



Ультраструктурні зміни в нирковій тканині у щурів із нирковою недостатністю під впливом стандартизованої рослинної композиції BNO 2103

В. В. Черних ^{ID}*B,C,D, К. О. Зупанець ^{ID}A,B,C,E,F, С. К. Шебеко ^{ID}A,E,F

Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна

A – концепція та дизайн дослідження; B – збір даних; C – аналіз та інтерпретація даних; D – написання статті; E – редагування статті; F – остаточне затвердження статті

Менеджмент хронічної хвороби нирок – актуальне завдання глобальної системи охорони здоров'я, адже без лікування вона призводить до часткової або остаточної втрати функції нирок. Стандартизовані фітозасоби високоефективні та відносно безпечні. Науковий інтерес продовжують викликати відомі рослинні засоби для лікування захворювань сечостатевої системи в аспекті розширення показань до застосування.

Мета роботи – вивчити нефропротекторні властивості стандартизованої рослинної композиції BNO 2103, що є активним інгредієнтом рослинного засобу Канефрон Н®, на моделі ниркової недостатності в щурів.

Матеріали та методи. Дослідження здійснили на 42 самцях білих безпородних щурів масою 150–200 г, яких поділили на 4 групи. Нефropатія індукована шляхом одноразового введення 0,7 мл/кг 2,5 % розчину хромату калію. Тварини 3 і 4 груп отримували BNO 2103 у дозі 33,0 мг/кг і преднізолон у дозі 1,9 мг/кг внутрішньошлунково щодня протягом 20 днів. Після евтаназії у тварин вилучали нирки для морфологічного дослідження і вивчали за допомогою стандартних методів електронної мікроскопії.

Результати. Під впливом BNO 2103 спостерігали нормалізацію ультраструктурної картини нирок із невеликими патологічними змінами. Так, нормалізацію визначили за зменшенням ознак деструкції базальних мембран, поліпшенням будови органел, посиленням метаболічних процесів у подоцитах та ендотеліальних клітинах, зменшенням проявів у них дегенеративно-дистрофічних змін. За цими параметрами BNO 2103 перевершив референс-препарат преднізолон.

Висновки. BNO 2103 показав істотний нефропротекторний ефект, нормалізувавши ультраструктурну картину нирок у щурів в умовах ниркової недостатності. Такий ефект, імовірно, зумовлений наявністю в складі засобу біологічно активних речовин із сильною антиоксидантною, протизапальною, нефропротекторною активністю. Результати дослідження дають підстави вважати BNO 2103 перспективним нефропротекторним засобом для використання в лікуванні хронічної хвороби нирок.

Ключові слова: BNO 2103, рослинна композиція, хронічна хвороба нирок, нефропротекторний ефект, фітотерапія, доклінічне вивчення.

Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. 2022. Т. 15, № 2(39). С. 160–167

Ultrastructural changes in renal tissue in rats with renal failure under the influence of herbal composition BNO 2103

V. V. Chernykh, K. O. Zupanets, S. K. Shebeko

Management of chronic kidney disease is an urgent task of the global health care system, as untreated, it leads to partial or permanent loss of kidney function. Standardized herbal remedies are highly effective and relatively safe. That is why it is suggested to pay attention to herbal remedies already known for the treatment of genitourinary diseases to expand the indications for their use.

The aim of the research is to study the nephroprotective properties of the standardized herbal composition BNO 2103, which is the active ingredient of Canephron N®, in a model of renal failure in rats.

Materials and methods. An experimental study was performed on 42 male white outbred rats weighing 150–200 g, which were divided into 4 groups. Nephropathy was induced by a single subcutaneous injection of 0.7 ml/kg of 2.5 % potassium chromate solution. Animals in 3 and 4 groups received BNO 2103 at a dose of 33.0 mg/kg and prednisolone at a dose of 1.9 mg/kg intragastrically daily for 20 days. After animals were sacrificed, their kidneys were obtained and studied with standard electronic microscopy methods.

Results. BNO 2103 normalized the ultrastructural picture of the kidneys, however, with the presence of minor pathological signs. BNO 2103 reduced the destruction of basement membranes, improved organelle structure and increased metabolic processes in podocytes,

ARTICLE INFO



<http://pharmed.zsmu.edu.ua/article/view/251800>

UDC 616.61-008.6-018.1-085.322-092.9
DOI: [10.14739/2409-2932.2022.2.251800](https://doi.org/10.14739/2409-2932.2022.2.251800)

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2022; 15 (2), 160–167

Key words: BNO 2103, herbal composition, chronic kidney disease, nephroprotective effect, phytotherapy, preclinical study.

*E-mail: vladyslava.chernykh@ukr.net

Received: 25.01.2022 // Revised: 02.06.2022 // Accepted: 06.06.2022

and endotheliocytes, reducing the manifestations of degenerative-dystrophic changes in them. BNO 2103 was superior to the reference drug prednisolone.

Conclusions. BNO 2103 showed a significant nephroprotective effect, normalizing the ultrastructural picture of the kidneys in rats with renal failure. This effect is most likely related to the presence of biologically active substances with a powerful antioxidant, anti-inflammatory, nephroprotective activity. The obtained results allow us to consider BNO 2103 as a promising nephroprotective agent for the treatment of chronic kidney disease.

Key words: BNO 2103, herbal composition, chronic kidney disease, nephroprotective effect, phytotherapy, preclinical study.

Current issues in pharmacy and medicine: science and practice 2022; 15 (2), 160–167

Хронічна хвороба нирок (ХХН) – інтегральний термін, що об'єднує різні нозологічні форми за головною ознакою – порушенням морфофункціональних показників нирок впродовж 3 місяців і більше. Такий діагноз передбачає високу ймовірність дальшого прогресування процесу, що призводить до розвитку хронічної ниркової недостатності (ХНН). Саме потенційна можливість часткової або остаточної втрати функції нирок є найважливішим аспектом у розумінні актуальності цієї патології.

Діагностику ХХН здійснюють на недостатньо високому рівні внаслідок латентних початкових стадій, і це є вагомим чинником високої смертності на пізніх стадіях, оскільки можливості профілактики та лікування скорочуються відповідно до прогресування захворювання.

Світовий рівень смертності від ХХН у 2017 році становив 1,2 млн (95 % ДІ: 1,2–1,3) [1]. Ця статистика має привернути увагу лікарів, фармацевтів та інших фахівців сфери охорони здоров'я для раннього початку превентивних заходів і запобігання погіршенню ниркових функцій шляхом удосконалення терапевтичних схем, пошуку нових форм і методів лікування, приділення уваги безпечним та ефективним фітозасобам, що можуть бути оцінені в контексті лікування ХХН.

Мета роботи

Вивчити нефропротекторні властивості стандартизованої рослинної композиції BNO 2103, що є активним інгредієнтом рослинного засобу Канефрон Н®, на моделі ниркової недостатності в щурів.

Матеріали і методи дослідження

Основа складу Канефрону Н® – трава золототисячника, коріння любистку та листя розмарину, завдяки чому його використовують передусім як уросептик, а також як літолітик [2]. Наше дослідження передбачає різномічне вивчення властивостей BNO 2103: гіпоазотемічного, діуретичного, антипроліферативного, антиапоптоїчного, протизапального та інших ефектів. За попередніми результатами, засіб мав істотний нефропротекторний і гіпоазотемічний ефекти. Зокрема він знижував летальність тварин, сприяв збереженню гістоструктури нирок, покращував екскреторну функцію нирок і нормалізував азотний, протеїновий метаболізм [3]. Окрему увагу приділили дослідженню змін в ультраморфології ниркової тканини під впливом засобу, оскільки структурні показники – одні з найточніших індикаторів доказовості.

Експериментальне дослідження здійснили на 42 самцях білих безпородних щурів вагою 150–200 г, яких отримали в віварії Центральної науково-дослідної лабораторії Навчально-наукового інституту прикладної фармації Національного фармацевтичного університету (ННІПФ НФаУ, м. Харків, Україна). Тварин утримували на стандартній дієті з необмеженим доступом до води в стандартних лабораторних умовах (добре вентильоване приміщення з температурою повітря 25 ± 1 °C, відносна вологість – 55 ± 5 %, цикл світло/темрява – 12 год) [4].

Усі дослідження здійснили відповідно до Директиви Ради ЄС 2010/63/ЄС з дотримання законів, правил та адміністративних положень держав-членів ЄС щодо захисту тварин, яких використовують із науковими цілями [5]. Експериментальні протоколи затверджені Біоетичною комісією НФаУ (затвердження № 2 від 4 листопада 2019 р.).

Досліджуваній засіб BNO 2103 – пульверизована суміш трави золототисячника, листя розмарину та кореня любистку, дрібнодисперсний аморфний гігроскопічний коричневий порошок, злегка розчинний у воді. Тому його вводили тваринам як водний розчин, приготований із розчинником (карбоксиметилцелюлоза 0,5 % + твін-80 0,1 %) і змішаний за допомогою вортексу V-1 Plus (Biosan, Латвія) безпосередньо перед введенням.

Як препарат порівняння обрали преднізолон 5 мг у таблетках (Дарниця, Україна) як протизапальний, імуносупресивний, антипроліферативний засіб, що широко використовують при ХХН, асоційованій з гломерулопатіями та гломерулосклерозом [6]. Тестові зразки преднізолону вводили як водну суспензію, приготовану з розчинником. Всі зразки вводили одноразово внутрішньошлунково (в/ш), використовуючи гастральний зонд.

Усіх тварин поділили на 4 експериментальні групи:

- група 1 – інтактний контроль (ІК), здорові тварини, що отримували розчинник, $n = 10$;
- група 2 – контрольна патологія (КП), неліковані тварини, що отримували розчинник, $n = 12$;
- група 3 – тварини з ХНН, що отримували BNO 2103 у дозі 33,0 мг/кг, $n = 10$;
- група 4 – тварини з ХНН, що отримували преднізолон у дозі 1,9 мг/кг, $n = 10$.

Для відтворення моделі ХНН у перший день експерименту в щурів була індукована нефропатія шляхом одноразового підшкірного введення 0,7 мл/кг в оригінальній модифікації [7] 2,5 % розчину хромату калію (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) [8]. Починаючи з

другого дня експерименту, тварини отримували BNO 2103 у дозі 33,0 мг/кг (середня терапевтична доза для людини, екстрапольована відповідно до рекомендацій FDA) [9] і преднізолон у дозі 1,9 мг/кг (ED_{50} за проти-запальною активністю). Тестовий і референтний засоби вводили внутрішньошлунково щодня протягом 20 днів як суспензію, що приготована з розчинником. Тварини контрольних груп отримували еквівалентну кількість розчинника. Після завершення дослідження тварин виводили з експерименту під загальною анестезією кетаміном/ксилазином (75/10 мг/кг внутрішньоочеревино) [10], брали біологічний матеріал для наступного вивчення.

Ультраструктуру нирок досліджували за допомогою стандартних методів електронної мікроскопії [11]. Попередньо шматочки коркової речовини ниркової тканини об'ємом приблизно 1 мм³ фіксували у забуференому 2,5 % розчині глютарового альдегіду, дофіксували у розчині тетроксиду осмію за Паладі. Після зневоднення у розчинах етанолу концентрації, що підвищується, та абсолютному ацетоні матеріал заливали у суміш епоксидних смол епон-аралдит («Fluka», Швейцарія), заключали в блоки та полімеризували за температури 56 °C протягом 36 годин [12]. Ультратонкі зрізи виготовляли на ультрамікромомі УМТП-4 (Сумське ВО «Електрон», Україна), контрастували у насиченому розчині ураніл-ацетату та розчині цитрату свинцю за Рейнольдсом [13], монтували на електролітичні сіточки та вивчали за допомогою електронного мікроскопа EM-125 (Сумське ВО «Електрон», Україна) при збільшенні $\times 8000$ – 20000 залежно від завдання. Для фотофіксації мікропрепаратів використовували висококонтрастну фототехнічну плівку Maco EMFilms («Maco Photo Products», ФРН).

Результати опрацювали методами дескриптивної статистики, навели як середнє арифметичне \pm стандартна помилка середнього (SEM). Міжгрупові відмінності проаналізували за допомогою критерію Стьюдента, one-way ANOVA та post-hoc тесту Тьюкі на рівні вірогідності $p < 0,05$ [14]. Застосували програми IBM SPSS Statistics v. 22 (IBM Corp., США) та MS Excel 2016 (Microsoft Corp., США).

Результати

Електронномікроскопічне дослідження препаратів інтактних тварин показало задовільне збереження тканини, ультраструктурна організація якої відповідає сучасним уявленням [15]. Внутрішня поверхня судин вкрита фенестрованим ендотелієм, із фенестрами, що затягнуті мембранами. Іноді цитоплазма ендотеліальних клітин виглядала набряклою. Судини заповнені дрібно-гранулярною електронноконтрастною речовиною – сироваткою крові. В капілярному просторі виявили окремі еритроцити та їхні складжі, траплялися тромбоцити та лейкоцити. Це вказувало на нормальну мікроциркуляцію в гломерулярних капілярах.

Судини обмежені базальними мембранами, що мали тришарову структуру: електроннощільний центральний

шар – щільна пластинка («lamina densa»), а також два прозоріших шари, що лежали по обидва боки від центрального, – розріджена внутрішня («lamina rara interna») та розріджена зовнішня («lamina rara externa») пластинки. Із зовнішнього боку на базальній мембрані визначили ніжки подоцитів першого та другого порядків – трабекули та цитоподії, між якими виявили тонку діафрагму (рис. 1А). В мезангіальному просторі – подоцити, що мали ядро неправильної форми з темною каймою гетерохроматину, а також з електроннощільними кон'югатами конденсованого в центральній зоні гетерохроматину (пластивчастих скупчень) і помірним вмістом еухроматину. Це вказувало на низьку синтетичну активність цих клітин. Ядерця здебільшого крупносітчасті. Цитоплазма подоцитів мала багато світлих рибосом і полісом, також визначили довгі профілі гранулярної ендоплазматичної сітки (ЕПС), у петлях якої були мітохондрії (рис. 1Б).

Під час дослідження ультраструктури нирок тварин групи КП виявили виражені патологічні зміни. Фенестрований ендотелій із внутрішнього боку капілярної стінки у багатьох місцях відшаровувався від базальної мембрани. Ендотеліоцити мали вузьку темну цитоплазму з мітохондріями, короткими профілями гранулярної ЕПС, рибосомами, великою кількістю везикул, що містили субстанцію середньої електронної щільності, та вакуолей із білковоподібною речовиною (рис. 2А). Це свідчило про високу інтенсивність синтетичних процесів у цих клітинах.

У капілярному просторі не виявили електронноконтрастні речовини. Це свідчило про наявність плазми крові з низьким вмістом білка; електронна щільність у просвіті капілярів і Боуменовій капсулі однакова (рис. 2А, 2Б). Це пояснюється порушенням ниркової гемодинаміки та постійним виходом великої кількості білка в первинну сечу, що зумовлено деструкцією ниркового фільтра, відшаруванням ендотеліоцитів і підвищенням проникності стінки капілярів.

Структура базальної мембрани нечітка, з локальними потовщеннями, на яких визначили різну електронну щільність, подекуди зберігалася тришаровість, шару глікокаліксу інколи не було. В місцях відшарування ендотелію базальна мембрана витончена, lamina rara interna майже немає, lamina rara externa помірно потовщена внаслідок субепітеліальних скупчень мембраноподібної речовини, що, імовірно, була матеріалом знов синтезованої базальної мембрани (рис. 2А, 2Б).

Істотні зміни виявили в подоцитах. Ядра містили переважно еухроматин і трохи гетерохроматину (тонка осміофільна смужка біля ядерної мембрани). У цитоплазмі визначили чимало вакуолізованих пластинчатих комплексів Гольджі, багато мітохондрій, вакуолей, фагосом, розширені профілі шорсткуватої ЕПС, що містили білковоподібний продукт (рис. 2Б). Все це свідчило про інтенсивні процеси синтезу вуглеводно-білкових сполук.

У цитотрабекулах виявили волокнисті структури, орієнтовані вздовж довгої осі. У деяких із них були темні волокнисті маси, що можна визначити як фагоцитовані

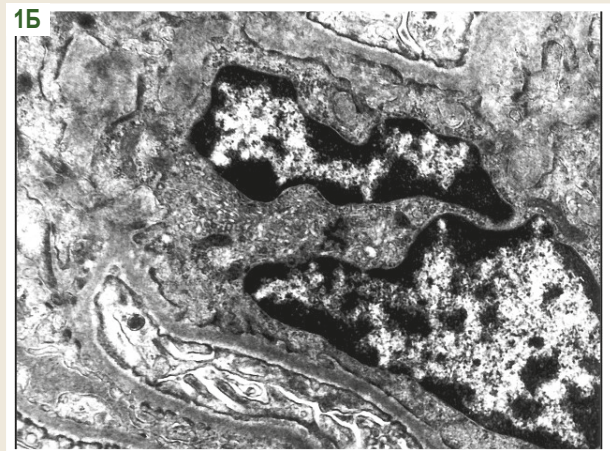
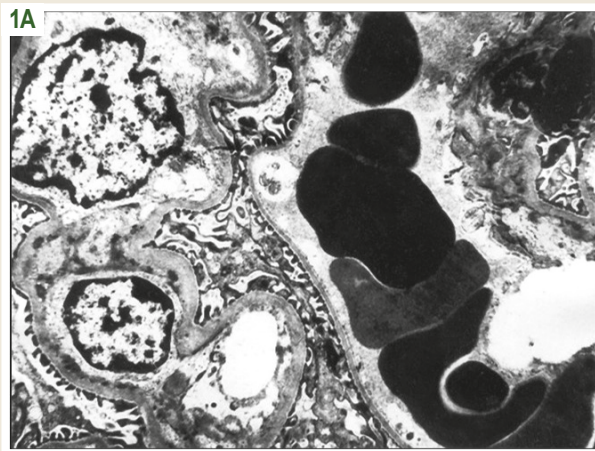


Рис. 1. Ультраструктура нирок інтактних щурів. **А:** типова ділянка ниркового фільтру (базальна мембрана з внутрішнього боку вкрита фенестрованим ендотелієм, з зовнішнього – цитоподіями подоцитів; капіляри заповнені сироваткою крові та еритроцитами, $\times 8000$); **Б:** подоцит із ядром, що містить темну смужку гетерохроматину вздовж нуклеолеми, і помірним вмістом еухроматину; у цитоплазмі багато рибосом і полісом, довгі профілі гранулярної ЕПС. $\times 20000$.

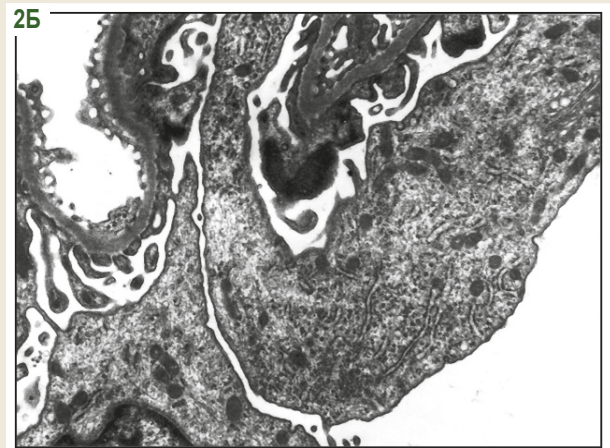
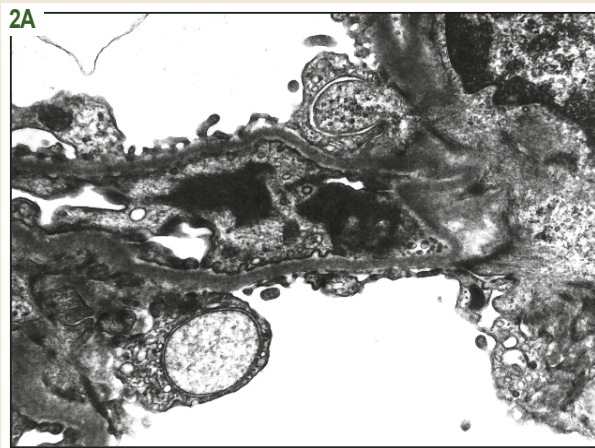


Рис. 2. Ультраструктура нирок щурів із нирковою недостатністю. **А:** капіляр, заповнений плазмою із низьким вмістом білка, ендотелій відшаровується від базальної мембрани, $\times 20000$; **Б:** пластинка подоцит із цитоплазмою, що містить багато мітохондрій, комплексів Гольджі, вакуолей, фагосом, розвинутих профілів гранулярної ЕПС. $\times 16000$.

субепітеліальні депозити фібрину (рис. 2А). Частка цитотрабекул виявлена безпосередньо на базальній мембрані, а в нормі з нею мають контактувати цитоподії подоцитів. Цитотрабекули ущільнені та деформовані, зливалися з прошарком рихлої зернистої речовини, що вкривала зовні базальну мембрану; субподоцитарного простору подекуди не було (рис. 2А, 2Б).

ВНО 2103 виявляла виражену протекторну дію на ультраструктуру нирок щурів із нирковою недостатністю, виявили картину з невеликими патологічними проявами. На відміну від групи КП, базальні мембрани зберегли тришаровість із високою щільністю середнього шару, вони рівномірні за товщиною, без помітних явищ складчастості, розшарування та накопичення фібриноподібних мас (рис. 3А). Ендотелій капілярів подекуди прилягав нещільно, але без явищ масового відшаровування. Цитоплазма ендотеліоцитів подекуди мала ознаки набрякості. У просвіті капілярів визначили плазму з нормальним

вмістом білкової речовини, а також форменні елементи; це свідчить про нормальний стан гломерулярної гемодинаміки (рис. 3А). У подоцитах визначили ядра з тонкою осміофільною каймою гетерохроматину та помірною кількістю еухроматину, розташованого в товщі ядра. У цитоплазмі встановили багато везикул, фагосом, полісом, розширених профілів шорсткуватої ЕПС і вакуолізованих пластинчастих комплексів Гольджі, що подекуди займали чималий об'єм (рис. 3Б).

Усе це свідчило про активність процесів синтезу сполук білково-вуглеводної природи, до яких належать мембранні структури нефронів. Цитоподії подоцитів здебільшого зберегли нормальну загальну структуру (рис. 3А), але подекуди нещільно прилягали один до одного та мали незначні деформації (рис. 3Б). У деяких мікропрепаратах виявили нерівномірність електронної щільності базальної мембрани, нещільне прилягання до неї ендотеліальних клітин або їхню відсутність, у цитотрабекулах

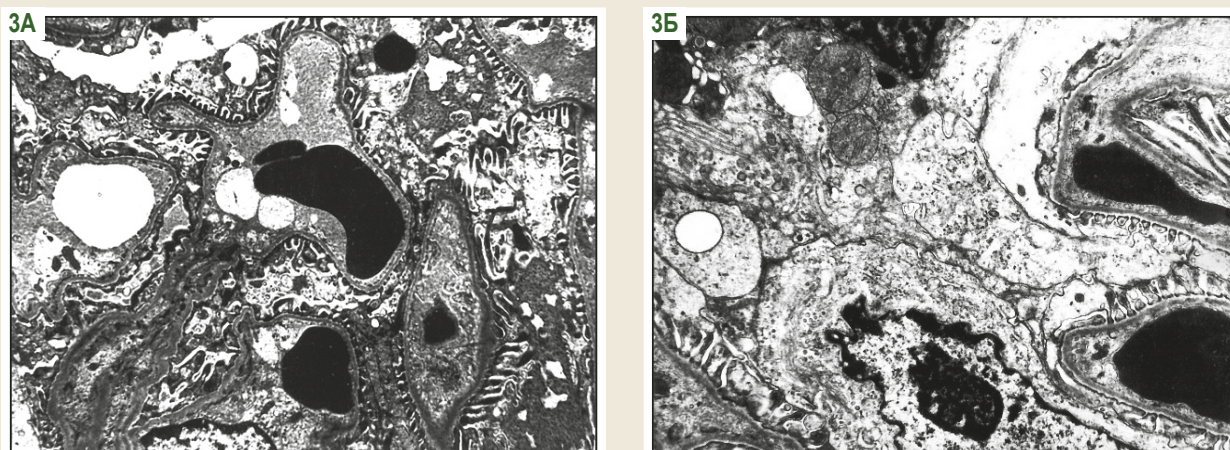


Рис. 3. Ультраструктура нирок щурів із нирковою недостатністю під впливом BNO 2103. **А:** нирковий фільтр із незначними змінами, капіляр заповнений плазмою крові з нормальним вмістом білка, несуттєве відшарування та набряклість цитоплазми ендотеліоцитів, $\times 8000$; **Б:** у цитоплазмі подоцитів – великі мітохондрії, комплекси Гольджі, розвинута гранулярна ЕПС, волокнисті структури, ядра з помірною кількістю еухроматину. $\times 12000$.

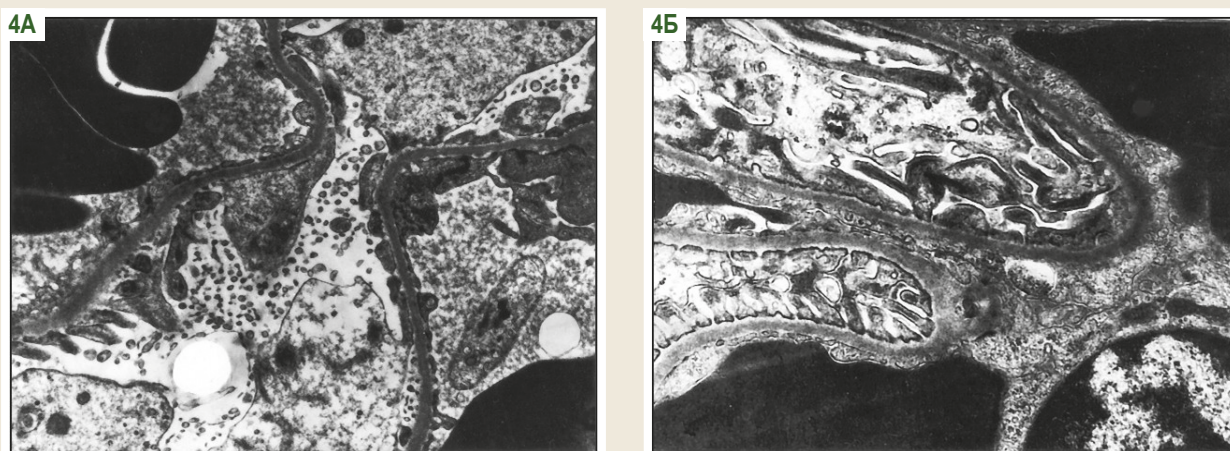


Рис. 4. Ультраструктура нирок щурів із нирковою недостатністю під впливом преднізолону. **А:** помірна деформація структури ниркового фільтра, в капілярах – плазма крові з нормальним вмістом білка, виражена набряклість ендотелію, $\times 16000$; **Б:** фібриноподібна речовина на базальній мембрані, деформація цитоподіїв. $\times 20000$.

подоцитів визначили мікрОВОЛОКОНА і темні волокнисті маси, що можна вважати речовинами новоствореної мембрани (рис. 3Б). Ознаки гломерулосклерозу незначні, мезангіальний матрикс – із несуттєвими змінами, без виражених явищ проліферації мезангіоцитів і накопичення фібриноподібної речовини. Цей патерн може свідчити про активацію компенсаторних механізмів відновлення пошкоджених структур ниркового фільтра під впливом BNO 2103.

У разі застосування компаратора преднізолону виявили протекторний вплив меншого ступеня, ніж у попередній групі. В ультраструктурному патерні визначили патологічні зміни помірного ступеня. Судини в задовільному стані, заповнені сироваткою крові з достатнім вмістом білкових речовин, наявністю формених елементів: еритроцитів, тромбоцитів тощо (рис. 4А, 4Б). Базальна мембрана зберігала тришаровість, але подекуди мала недостатньо чітку структуру, будова цитоподіїв

подоцитів пошкоджена (рис. 4А). В окремих судинах встановили набряк цитоплазми ендотеліоцитів, відшарування ендотелію. Ядра подоцитів неправильної форми, містили помірну кількість еухроматину. В цитоплазмі виявили короткі профілі ЕПС, добре розвинутий комплекс Гольджі; це свідчить про перебіг білковосинтетичних процесів (рис. 4А). В окремих випадках на базальних мембранах визначили накопичення фібриноподібної речовини, на поверхні виявили цитотрабекули замість цитоподіїв, не визначили субподоцитарний просвіт; це вказувало про дистрофію подоцитарних відростків (рис. 4Б).

Обговорення

Такий ефект BNO 2103 може бути зумовлений наявністю біологічно активних речовин, що містяться в основних компонентах засобу: листі розмарину, корені любистку та трави золототисячника [2]. Розмарин містить такі

діючі речовини, як флавоноїди, фенольні кислоти, педрусім розмаринову, кофеїнову та хлорогенову, а також ди- і тритерпеноїди: карнозову й олеанолову кислоти, розмарихінон, урсолову кислоту та пікросальвін (карнозол). Доведено, що розмарин має антиоксидантну, протизапальну, антинефротоксичну, антигенотоксичну, протимікробну та протипухлинну дії [16].

У низці досліджень показано позитивний вплив розмаринової кислоти (РК) на патологічні процеси в нирках. Так, РК мала суттєві антиоксидантний і протизапальний ефекти на моделі гострої діетилнітрозамінової нефротоксичності [17]. В експериментальному дослідженні з моделюванням діабетичної нефропатії в щурів показано: монотерапія РК може запобігти відшаруванню подоцитів [18]; це збігається з результатами нашого дослідження. Комбінація РК із рабдозійном може позитивно впливати на перебіг нефриту Мазугі [19]. У дослідженні Н. Ozturk et al. розмаринова кислота запобігала ішемії/реперфузії в нирках, зменшуючи оксидативний стрес [20]. Подібні механізми виявлені в експерименті з гентаміциновою нефротоксичністю в щурів, де РК зменшувала її прояви внаслідок збільшення вмісту глутатіону в нирках та підвищення активності ниркових антиоксидантних ферментів [21].

Нефропротекторний ефект засобу здійснюється також завдяки біологічно активним субстанціям, що містяться в інших його компонентах. Відомо, що фталіди (одна з головних груп природних сполук, що містяться в ефірних оліях *Levisticum officinale* W.D.J. Koch) характеризуються різнобічною біологічною активністю: антибактеріальною, протигрибковою, інсектицидною, цитотоксичною, протизапальною [22]. Отже, лігустилід (представник димерного фталіду) має протизапальну, антиоксидантну й антиапоптотичну дію. Експериментально на щурах із діабетичною нефропатією виявили: лігустилід зменшує пошкодження подоцитів і має нефропротекторний ефект [23].

Із коріння *Levisticum officinale* W.D.J. Koch, як і з листя розмарину, виділили хлорогенову, кофеїнову, ферулову та розмаринову кислоти, що характеризуються антиоксидантними властивостями, а найсильніший антиоксидантний ефект має РК [24]. Кофеїнова кислота може стримувати прогресування ниркових захворювань, асоційованих із пошкодженням ендотелію внаслідок оксидативного стресу [25]. Є відомості, що тетраметилпіразин, який також міститься у цій рослинній сировині, полегшує перебіг діабетичної нефропатії шляхом нормалізації вуглеводного, протеїнового та азотистого метаболізму, а також редукції оксидативного стресу [26].

Отже, можна припустити, що всі складові BNO 2103 потенціюють дії один одного, оскільки кожен компонент містить терпеноїди, флавоноїди, феноли, фенольні кислоти тощо.

Висновки

1. Під час лікування тварин із нирковою недостатністю стандартизованою рослинною композицією BNO 2103

спостерігали нормалізацію ультраструктурної картини нирок та наближення її до інтактного контролю з незначними патологічними ознаками. Так, виявили зменшення ознак деструкції базальних мембран, поліпшення будови органел, посилення метаболічних процесів у подоцитах та ендотеліальних клітинах, а також зменшення проявів у них дегенеративно-дистрофічних змін.

2. За впливом на ультраструктуру нирок щурів із нирковою недостатністю BNO 2103 перевершив референс-препарат преднізолон.

3. Ефект засобу, що дослідили, імовірно, зумовлений наявністю в його складі біологічно активних речовин (фенольні кислоти, флавоноїди, фталіди, терпеноїди тощо) з сильною антиоксидантною, протизапальною, нефропротекторною активностями. Це підтверджено результатами подібних експериментальних досліджень.

4. BNO 2103 можна вважати перспективним нефропротекторним засобом для використання під час лікування хронічної хвороби нирок.

Перспективи подальших досліджень. Експериментальні результати разом із попередніми даними є підґрунтям для планування та здійснення клінічного етапу вивчення стандартизованого рослинного лікарського засобу BNO 2103 з метою його включення до терапевтичних схем лікування пацієнтів із ХХН.

Подяки

Автори висловлюють подяку компанії Bionorica SE (ФРН) за надання субстанції для дослідження, д. мед. н., професору, заслуженому діячу науки і техніки України, директору ҚДЦ НФаУ І. А. Зупанцю, співробітникам та керівнику ННІПФ НФаУ (м. Харків, Україна), кафедрі клінічної фармакології та клінічної фармації НФаУ (м. Харків, Україна) за підтримку та надання матеріально-технічної бази для здійснення досліджень.

Конфлікт інтересів: відсутній.

Conflicts of interest: authors have no conflict of interest to declare.

Відомості про авторів:

Черних В. В., здобувач наукового ступеня доктора філософії з медицини, каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: [0000-0003-2023-5790](https://orcid.org/0000-0003-2023-5790)

Зупанець К. О., д-р фарм. наук, професор, зав. каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: [0000-0002-3458-4273](https://orcid.org/0000-0002-3458-4273)

Шебеко С. К., д-р фарм. наук, професор каф. клінічної фармакології та клінічної фармації, Національний фармацевтичний університет, м. Харків, Україна.
ORCID ID: [0000-0001-9350-7588](https://orcid.org/0000-0001-9350-7588)

Information about authors:

Chernykh V. V., MD, Postgraduate student of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Zupanets K. O., PhD, DSc, Professor, Head of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Shebeko S. K., PhD, DSc, Associate Professor of the Department of Clinical Pharmacology and Clinical Pharmacy, National University of Pharmacy, Kharkiv, Ukraine.

Список літератури

- [1] Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017 / GBD Chronic Kidney Disease Collaboration. *Lancet*. 2020. Vol. 395, Iss. 10225. P. 709-733. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30045-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30045-3)
- [2] Treatment of Urinary Tract Infections with Canephron® in Germany: A Retrospective Database Analysis / M. Höller, H. Steindl, D. Abramov-Sommariva et al. *Antibiotics*. 2021. Vol. 10, Iss. 6. P. 685. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060685>
- [3] Shebeko S. K., Chernykh V. V., Zupanets K. O. Nephroprotective Effect of the Herbal Composition BNO 2103 in Rats with Renal Failure. *Scientia Pharmaceutica*. 2020. Vol. 88, Iss. 4. P. 1-12. <https://doi.org/10.3390/scipharm88040047>
- [4] Faith R. E., Allen K. P., Hessler J. R. Housing and Environment. *The Laboratory Rat* / eds.: M. A. Suckow et al. 3rd ed. London: Academic Press, 2020. P. 349-417. <https://doi.org/10.1016/C2017-0-01188-6>
- [5] EUR-Lex – 02010L0063-20190626 – EN – EUR-Lex. Directive 2010/63/EU of the European Parliament and of the Council of 22 September 2010 on the protection of animals used for scientific purposes (Text with EEA relevance) / European Parliament & European Council. 2010. P. 33-79. URL: <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26>
- [6] Appel G. B., D'Agati V. D. Primary and Secondary (Non-Genetic) Causes of Focal and Segmental Glomerulosclerosis. *Comprehensive Clinical Nephrology* / eds.: J. Feehally, J. Floege, M. Tonelli, R. J. Johnson. ed. 6th. Philadelphia: Elsevier, 2019. P. 219-231e1.
- [7] Shebeko S., Zupanets I., Zimina M. Dose-dependent efficacy of the N-acetylglucosamine and quercetin combination in rats with renal failure. *Acta Pharmaceutica Scientia*. 2020. Vol. 58, Iss. 2. P. 154-168.
- [8] Wedeen R. P., Qian L. F. Chromium-induced kidney disease. *Environmental health perspectives*. 1991. Vol. 92. P. 71-74. <https://doi.org/10.1289/ehp.92-1519395>
- [9] Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials / U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Drug Evaluation and Research (CDER). 2005. P. 6-25. URL: <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/estimating-maximum-safe-starting-dose-initial-clinical-trials-therapeutics-adult-healthy-volunteers>
- [10] Flecknell P. A. *Laboratory Animal Anesthesia*. 4th ed. London: Academic Press, 2015.
- [11] Exbrayat J. M. General techniques in electron microscopy. *Histochemical and cytochemical methods of visualization* / ed. J. M. Exbrayat. Boca Raton: CRC Press, 2013. P. 223-236.
- [12] Bozzola J. J. Conventional specimen preparation techniques for scanning electron microscopy of biological specimens. *Electron microscopy: methods and protocols. Methods in molecular biology* / ed. J. Kuo. New York: Humana Press, 2014. Vol. 1117. P. 133-150.
- [13] Hendricks G. M. Metal shadowing for electron microscopy. *Electron microscopy: methods and protocols. Methods in molecular biology* / ed. J. Kuo. New York: Humana Press, 2014. Vol. 1117. P. 73-93.
- [14] Islam M. A., Al-Shiha A. *Foundations of Biostatistics*. Singapore: Springer, 2018. P. 39-46, 346-368. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8627-4>
- [15] Mescher A. L. *Junqueira's basic histology: text and atlas*. 15th ed. New York: McGraw-Hill Education, 2018.
- [16] An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae) / A. Begum, S. Sandhya, S. Shaffath Ali et al. *Acta scientiarum polonorum. Technologia alimentaria*. 2013. Vol. 12, Iss. 1. P. 61-73.
- [17] Nephroprotective effect of green tea, rosmarinic acid and rosemary on N-diethylnitrosamine initiated and ferric nitrilotriacetate promoted acute renal toxicity in Wistar rats / M. A. El-Desouky, M. H. Mahmoud, B. Y. Riad, Y. M. Taha. *Interdisciplinary toxicology*, 2019. Vol. 12, Iss. 2. P. 98-110. <https://doi.org/10.2478/intox-2019-0012>
- [18] Rosmarinic acid monotherapy is better than the combination of rosmarinic acid and telmisartan in preventing podocyte detachment and inhibiting the progression of diabetic nephropathy in rats / N. Samsu, S. Soeharto, M. Rifai, A. Rudijanto. *Biologics: targets & therapy*. 2019. Vol. 13. P. 179-190. <https://doi.org/10.2147/BTT.S214820>
- [19] High radosiin and rosmarinic acid production in *Eritrichium sericeum* callus cultures and the effect of the calli on masugi-nephritis in rats / Y. V. Inyushkina, V. P. Bulgakov, M. V. Veselova et al. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*. 2007. Vol. 71, Iss. 5. P. 1286-1293. <https://doi.org/10.1271/bbb.60684>
- [20] Protective effects of rosmarinic acid against renal ischaemia reperfusion injury in rats / H. Ozturk, H. Ozturk, E. H. Terzi et al. *JPM. The Journal of the Pakistan Medical Association*. 2014. Vol. 64, Iss. 3. P. 260-265.
- [21] Tavafi M., Ahmadvand H. Effect of rosmarinic acid on inhibition of gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Tissue Cell*. 2011. Vol. 43, Iss. 6. P. 392-397. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.09.001>
- [22] Characterization and Antibacterial Activity of Phthalides from the Roots of the Medicinal Herb *Levisticum officinale* W.D.J. Koch / M. Miran, H. Monsef Esfahani, J. H. Jung et al. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2020. Vol. 19, Iss. 2. P. 182-186. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.112583.13839>
- [23] Ligustilide alleviates podocyte injury via suppressing the SIRT1/NF-κB signaling pathways in rats with diabetic nephropathy / F. Xu, Z. Ye, S. Tao et al. *Annals of translational medicine*. 2020. Vol. 8, Iss. 18. P. 1154. <https://doi.org/10.21037/atm-20-5811>
- [24] Ghaedi N., Pouraboli I., Askari N. Antidiabetic Properties of Hydroalcoholic Leaf and Stem Extract of *Levisticum officinale*: An implication for α-amylase Inhibitory Activity of Extract Ingredients through Molecular Docking. *Iranian journal of pharmaceutical research: IJPR*. 2020. Vol. 19, Iss. 1. P. 231-250. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.15140.12901>
- [25] Caffeic acid, a phenol found in white wine, modulates endothelial nitric oxide production and protects from oxidative stress-associated endothelial cell injury / M. Migliori, V. Cantaluppi, C. Mannari et al. *PLoS one*. 2015. Vol. 10, Iss. 4. P. e0117530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117530>
- [26] Tetramethylpyrazine alleviates diabetic nephropathy through the activation of Akt signalling pathway in rats / U. Rai, R. Kosuru, S. Prakash et al. *European Journal of Pharmacology*. 2019. Vol. 865. P. 172763. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172763>

References

- [1] GBD Chronic Kidney Disease Collaboration (2020). Global, regional, and national burden of chronic kidney disease, 1990-2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. *Lancet*, 395(10225), 709-733. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(20\)30045-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(20)30045-3)
- [2] Höller, M., Steindl, H., Abramov-Sommariva, D., Wagenlehner, F., Naber, K. G., & Kostev, K. (2021). Treatment of Urinary Tract Infections with Canephron® in Germany: A Retrospective Database Analysis. *Antibiotics*, 10(6), 685. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060685>
- [3] Shebeko, S. K., Chernykh, V. V., & Zupanets, K. O. (2020). Nephroprotective Effect of the Herbal Composition BNO 2103 in Rats with Renal Failure. *Scientia Pharmaceutica*, 88(4), 1-12. <https://doi.org/10.3390/scipharm88040047>
- [4] Faith, R. E., Allen, K. P., & Hessler, J. R. (2020). *The Laboratory Rat* (3rd ed., pp. 350-381). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/b978-0-12-814338-4.00010-6>
- [5] Parliament, European & Council, European. (2010). Directive 2010/63/EU on the protection of animals used for scientific purposes. *EU Official Journal*, L276, 33-79. <http://data.europa.eu/eli/dir/2010/63/2019-06-26>
- [6] Appel, G. B., & D'Agati, V. D. (2019). Primary and Secondary (Non-Genetic) Causes of Focal and Segmental Glomerulosclerosis. In J. Feehally, J. Floege, M. Tonelli, R. J. Johnson (Eds.), *Comprehensive Clinical Nephrology* (6th ed., pp. 219-231). Elsevier.
- [7] Shebeko, S., Zupanets, I., & Zimina, M. (2020). Dose-dependent efficacy of the N-acetylglucosamine and quercetin combination in rats with renal failure. *Acta Pharmaceutica Scientia*, 58(2), 154-168.
- [8] Wedeen, R. P., & Qian, L. F. (1991). Chromium-induced kidney disease. *Environmental health perspectives*, 92, 71-74. <https://doi.org/10.1289/ehp.92-1519395>
- [9] Center for Drug Evaluation and Research. (2005, July 6). *Estimating the Maximum Safe Starting Dose in Initial Clinical Trials for Therapeutics in Adult Healthy Volunteers*. U.S. Food and Drug Administration. <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/estimating-maximum-safe-starting-dose-initial-clinical-trials-therapeutics-adult-healthy-volunteers>
- [10] Flecknell, P. A. (2015). *Laboratory Animal Anesthesia* (4th ed.). Academic Press.
- [11] Exbrayat, J. M. (2013). General techniques in electron microscopy. In J. M. Exbrayat (Ed.), *Histochemical and cytochemical methods of visualization* (pp. 223-236). CRC Press.
- [12] Bozzola, J. J. (2014). Conventional specimen preparation techniques for scanning electron microscopy of biological specimens. In J. Kuo (Ed.), *Electron microscopy: methods and protocols. Methods in molecular biology* (Vol. 1117, pp. 133-150). Humana Press.

- [13] Hendricks, G. M. (2014). Metal shadowing for electron microscopy. In J. Kuo (Ed.), *Electron microscopy: methods and protocols. Methods in molecular biology* (Vol. 1117, pp. 73-93). Humana Press.
- [14] Islam, M. A., & Al-Shiha, A. (2018). *Foundations of Biostatistics* (1st ed., pp. 39-46; 346-368). Springer Singapore. <https://doi.org/10.1007/978-981-10-8627-4>
- [15] Mescher, A. L. (2018). *Junqueira's basic histology : text and atlas* (15th ed.). McGraw-Hill Medical.
- [16] Begum, A., Sandhya, S., Shaffath Ali, S., Vinod, K. R., Reddy, S., & Banji, D. (2013). An in-depth review on the medicinal flora *Rosmarinus officinalis* (Lamiaceae). *Acta scientiarum polonorum. Technologia alimentaria*, 12(1), 61-73.
- [17] El-Desouky, M. A., Mahmoud, M. H., Riad, B. Y., & Taha, Y. M. (2019). Nephroprotective effect of green tea, rosmarinic acid and rosemary on N-diethylnitrosamine initiated and ferric nitrilotriacetate promoted acute renal toxicity in Wistar rats. *Interdisciplinary toxicology*, 12(2), 98-110. <https://doi.org/10.2478/intox-2019-0012>
- [18] Samsu, N., Soeharto, S., Rifai, M., & Rudijanto, A. (2019). Rosmarinic acid monotherapy is better than the combination of rosmarinic acid and telmisartan in preventing podocyte detachment and inhibiting the progression of diabetic nephropathy in rats. *Biologics : targets & therapy*, 13, 179-190. <https://doi.org/10.2147/BTT.S214820>
- [19] Inyushkina, Y. V., Bulgakov, V. P., Veselova, M. V., Bryukhanov, V. M., Zverev, Y. F., Lampatov, V. V., Azarova, O. V., Tchermoded, G. K., Fedoreyev, S. A., & Zhuravlev, Y. N. (2007). High rambosin and rosmarinic acid production in *Eritrichium sericeum* callus cultures and the effect of the calli on masugi-nephritis in rats. *Bioscience, biotechnology, and biochemistry*, 71(5), 1286-1293. <https://doi.org/10.1271/bbb.60684>
- [20] Ozturk, H., Ozturk, H., Terzi, E. H., Ozgen, U., Duran, A., & Uygun, I. (2014). Protective effects of rosmarinic acid against renal ischaemia/reperfusion injury in rats. *JPMA. The Journal of the Pakistan Medical Association*, 64(3), 260-265.
- [21] Tavafi, M., & Ahmadvand, H. (2011). Effect of rosmarinic acid on inhibition of gentamicin induced nephrotoxicity in rats. *Tissue and Cell*, 43(6), 392-397. <https://doi.org/10.1016/j.tice.2011.09.001>
- [22] Miran, M., Monsef Esfahani, H., Jung, J. H., Aliahmadi, A., Skropeta, D., Abbas-Mohammadi, M., Nejad Ebrahimi, S., & Moridi Farimani, M. (2020). Characterization and Antibacterial Activity of Phthalides from the Roots of the Medicinal Herb *Levisticum officinale* W.D.J. Koch. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 19(2), 182-186. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.112583.13839>
- [23] Xu, F., Fang, X., Ye, Z., & Tao, S. (2020). Ligustilide alleviates podocyte injury via suppressing the SIRT1/NF- κ B signaling pathways in rats with diabetic nephropathy. *Annals of Translational Medicine*, 8(18), 1154-1154. <https://doi.org/10.21037/atm-20-5811>
- [24] Ghaedi, N., Pouraboli, I., & Askari, N. (2020). Antidiabetic Properties of Hydroalcoholic Leaf and Stem Extract of *Levisticum officinale*: An implication for α -amylase Inhibitory Activity of Extract Ingredients through Molecular Docking. *Iranian journal of pharmaceutical research : IJPR*, 19(1), 231-250. <https://doi.org/10.22037/ijpr.2020.15140.12901>
- [25] Migliori, M., Cantaluppi, V., Mannari, C., Bertelli, A. A., Medica, D., Quercia, A. D., Navarro, V., Scatena, A., Giovannini, L., Biancone, L., & Panichi, V. (2015). Caffeic acid, a phenol found in white wine, modulates endothelial nitric oxide production and protects from oxidative stress-associated endothelial cell injury. *PLoS one*, 10(4), e0117530. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0117530>
- [26] Rai, U., Kosuru, R., Prakash, S., Tiwari, V., & Singh, S. (2019). Tetramethylpyrazine alleviates diabetic nephropathy through the activation of Akt signalling pathway in rats. *European Journal of Pharmacology*, 865, 172763. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172763>