у дозі 20 мг/кг: симвастатину – у 2,6 рази, аторвастатину – у 2,4 рази, ловастатину – у 1,8 рази.

Застосування статинів мало незначний вплив на кислотнорегулювальну функцію нирок. Тенденцію до зростання рН відзначали у тварин, яким вводили статини у дозі 20 мг/кг. При аналогічному дозуванні аторвастатин і ловастатин вірогідно зменшували екскрецію кислот, що титруються, на 37 %. Значно кращою виявилася здатність препаратів до сприяння виведенню продуктів азотистого обміну,

причому екскреція амонію зросла на 81 % за значеннями усіх груп лікованих тварин.

При моделюванні ГНН внаслідок імовірного руйнування клітин нефрону детритом та міоглобіновими циліндрами збільшився вміст іонів калію в сечі та їх екскреція на 17 %. Застосування статинів у цілому мало калійзберігаючий ефект, сприяючи зменшенню екскреції іонів калію, що вірогідно проявлялося в групах щурів, яким вводили статини у дозі 20 мг/кг, та становило 24 %, дещо перевищуючи значення інтактного контролю. Екскреція іонів натрію зростала у тварин із нелікованою патологією на 75 % порівняно з інтактними тваринами, що можна пов'язати зі зменшенням реабсорбції іонів натрію внаслідок зниження ШКФ та тяжкого ушкодження каналців. Уведення статинів у згаданій дозі сприяло значному зменшенню втрати іонів натрію із сечею переважно при застосуванні аторвастатину у 2 рази і ловастатину у 1,9 рази.

Можна припустити, що приблизно однакова ефективність статинів, різних за силою антихолестеринемічної активності, у дозі 20 мг/кг пояснюється, ймовірно, різним ступенем прояву їх плеiotропних властивостей. Нижча ефективність статинів у вищій дозі (30 мг/кг) може бути зумовлена виснаженням фізіологічних процесів, завдяки яким препарати виявляють свою дію.

У лікованих статинами тварин досліджували активність КФК для вивчення дозозалежності міотропного впливу препаратів (рис. 2),

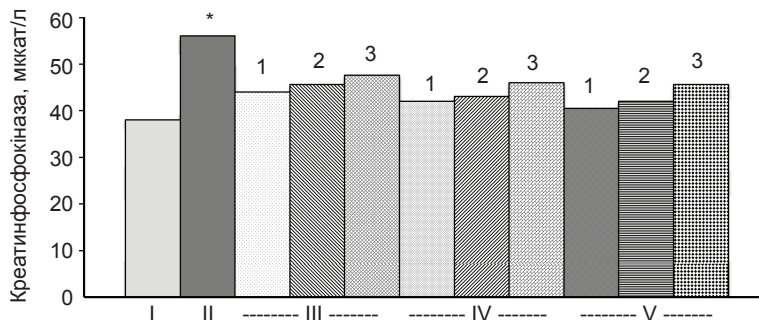


Рис. 2. Активність креатинфосфокинази у крові щурів при одноразовому застосуванні статинів на тлі міоглобінурічної гострої ниркової недостатності: I – група інтактних тварин, II – тварини із модельованою патологією, III–V – введення аторвастатину, ловастатину, симвастатину відповідно, 1–3 – введення статинів у дозах 10–30 мг/кг відповідно. \* $P < 0,05$  вірогідність різниці з контролем

за результатами чого встановили зростання активності КФК у тварин із модельною патологією у 1,5 раза пов'язано із травмуючим впливом гіпертонічного розчину гліцеролу на м'язову тканину щурів. Статини не призводили до значного збільшення активності КФК у порівнянні з контролем, проте спостерігалася дозозалежна тенденція до зростання цього показника. Таким чином, застосування статинів у дозі 20 мг/кг можна вважати безпечним при обраному режимі введення на тлі змодельованої патології, проте слід вивчити вплив препаратів на м'язову тканину при більш тривалому введенні.

## ВИСНОВКИ

1. Статини (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) проявляють нефропротекторну дію при міоглобінурічній формі гострої ниркової недостатності.

2. Аторвастатин, ловастатин, симвастатин виявляють найбільшу нефропротекторну активність у дозі 20 мг/кг в основному завдяки покращенню видільної функції нирок.

3. Встановлено пряму залежність між збільшенням дози статинів і підвищенням активності креатинфосфокинази, проте в умовах здійсненого експерименту не виявлено тяжкої міодеструктивної дії препаратів.

**В.Г. Зеленюк, И.И. Заморский, А.М. Горошко**

## ВЛИЯНИЕ СТАТИНОВ НА РАЗВИТИЕ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ У БЕЛЫХ КРЫС

В эксперименте на крысах исследовано действие трёх статинов (аторвастатин, ловастатин, симвастатин) на функцию почек в условиях острой почечной недостаточности и установлено нефропротекторная активность условно эффективных доз, в которых они наиболее выражено проявляют защитные свойства. Установлено, что все статины в разных дозах вызвали восстановление функциональной активности почек на фоне смоделированной рабдомиолитической острой почечной недостаточности, однако в дозе 20 мг/кг отмечали наиболее существенное улучшение основных показателей функций почек: увеличение диуреза в среднем на 32 %, скорости клубочковой фильтрации в среднем на 90%, уменьшение протеинурии более чем в 2

раза. При этом активность креатинфосфокиназы плазмы крови животных была всего на 14 % выше показателя интактного контроля. Вместе с тем у животных с модельной патологией уровень креатинфосфокиназы увеличивался на 141 %, что указывает на незначительную миотропную активность статинов в выбранном режиме введения. Таким образом, использование дозы 20 мг/кг является наиболее обоснованным с точки зрения нефропротекторной эффективности и безопасности.

Ключевые слова: острая почечная недостаточность, статины, нефропротекция, креатинфосфокиназа.

**V.G. Zeleniuk, I.I. Zamorskii, O.M. Goroshko**

## RENOPROTECTIVE EFFICACY OF DIFFERENT DOSES OF STATINS IN EXPERIMENTAL ACUTE RENAL FAILURE

The effect of three statins (atorvastatin, lovastatin, simvastatin) on the renal function under conditions of experimental acute renal failure in rats was studied. The relatively effective doses were found to possess the most considerable renoprotective properties. All the statins were established to cause the restoration of functional activity of the kidneys under conditions of experimental rhabdomyolytic acute renal failure at various doses, but with the dose of 20 mg/kg they showed the most significant improvement in key indices of kidney function: an increase in diuresis by an average of 32% and glomerular filtration rate by an average of 90%, reduction of proteinuria in more than twice. At the same time, in the animals with acute renal failure the level of creatine phosphokinase was increased by 141%. However, the activity of blood plasma creatine phosphokinase of all animals treated with statins was 14% higher than in the intact control, indicating the minor myotrophic activity of statins in selected mode of administration. Thus, the use of 20 mg/kg dose is the most reasonable from the standpoint of renoprotective efficacy and safety.

Key words: acute renal failure, statins, renoprotection, creatine phosphokinase.

*Bukovinsky Medical University, Ministry of Public Health, Ukraine*

## REFERENCES

1. D'Amico G. Statins and renal diseases: from primary prevention to renal replacement therapy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006; 17: S148-S152.
2. Epstein M., Campese V.M. Pleiotropic effects of 3-hydroxy-3-methylglutaryl coenzyme A reductase inhibitors on renal function. *Am. J. Kidney Dis.* 2005; 45: 2-14.
3. Tonelli M. Do statins protect the kidney as well as the heart? *Cardiology rounds.* 2006; Vol. 10, Iss. 6: 171-173.
4. Navaneethan S.D., Pansini F., Perkovic V. et al. HMG CoA reductase inhibitors (statins) for people with chronic kidney disease not requiring dialysis (Review). *The Cochrane Library.* 2009; Iss. 3.

5. Atroshchenko E.S. Pleiotropic effects of statins: new aspects of the action of HMG-CoA reductase inhibitors. *Medical news*. 2004; 3: 59-66.
6. Nestic Z. Acute protective effects of different doses of simvastatin in the rat model of renal ischemia-reperfusion injury. *Acta Vet-Beograd*. 2008; Vol. 58, 5-6: 413-427.
7. Shtrygol S.Iu., Lisovyi V.M., Zupanets I.A. et al. Methods of experimental simulation of the kidney injury in the pharmacological studies: Methodological recommendations of the SPU of the HC of Ukraine. Kyiv; 2009. с. 9-10.
8. Law M.R., Wald N.J., Rudnicka A.R. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ*. 2003; Vol. 326: 1-7.
9. Ozbek E., Cekmen M., Ilbey Y.O. et al. Atorvastatin prevents gentamicin-induced renal damage in rats through the inhibition of p38-MAPK and NF-kappaB pathways. *Ren. Fail*. 2009; 31(5): 382-392.
10. Issabeagloo E., Gharamaleki M.N., Kermanizadeh P., Abri B. Effect of lovastatin in prevention of renal lesions due to complete unilateral urethral obstruction in rats. *Am. J. Sci. Res*. 2012; 72: 89-98.
11. Jabbari M., Rostami Z., Jenabi A. et al. Simvastatin ameliorates gentamicin-induced injury in rats. *Saudi. J. Kid. Dis. Transp*. 2011; Vol. 22, Iss. 6: 1181-1186.
12. European convention for the protection of the vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. Strasbourg, 1986.
13. Riabov S.I., Natochin Iu.V. *Phunctional nephrology*. Saint Petersburg: Lan', 1997.
14. Mikheeva A.I., Bogodarova I.A. Methods of determining the total protein in the urine on the photoelectric colorimeter. *Lab. delo*. 1969; 7: 441-442.
15. Berkhin E.B., Ivanov Iu.I. *Methods of experimental study of the kidney and water-salt metabolism*. Barnaul; 1972.
16. Schettler G., Nussel E. Determination of triglycerides. *Arbeitsmed. Sozialmed. Chol. Praventiv. Med*. 1975; 10: 25.
17. Goriachkovskii A.M. *Clinical biochemistry*. Odessa: Astroprint; 1998.
18. Ueda I., Wada T. Determination of inorganic phosphate by the molybdovanadate method in the presence of ATP and some interfering organic bases. *Anal. Biochem*. 1970; Vol. 37, Iss. 1: 169-174.

*Буковин. мед. ун-т МОЗ України*  
*E-mail: vzeleniuk@gmail.com*

*Матеріал надійшов*  
*до редакції 07.10.2013*