

На правах рукописи

**ФИЛИНОВА**

**Светлана Олеговна**

**ФАРМАКОЛОГИЧЕСКАЯ КОРРЕКЦИЯ  
ОКСИДАТИВНОГО ПОВРЕЖДЕНИЯ ПОЧЕК  
ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ САХАРНОМ ДИАБЕТЕ  
(экспериментальное исследование)**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2026

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации

**Научный руководитель:**

доктор биологических наук,  
доцент

**Жариков Александр Юрьевич**

**Официальные оппоненты:**

**Ваизова Ольга Евгеньевна**, доктор медицинских наук, профессор, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии, заведующий кафедрой

**Зайцева Елена Николаевна**, доктор медицинских наук, доцент, Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Самарский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, кафедра фармакологии имени заслуженного деятеля науки РФ профессора А.А. Лебедева, профессор кафедры

**Ведущая организация:**

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Волгоградский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Волгоград

Защита состоится «\_\_\_»\_\_\_\_\_ 2026 г. в \_\_\_ часов на заседании диссертационного совета 24.1.215.02, созданного на базе Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», по адресу: 634028, г. Томск, пр. Ленина 3, Научно-исследовательский институт фармакологии и регенеративной медицины имени Е.Д. Гольдберга

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке и на сайте Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук», адрес сайта <http://www.tnimc.ru>

Автореферат разослан «\_\_\_»\_\_\_\_\_ 2026 г.

Ученый секретарь  
диссертационного совета,  
доктор медицинских наук

**Минакова Мария Юрьевна**

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

**Актуальность темы исследования.** Диабетическая нефропатия (ДН) – одно из наиболее распространенных и тяжелых осложнений сахарного диабета (СД). По современным данным, у 30-40% больных СД развивается ДН, которая является лидирующей причиной терминальной почечной недостаточности и 3-й в ряду главных причин смертности от СД [Дедов И.И. и соавт., 2017; Багрий А.Э. и соавт., 2022; Глухова А.В. и соавт., 2024; Alicic R.Z. et al., 2017; Vikbov V. et al., 2017; Ogurtsova K. et al., 2017]. Профилактика и эффективная терапия ДН на ее ранних стадиях может способствовать продлению и сохранению качества жизни больных, страдающих СД. В этой связи наряду с использованием базовой сахароснижающей терапии при СД высокую актуальность сохраняет разработка и внедрение новых направлений таргетного фармакологического воздействия на внутриренальные мишени патогенеза ДН.

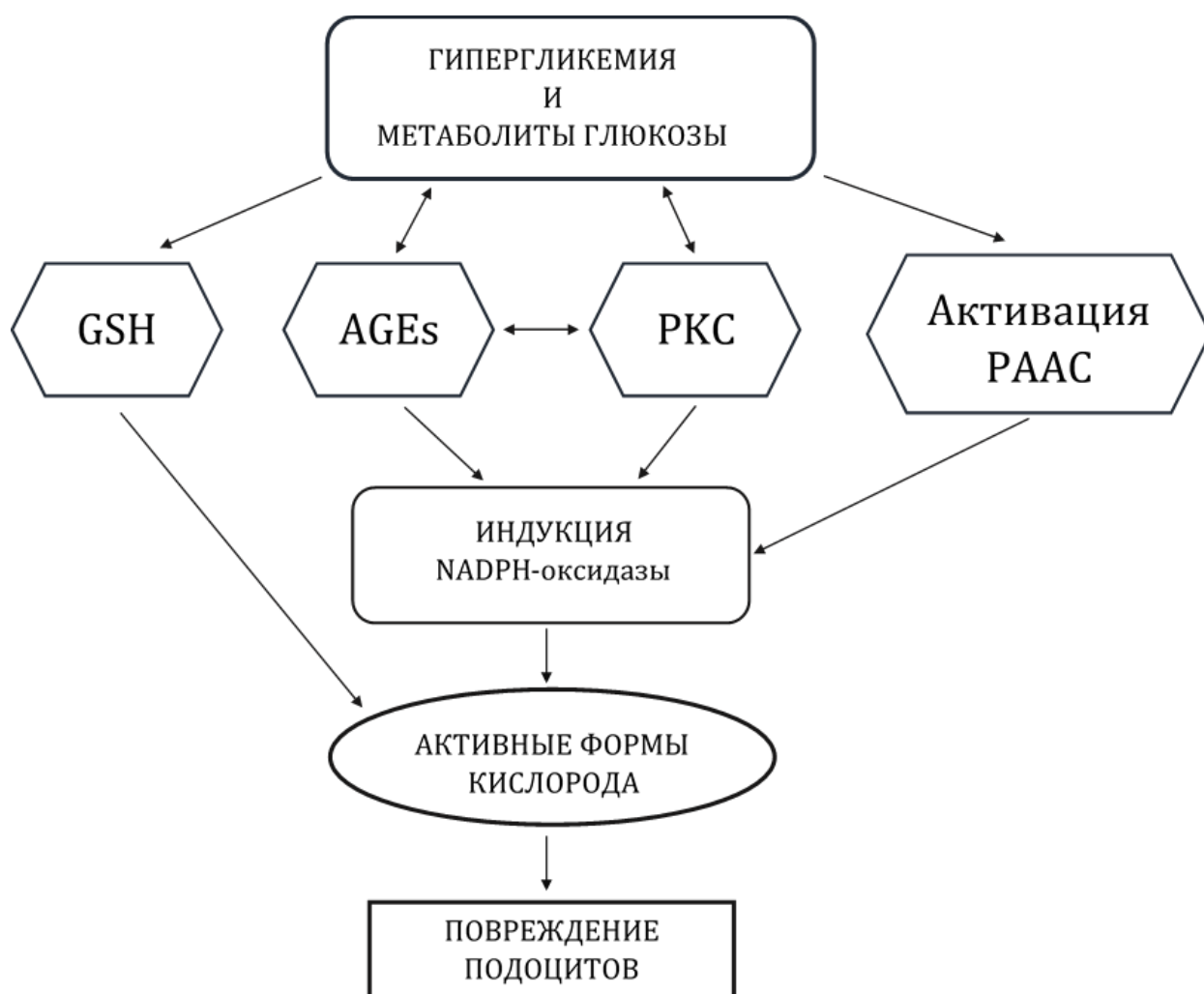
Следует отметить, что патогенез ДН очень сложен и до сих пор не до конца изучен, что приводит к плохим результатам лечения. Было показано, что стандартная терапия со строгим контролем уровня сахара в крови и артериального давления не способна остановить прогрессирование ДН до терминальной стадии почечной недостаточности [Arora M.K. et al., 2013] и смертность, связанную с ДН [Kopel J. et al., 2019]. Улучшение понимания и изучение патогенетических механизмов ДН имеет важное значение для разработки новых стратегий лечения ДН.

Важная патогенетическая роль оксидативного стресса в развитии диабетической нефропатии сегодня общепризнана [Magee C. et al., 2017; Samsu N., 2021; Mohandes S. et al., 2023]. Активация свободнорадикального окисления (СРО) в почках на фоне сахарного диабета показана во многих работах. Однако механизмы развития оксидативного повреждения почечного клубочка довольно разнообразны. Они могут быть прямые и опосредованные (Рисунок 1).

Принято считать, что в условиях сахарного диабета глюкоза и ее метаболиты в моче могут напрямую подавлять активность клеточных антиоксидантов, таких как глутатион [Bhatti A.V. et al., 2015]. Кроме того, активация СРО может происходить и опосредованно. Так, например, глюкоза может провоцировать образование из ренальных белков конечных продуктов гликирования, которые, как известно, являются мощнейшими оксидантами при сахарном диабете. Кроме того, может активироваться ренин-ангиотензин-альдостероновая система. Эти 2 механизма способствуют индукции NADPH-оксидазы с последующим изменением функций митохондрий и образованием активных форм кислорода (АФК) [Bhatti A.V. et al., 2015]. Под влиянием активных форм кислорода, происходят функциональные и морфологические изменения подоцитов, в основном включая гипертрофию подоцитов, эпителиально-мезенхимальную трансдифференцировку, отслойку подоцитов и апоптоз подоцитов, что приводит к нарушению барьерной функции почечного клубочка и развитию протеинурии [Li X. et al., 2023].

Таким образом, по современным представлениям можно выделить 3 основных механизма оксидативного повреждения почек при сахарном диабете:

1. Прямое прооксидантное действие глюкозы и ее метаболитов
2. Активация ренин-ангиотензин-альдостероновой системы
3. Образование конечных продуктов гликирования



Примечание: GSH – глутатион, AGEs – конечные продукты гликирования, ПКС – протеинкиназа С, РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система.

Рисунок 1 – Механизмы развития оксидативного повреждения почек при сахарном диабете (по Bhatti A.V. и Usman M. [Bhatti A.V. et al., 2015])

Однако остается открытым вопрос – подавление какого из трех вышеперечисленных механизмов внутрипочечной оксидации может оказаться наиболее эффективным в лечении ДН? Решение данного вопроса будет способствовать повышению эффективности применения уже существующих лекарственных препаратов и разработке новых более специфических средств с патогенетически обоснованной направленностью действия в лечении ДН.

Настоящее исследование посвящено экспериментальной оценке эффективности коррекции вышеуказанных механизмов оксидативного повреждения почек. Для этого в качестве фармакологических «инструментов» были выбраны препараты с направленным типом действием:

- α-токоферола ацетат – прямой антиоксидант, действие направлено на ингибирование прямого прооксидантного действия глюкозы и ее метаболитов;

- эплеренон – блокатор минералокортикоидных рецепторов, действие направлено на ослабление активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы);

- карнозин – действие направлено на ингибирование образования конечных продуктов гликирования.

#### **Степень разработанности темы исследования.**

Применение антиоксидантов в терапии диабетической нефропатии широко обсуждается. В то же время, имеющиеся сведения порой довольно противоречивы. Так, результаты 12 исследований, включавших 1461 участника, из которых 882 находились под наблюдениями во время лечения антиоксидантами, показали, что несмотря на определенные положительные изменения в общей картине протекания нефропатии, не было выявлено связи между изменением соотношения альбумина в моче и креатинина в сыворотке крови, нежелательными явлениями и частотой смерти при лечении антиоксидантами [Kandhare A.D. et al., 2017]. В другом исследовании показано, что антиоксиданты могут быть эффективны при трех наиболее тяжелых осложнениях сахарного диабета, в том числе – диабетической нефропатии [Zhong O. et al., 2022].

Активно исследуется антиоксидантная активность при диабетической нефропатии различных растительных антиоксидантов: полифенолов, ресверетрола, кверцетина и др. [Salami M. et al., 2022; Sopian S. et al., 2022; Jin Q. et al., 2023]. В то же время хорошо известно, что вещества растительного происхождения обладают комплексными свойствами, обуславливающих лечебный эффект [Nasim N. et al., 2022]. Данных о наиболее эффективных направлениях патогенетически обоснованного фармакологического воздействия на механизмы оксидативного повреждения почек при сахарном диабете и разработанных на их основе новых лекарственных веществах для антиоксидантной терапии диабетической нефропатии в доступной литературе не встречается.

**Цель исследования:** Оценить эффективность патогенетически обоснованной фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при экспериментальном сахарном диабете путем применения  $\alpha$ -токоферола ацетата, эплеренона и карнозина.

#### **Задачи исследования:**

1. Изучить биохимические и морфологические признаки оксидативного повреждения почек в условиях экспериментального сахарного диабета для последующей оценки эффективности фармакологической коррекции: активность процесса свободнорадикального окисления в почках, уровень в моче глюкозы, белка и креатинина, структурное и функциональное состояние почечного клубочка.

2. Изучить эффективность применения прямого антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола ацетата для коррекции повреждения почек при экспериментальном сахарном диабете.

3. Оценить влияние блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона на биохимические и морфологические признаки повреждения почек при экспериментальном сахарном диабете.

4. Изучить нефропротекторную активность карнозина в качестве ингибитора образования конечных продуктов гликирования в почках при экспериментальном сахарном диабете.

**Научная новизна.** В проведенном исследовании впервые изучена эффективность патогенетически обоснованной фармакологической коррекции основных механизмов развития оксидативного повреждения почек при экспериментальном сахарном диабете.

Впервые обнаружено, что прямое антиоксидантное действие  $\alpha$ -токоферола ацетата на глюкозу и ее метаболиты в почках приводит к выраженному ослаблению активности свободнорадикального окисления (пятикратное снижение концентрации ТБРП относительно контрольной группы), однако при этом нефропротекторный эффект не возникает: показатели экскреторной функции почек и патоморфологическая картина нефропатии не отличались от контрольной группы. Это указывает на то, что подавление прямого компонента оксидативного эффекта глюкозы и продуктов ее метаболизма недостаточно для нормализации структуры и функции почечного фильтрационного барьера при сахарном диабете, а опосредованные механизмы оксидации вносят гораздо более существенный вклад в развитие нефропатии и более предпочтительны в качестве мишеней для фармакологической коррекции.

Впервые установлено, что нефропротекторное действие ингибитора минералокортикоидных рецепторов эплеренона и модуляция активности процесса РААС-ассоциированного свободнорадикального окисления в почках между собой не связаны. На фоне применения эплеренона существенно ослаблялась протеинурия и улучшалась патоморфологическая картина нефропатии, но при этом выраженность оксидативного стресса в почках не снижалась, а наоборот, увеличивалась. Это свидетельствует о том, что нефропротекторный эффект при ингибировании минералокортикоидных рецепторов возникает вследствие ослабления геномных эффектов альдостерона, а увеличение активности процесса свободнорадикального окисления в почках в этих условиях возникает из-за компенсаторного увеличения продукции альдостерона и усиления его негеномных мембранных эффектов.

В проведенных экспериментах впервые показана совокупность благоприятных изменений в картине нефропатии на фоне экспериментального сахарного диабета при применении карнозина. Было зафиксировано ослабление оксидативного стресса в почках, снижение концентрации белка в моче, улучшение патоморфологической картины нефропатии, особенно в отношении подоцитов (почти двукратное увеличение по сравнению с контрольной группой).

По результатам проведенного исследования получены новые данные, которые заключаются в том, что наиболее перспективным направлением фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при сахарном диабете является ингибирование образования конечных продуктов гликирования.

**Теоретическая и практическая значимость работы.** Теоретическая значимость работы заключается в появлении новых знаний об эффективности фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при экспериментальном сахарном диабете  $\alpha$ -токоферола ацетатом (прямой антиоксидант), эплереноном (блокатор минералокортикоидных рецепторов), карнозином (ингибитор образования конечных продуктов гликирования). Установлено, что наиболее эффективно ингибирование образования конечных продуктов гликирования карнозином. При этом  $\alpha$ -токоферола ацетат проявляет выраженное прямое антиоксидантное действие, но не облегчает протекание нефропатии, а эплеренон оказывает нефропротекторное действие, однако оксидативный стресс при этом не ослабляется, а напротив, усиливается.

Практическая значимость работы заключается в подтверждении эффективности применения карнозина и эплеренона для фармакологической коррекции повреждения почек при сахарном диабете и в установлении нового побочного эффекта эплеренона – усиления свободнорадикального окисления в почках. В совокупности это создает основу для дальнейших исследований с целью возможного создания новых более эффективных способов комбинированной терапии диабетической нефропатии с применением средств, ослабляющих активность ренин-ангиотензин-альдостероновой системы, и ингибиторов образования конечных продуктов гликирования.

**Методология и методы исследования.** Исследование выполнено с применением методов и технологий, соответствующих современным требованиям экспериментальной фармакологии. Эксперименты на животных и лабораторные исследования выполнены в научных подразделениях ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России.

Манипуляции с лабораторными животными включали моделирование стрептозотоцинового сахарного диабета, введение лекарственных препаратов и эвтаназию для изъятия почек.

Биохимические лабораторные методики включали определение в моче концентрации белка, глюкозы и креатинина, определение в гомогенате почечной ткани показателей оксидативного стресса. Кроме того, проводилась морфологическая оценка структурного и функционального состояния тканей почечного клубочка, определение количества подоцитов.

Полученные результаты подвергались статистической обработке с использованием современных методов статистического анализа.

**Положения, выносимые на защиту:**

1. Применение прямого антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола ацетата на фоне экспериментального сахарного диабета существенно ослабляет биохимические проявления оксидативного стресса в почечной ткани, но при этом не наблюдается облегчения протекания нефропатии.

2. Ослабление активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы в почках путем применения антагониста минералокортикоидных рецепторов эплеренона способствует снижению протеинурии и восстановлению структурного

и функционального состояния почечного клубочка, что происходит на фоне усиления оксидативного стресса в почках.

3. Под влиянием карнозина, применяемого в качестве средства для ингибирования образования конечных продуктов гликирования в почках при экспериментальном сахарном диабете, ослабляется оксидативное повреждение почек и существенно снижаются биохимические и морфологические проявления нефропатии. Наиболее перспективным направлением фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при сахарном диабете является ингибирование образования конечных продуктов гликирования.

**Степень достоверности и апробация результатов.** Высокая степень достоверности результатов подтверждается достаточным объемом экспериментального материала, использованием современных методов исследования и адекватных критериев для статистической обработки результатов.

Результаты диссертационного исследования были доложены на научно-практических мероприятиях различного уровня: Международный медицинский форум Вузовская наука (2019 г.), Научно-практическая конференция «Наукоемкие биомедицинские технологии: от фундаментальных исследований до внедрения» (г. Барнаул, 2019), III межрегиональная научно-практическая конференция (с международным участием) «От биопродуктов к биоэкономике» (г. Барнаул, 2019 г.), 79-международная научно-практическая конференция молодых ученых и студентов «Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины» (г. Волгоград, 2021 г.), Конференция «Формирование навыков исследовательской работы обучающихся медицинских вузов» (г. Барнаул, 2021 г.) и конференциях сотрудников кафедры фармакологии имени профессора В.М. Брюханова Алтайского государственного медицинского университета.

#### **Публикации.**

По материалам диссертации опубликовано 9 научных работ, в том числе 6 статей в журналах, включенных в перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук, из них 4 статьи в изданиях, индексируемых международными реферативными базами данных Scopus, Web of Science; 2 тезисов в материалах конференций; 1 свидетельство о регистрации базы данных.

#### **Структура и объем работы.**

Объем диссертации – 124 страницы компьютерного текста. Включает введение, обзор литературы, материал и методы исследования, результаты и обсуждение собственных исследований, заключение, выводы. Иллюстрирована 14 таблицами и 28 рисунками. Список использованной литературы включает 257 работ, в том числе 239 работ – иностранных авторов.

**Личное участие автора.** Автором лично проведены экспериментальные исследования на животных и определение биохимических показателей. Собраны первичные данные, осуществлена их статистическая обработка. Проведен анализ

полученных результатов. Автор лично осуществляла подготовку научных публикаций по теме исследования и рукопись диссертации.

### **ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ**

**Во введении** приведено обоснование актуальности темы исследования, обозначены цель и задачи, раскрыта научная новизна исследования, а также сформулирована теоретическая и практическая значимость работы.

**В первой главе** представлен обзор отечественных и зарубежных литературных источников. Проведен анализ современных тенденций в эпидемиологии диабетической нефропатии, рассмотрены особенности патогенеза данного заболевания, акцентировано внимание на механизмах развития подоцитопатии и роли оксидативного стресса в данном процессе. Проанализированы патогенетические роли прямого прооксидантного действия глюкозы и ее метаболитов, активации ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и накоплении конечных продуктов гликирования в почках. Рассмотрены современные и перспективные методы фармакологической коррекции диабетической нефропатии.

**Во второй главе** приведено описание материала и методов исследования.

Эксперименты выполнены на 107 крысах-самцах сток Вистар возрастом 2-4 месяца и массой 200-300 г. Крысы были выращены в виварии федерального исследовательского центра «Институт цитологии и генетики» Сибирского отделения Российской академии наук (г. Новосибирск).

Работа с животными осуществлялась с соблюдением принципов гуманности, изложенных в директивах Европейского сообщества (86/609/ЕЕС) и Хельсинкской декларации, в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Исследование одобрено Комитетом по этике ФГБОУ ВО АГМУ Минздрава России (протокол от 21.11.2017 №11).

Дизайн исследования включал 2 этапа. На первом этапе исследования необходимо было воспроизвести стрептозотоциновую модель экспериментального СД и подтвердить развивающееся в данных условиях оксидативное повреждение почек. Кроме того, на первом этапе было важно оценить оптимальные сроки моделирования СД, при которых степень развития патологии позволяет осуществить максимально объективную оценку фармакологического воздействия исследуемых лекарственных препаратов на звенья патогенеза оксидативного повреждения почек при СД.

Распределение лабораторных животных по экспериментальным группам на Этапе №1 представлено в таблице 1.

Моделирование экспериментального СД осуществлялось в соответствии с общепринятой стрептозотоциновой моделью [Lenzen S., 2008]. Для моделирования СД крысам внутрибрюшинно однократно вводился 1 мл раствора стрептозотоцина (производство Applichem, Германия) в цитратном буфере из расчета дозы 65 мг/кг. Предварительно (за 15 минут до введения стрептозотоцина) внутрибрюшинно вводился раствор цитофлавина из расчета

дозировки содержащегося в нем никотинамида 115 мг/кг [Спасов А.А. и соавт., 2011].

При моделировании четырехнедельного СД после введения стрептозотоцина крысы 4 недели находились в индивидуальных клетках, приспособленных для сбора мочи. На исходном уровне и далее еженедельно осуществлялся сбор суточного объема мочи, в которой измерялась концентрация глюкозы, белка и креатинина. По завершении 28 дней эксперимента крыс подвергали эвтаназии и извлекали обе почки для определения показателей оксидативного стресса и для проведения морфологических исследований.

При моделировании 8-месячного СД после введения стрептозотоцина крысы 7 месяцев находились в общих клетках в условиях стандартного лабораторного кормления и питья. В этот период никакие манипуляции с животными не проводились. После этого крысы помещались в индивидуальные клетки, где находились еще 1 месяц, по завершению которого производился сбор суточного объема мочи, в которой измерялась концентрация глюкозы, белка и креатинина. По завершении 8 месяцев эксперимента крыс подвергали эвтаназии и извлекали обе почки для определения показателей оксидативного стресса и для проведения морфологических исследований.

Таблица 1 – Распределение лабораторных животных по экспериментальным группам на Этапе №1

Экспериментальная группа	Условия эксперимента	Количество животных
Интактные (группа сравнения)	Получение эквивалентного количества физиологического раствора	12 крыс
СД 4 недели	Моделирование стрептозотоцинового сахарного диабета в течение 4-х недель	13 крыс
СД 8 месяцев	Моделирование стрептозотоцинового сахарного диабета в течение 8 месяцев	15 крыс

Примечание: СД – сахарный диабет.

На втором этапе предстояло решить основные задачи исследования – изучить влияние  $\alpha$ -токоферола ацетата, эплеренона и карнозина на оксидативное повреждение и экскреторную функцию почек при экспериментальном СД.

Распределение лабораторных животных по группам на Этапе №2 представлено в таблице 2.

В первые 4 недели после введения стрептозотоцина осуществлялось моделирование СД без введения лекарственных препаратов, а затем еще 4 недели – на фоне ежедневного их введения. На исходном уровне и далее еженедельно осуществлялся сбор суточного объема мочи, в которой измерялась концентрация глюкозы, белка и креатинина. По завершении 8 недель эксперимента крыс подвергали эвтаназии и извлекали обе почки для определения показателей оксидативного стресса и для проведения морфологических исследований. Выбор лекарственных препаратов основывался на соответствующих мишенях в патогенезе развития оксидативного повреждения почек при СД.

$\alpha$ -токоферола ацетат – прямой антиоксидант, мишень для его действия – прямое прооксидантное действие глюкозы и продуктов ее биотрансформации [Putt D. et al., 2012]. В экспериментах использовался 10% масляный раствор  $\alpha$ -токоферола ацетата производства ОАО "Фармацевтическая фабрика Санкт-Петербурга", Российская Федерация. Препарат вводился внутривентриально через зонд в дозе 300 мг/кг [Жариков А.Ю. и соавт., 2009].

Эплеренон – нестероидный ингибитор минералокортикоидных рецепторов, мишень его для действия – активация РААС. Эплеренон (Польфарма, Польша) вводили внутривентриально через зонд в дозе 50 мг/кг [Ahn, J.H. et al., 2012].

Карнозин – дипептид, обладающий свойством ингибировать синтез конечных продуктов гликирования белков – известных индукторов оксидативного СД-ассоциированного повреждения почек [Boldyrev A.A. et al., 2013]. В ходе проведения экспериментов карнозин вводился внутривентриально через зонд в дозе 15 мг/кг [Кальницкий А.С. и соавт., 2021]. Химически чистое вещество было предоставлено ЗАО «Эвалар» (г. Бийск, Россия).

Таблица 2 – Распределение крыс по экспериментальным группам на Этапе №2

Экспериментальная группа	Условия эксперимента	Количество животных
Изучение влияния прямого антиоксиданта $\alpha$ -токоферола ацетата на оксидативное повреждение и функцию почек при экспериментальном СД		
Контрольная группа	Моделирование стрептозотоцинового СД в течение 8 недель	10 крыс
Группа $\alpha$ -токоферола ацетата	Моделирование стрептозотоцинового СД в течение 8 недель + ежедневное введение $\alpha$ -токоферола ацетата с 5 по 8 неделю эксперимента	12 крыс
Изучение влияния блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона на оксидативное повреждение и функцию почек при экспериментальном СД		
Контрольная группа	Моделирование стрептозотоцинового СД в течение 8 недель	13 крыс
Группа эплеренона	Моделирование стрептозотоцинового СД в течение 8 недель + ежедневное интрагастральное введение эплеренона с 5 по 8 неделю эксперимента	13 крыс
Изучение влияния ингибитора образования конечных продуктов гликирования карнозина на оксидативное повреждение и функцию почек при экспериментальном СД		
Контрольная группа	Моделирование стрептозотоцинового сахарного диабета в течение 8 недель	8 крыс
Группа карнозина	Моделирование стрептозотоцинового СД в течение 8 недель + ежедневное интрагастральное введение карнозина с 5 по 8 неделю эксперимента	11 крыс

При изучении эффективности патогенетически обоснованных путей фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при сахарном диабете в ходе экспериментов определялись: уровень диуреза (мл/сутки), концентрация глюкозы в моче (мкмоль/мл), концентрация белка в моче (мг/мл), концентрация креатинина в моче (мкмоль/мл).

Все указанные показатели определялись на автоматическом биохимическом анализаторе DIRUI CS-T 240 (производитель Dirui Industriak Co, Ltd, Китай) с использованием стандартных наборов реагентов «ГЛЮКОЗА ДиаС» (производитель АО «ДИАКОН-ДС», Российская Федерация), «ОБЩИЙ БЕЛОК ДиаС» (производитель АО «ДИАКОН-ДС», Российская Федерация), «КРЕАТИНИН ДиаС» (производитель АО «ДИАКОН-ДС», Российская Федерация) и соответствующих методик.

Выраженность оксидативного стресса в почках оценивали по совокупности показателей прооксидантного (концентрация тиобрабитуракреактивных продуктов (ТБРП) и общая прооксидантная активность (ОПА)) и антиоксидантного статусов (общая антиоксидантная активность (ОАА) и показатели активности отдельных ферментов: каталазы (КАТ), супероксиддисмутазы (СОД) и глутатионпероксидазы (ГПО)). Указанные показатели определялись фотометрически с использованием ранее отработанных методик [Рытикова О.С. и соавт., 2004, Брюханов В.М. и соавт., 2013].

При проведении морфологических исследований почки крыс фиксировали в 10%-ном нейтральном формалине, а затем и получали срезы толщиной 2-4 мкм на полуавтоматическом роторном микротоме Accu-Cut SRM (Sakkura, Япония). От каждой почки забирали по 3-4 препарата с обеих сторон, в которых оценивали по 20-25 почечных клубочков. Все препараты фотографировали цифровым фотоаппаратом при различных увеличениях для полноценного представления о том, на каком уровне расположены клубочки. Работали с участками нефрона, которые располагались на одном уровне и были приближены к форме круга, исключали работу с клубочками, у которых форма была вытянута (деформирована). Окрашивали гематоксилином и эозином в приборе для автоматической окраски микропрепаратов TISSUE-TEK Primsa (Sakkura, Япония). При помощи морфометрического метода измеряли площадь почечных клубочков и площадь просветов капилляров, а после обработки на компьютере цифровых фотографий оценили суммарную площадь сосудистого русла и площадь мезангия в почечных клубочках.

Статистическую обработку результатов проводили с применением описательной непараметрической статистики, используя программный пакет Statistica 12.0 для Windows. Результаты биохимических исследований представлены в виде медианы и интерквартильного размаха (Me (25%;75%)). Результаты морфометрических исследований представлены в виде среднего значения и стандартной ошибки среднего ( $M \pm m$ ). Статистическую значимость различия значений зависимых выборок оценивали при помощи непараметрического критерия Вилкоксона. Статистическую значимость различий значений независимых выборок оценивали при помощи непараметрического

критерия Манна-Уитни. Различия показателей признавались статистически значимыми при уровне  $p < 0,05$  [Хафазиянова Р.Х. и соавт., 2006].

**В третьей главе** диссертационной работы изложены результаты и обсуждение собственных исследований. На первом этапе исследования была воспроизведена стрептозотоциновая модель экспериментального СД, изучены показатели экскреторной функции почек и активности процесса свободно-радикального окисления в почках, изучена патоморфологическая картина почечных тканей. Проведено сравнение биохимических и морфологических признаков повреждения почек на ранних сроках моделирования СД (4 недели) и поздних сроках (8 месяцев).

Было установлено, что при моделировании четырехнедельного СД уровень экскреции глюкозы с мочой у крыс увеличился к концу 4 недели относительно исходного уровня в 4,8 раза: 8,7 (4,7; 20,9) и 1,8 (1,6; 2,0) мкмоль/сутки соответственно ( $p < 0,002$ ). По сравнению с интактными крысами величина глюкозурии на 28-й день была больше в 3,2 раза: 8,7 (4,7; 20,9) и 2,7 (1,6; 3,4) мкмоль/сутки соответственно ( $p < 0,001$ ).

Экскреция белка в СД 4 недели также увеличилась – в 1,6 раза относительно исходного уровня к моменту окончания эксперимента: с 11,5 (10,3; 13,4) мг/сутки до 18,0 (13,3; 31,2) мг/сутки, превышая уровень интактных крыс (12,3 (8,1; 14,2) мг/сутки) в 1,5 раза ( $p < 0,05$ ).

На этом фоне в почках крыс группы СД 4 недели было зафиксировано развитие оксидативного стресса (Таблица 3). Так, в сравнении с показателями интактных крыс концентрация ТБРП увеличилась в 1,4 раза, ОПА увеличилась в 1,1 раза, ОАА увеличилась в 1,1 раза, активность СОД увеличилась в 1,3 раза, активность КАТ уменьшилась в 1,4, активность ГПО увеличилась в 1,2 раза.

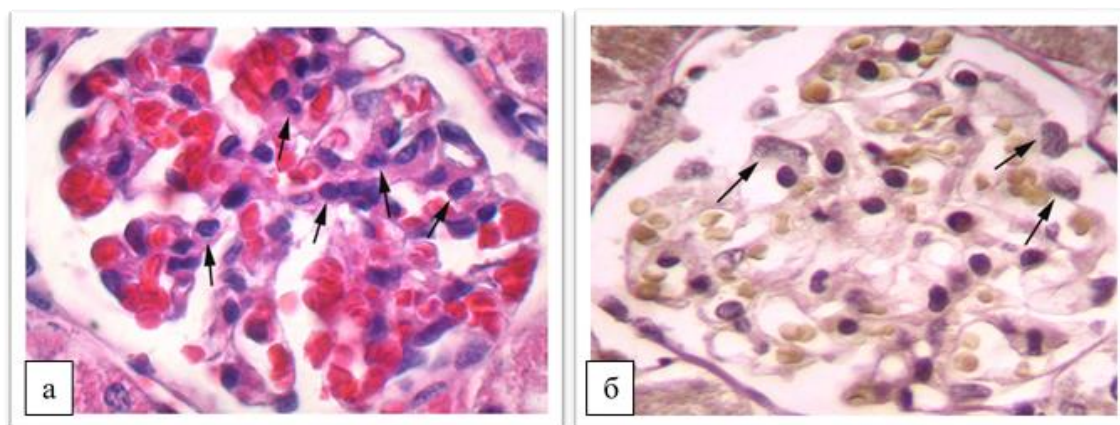
Таблица 3 – Показатели активности процесса свободнорадикального окисления в почках интактных крыс и крыс с четырехнедельным экспериментальным сахарным диабетом

Группа	ТБРП (мкмоль/мг)	ОПА (%)	ОАА (%)	СОД (%)	КАТ (%)	ГПО (%)
Интактные крысы	6,1 (5,4;6,9)	65,1 (63,4;68,0)	41,7 (40,2;43,3)	18,2 (13,0;18,5)	14,4 (10,2;15,6)	38,5 (25,2;41,6)
СД 4 недели	8,5* (8,5;8,8)	70,7* (68,6;71,2)	46,3* (43,6;46,9)	23,1* (18,4;26,0)	10,3* (6,8;13,0)	45,3* (42,1;47,8)

Примечание: СД – сахарный диабет  
\* – статистически значимо в сравнении с группой интактных крыс.

Проведенные морфологические исследования выявили у крыс группы СД 4 недели характерные признаки повреждения почечного клубочка: уменьшение количества подоцитов, их набухание и увеличение в размерах (Рисунок 2), очаговое расширение межкапиллярного пространства за счет накопления ШИК-положительного материала мезангия и незначительного увеличения количества мезангиальных клеток, уменьшение средней суммарной площади сосудистого русла в клубочке, утолщение базальных мембран капилляров клубочков, сужение просвета капилляров, утолщение капсулы клубочков почки.

Сравнение морфометрических характеристик состояния почечного клубочка у крыс экспериментальных групп представлено в таблице 4. Как следует из таблицы, развитие четырехнедельного экспериментального сахарного диабета сопровождалось существенными негативными изменениями морфометрических характеристик состояния почечного клубочка, главным из которых стало более чем двукратное уменьшение количества подоцитов.



Примечание: 2а – в клубочках почек intactных крыс подоциты небольшого размера и располагаются под эндотелием капилляров (отмечены стрелками). 2б – в клубочках почек крыс с экспериментальным СД на фоне склеротических изменений число подоцитов уменьшено, они большего размера с крупными ядрами (отмечены стрелками). Окраска по Ван Гизон. Увеличение  $\times 1600$ .

Рисунок 2 – Подоциты в клубочках почек крыс с 4-недельным экспериментальным сахарным диабетом

Таблица 4 – Показатели морфометрии почечного клубочка intactных крыс и крыс с четырехнедельным экспериментальным сахарным диабетом ( $M \pm m$ )

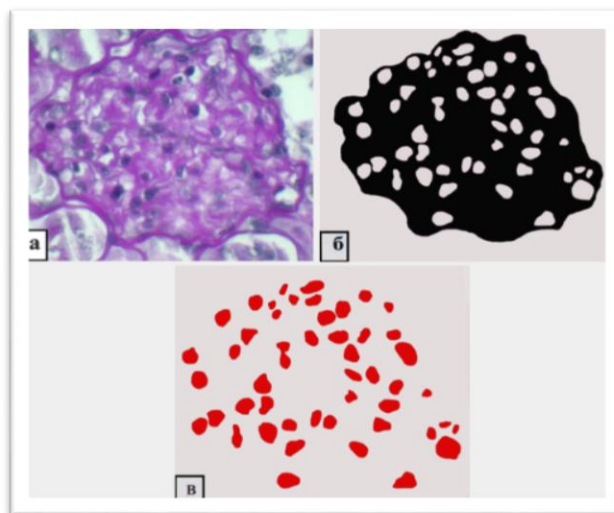
	Группы	
	Intactные крысы	Сахарный диабет (4 недели)
Общая площадь почечных клубочков ( $\text{мкм}^2$ )	$6174,7 \pm 257,5$	$7918,9 \pm 367,5^*$ (+28,2%)
Площадь мезангия в клубочках ( $\text{мкм}^2$ )	$4762,3 \pm 23,3$	$6823,5 \pm 225,75^*$ (+43,3%)
Средняя суммарная площадь сосудистого русла в клубочке ( $\text{мкм}^2$ )	$2200,4 \pm 699,8$	$1150,9 \pm 774,6^*$ (-47,7%)
Средняя площадь 1 капилляра в клубочке ( $\text{мкм}^2$ )	$42,8 \pm 4,3$	$33,8 \pm 3,7^*$ (-21%)
Среднее число подоцитов (ед.)	$10,2 \pm 0,2$	$4,9 \pm 0,4^*$ (-52%)
Примечание: * – статистически значимо по сравнению с intactными крысами.		

Таким образом, моделирование стрептозотоцинового СД в течение 4-х недель сопровождается развитием характерных биохимических и морфологических признаков оксидативного повреждения почек у крыс.

При дальнейшем сравнении патологической картины повреждения почек в условиях 4-недельного СД с 8-месячным СД было установлено, что в условиях восьмимесячного сахарного диабета происходило формирование тяжелого хронического повреждения почек, которое, по-видимому, носит необратимый характер и не поддается фармакологической коррекции. Наиболее наглядно об этом свидетельствовали результаты морфологического исследования (Рисунок 3).

Наблюдалось выраженное накопление соединительной ткани и ШИК-позитивного мезангия, что способствовало увеличению пространства между капиллярами (Рисунок 3б). Снижалась общая площадь сосудов в клубочке и площадь просвета гломерулярных капилляров (Рисунок 3в). В целом фиксировалось утолщение базальных мембран капилляров и их полнокровие, уплощение капсулы клубочков при отсутствии полости. Интерстиций почек содержал нефросклеротические очаги, а также лимфоплазмоцитарную инфильтрацию. Также отмечали гиалиново-капсульную дистрофию нефроцитов, расширение просвета канальцев и утолщение их базальных мембран. Наблюдалось утолщение стенок артерий при гиперплазии эластических мембран, а также полнокровие вен. Наконец, среди массивного разрастания соединительнотканых образований дифференцировка подоцитов была практически невозможной.

Суммируя вышеизложенное, по результатам проведенных на Этапе №1 экспериментов для дальнейшего изучения влияния лекарственных препаратов на оксидативное повреждение почек при СД была выбрана схема с моделированием СД в течение 4-х недель с последующим введением лекарственного препарата на протяжении еще 4-х недель.



Примечание: Окраска ШИК-реактивом по Мак-Манусу и компьютерная обработка. x 1200.

3а – клубочек почки. 3б – площадь мезангиума значительно увеличена. 3в – уменьшение площади просветов капилляров клубочка почки.

Рисунок 3 – Компьютерный анализ площади мезангиума и капилляров клубочка почки при восьмимесячном экспериментальном сахарном диабете

### **Изучение влияния прямого антиоксиданта $\alpha$ -токоферола ацетата на оксидативное повреждение и функцию почек при экспериментальном сахарном диабете.**

Результаты изучения активности процесса свободнорадикального окисления в почках крыс группы  $\alpha$ -токоферола ацетата показали статистически значимое снижение концентрации ТБРП относительно уровня крыс контрольной группы в 5,3 раза (Таблица 5). При этом активность антиоксидантных ферментов КАТ, СОД и ГПО между экспериментальными группами не различалась (Таблица 6). Полученные результаты подтверждают прямое антиоксидантное действие  $\alpha$ -токоферола ацетата без изменения ферментных механизмов антиоксидантной защиты.

Таблица 5 – Показатели активности процесса свободнорадикального окисления в почках крыс при экспериментальном сахарном диабете в контрольной группе и в группе  $\alpha$ -токоферола ацетата (Ме (25%;75%))

Группа	ТБРП (мкмоль/мг)	КАТ (%)	СОД (%)	ГПО (%)
Контрольная группа	10,1 (8,3;13,5)	9,8 (6,2;27,1)	6,8 (4,7;8,5)	34,7 (31,4;37,3)
Группа $\alpha$ -токоферола ацетата	1,9 (1,6;2,3)*	9,5 (7,7;24,1)	6,5 (4,8;10,3)	37,2 (34,0;40,0)
Примечание: * – статистически значимо в сравнении с контрольной группой.				

На этом фоне в обеих экспериментальных группах было выявлено увеличение почечной экскреции глюкозы, белка и креатинина на протяжении всех 8 недель эксперимента. Статистически значимых межгрупповых различий зафиксировано не было (в таблице не представлено).

Патоморфологическое состояние почечного клубочка в обеих экспериментальных группах также не различалось: клубочки почек были увеличены в размерах, отмечалось расширение межкапиллярного пространства за счет накопления ШИК-положительного мезангия и соединительной ткани. Базальные мембраны капилляров клубочков утолщены, просвет капилляров сужен. Капсула клубочков почки выглядела утолщенной. Капилляры клубочков полнокровны. В интерстиции почки встречались очаги лимфоплазмоцитарной инфильтрации. Просветы канальцев были расширены, базальные мембраны канальцев утолщены. Нефроциты находились в состоянии гиалиново-капельной дистрофии. Стенки артерий выглядели утолщенными, эластические мембраны гиперплазированными. Кровеносные сосуды находились в состоянии полнокровия.

Количественные показатели морфометрии почечных клубочков крыс экспериментальных групп приведены в таблице 6. Статистически значимых различий между группами выявлено не было. Таким образом, впервые показано, что даже выраженное подавление свободнорадикального окисления в почках на фоне экспериментального СД прямым антиоксидантом не позволяет облегчить протекание нефропатии.

Таблица 6 – Показатели морфометрии почечных клубочков крыс контрольной группы и группы  $\alpha$ -токоферола ацетата ( $M \pm m$ )

Группа	Площадь почечных клубочков (мкм <sup>2</sup> )	Суммарная площадь сосудов в клубочке (мкм <sup>2</sup> )	Площадь просвета капилляров клубочка (мкм <sup>2</sup> )	Площадь мезангия в клубочках (мкм <sup>2</sup> )	Подоциты (количество)
Контрольная группа	7089,5 $\pm$ 262,7	1064,6 $\pm$ 115,5	22,65 $\pm$ 1,8	5396,6 $\pm$ 85,8	28,2 $\pm$ 2,9
Группа $\alpha$ -токоферола ацетата	6316,3 $\pm$ 115,5	953,3 $\pm$ 112,5	23,25 $\pm$ 2,1	4548,1 $\pm$ 115,5	34,3 $\pm$ 2,3

Примечание: для всех показателей –  $p > 0,05$ .

### Изучение влияния блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона на оксидативное повреждение и функцию почек при экспериментальном сахарном диабете.

Проведенные эксперименты показали, что после применения эплеренона на фоне экспериментального СД наблюдались существенные изменения показателей оксидативного повреждения почек в сравнении с контрольной группой (Таблица 7).

Таблица 7 – Показатели активности процесса свободнорадикального окисления в почках крыс при экспериментальном сахарном диабете в контрольной группе и в группе эплеренона ( $Me (25\%;75\%)$ )

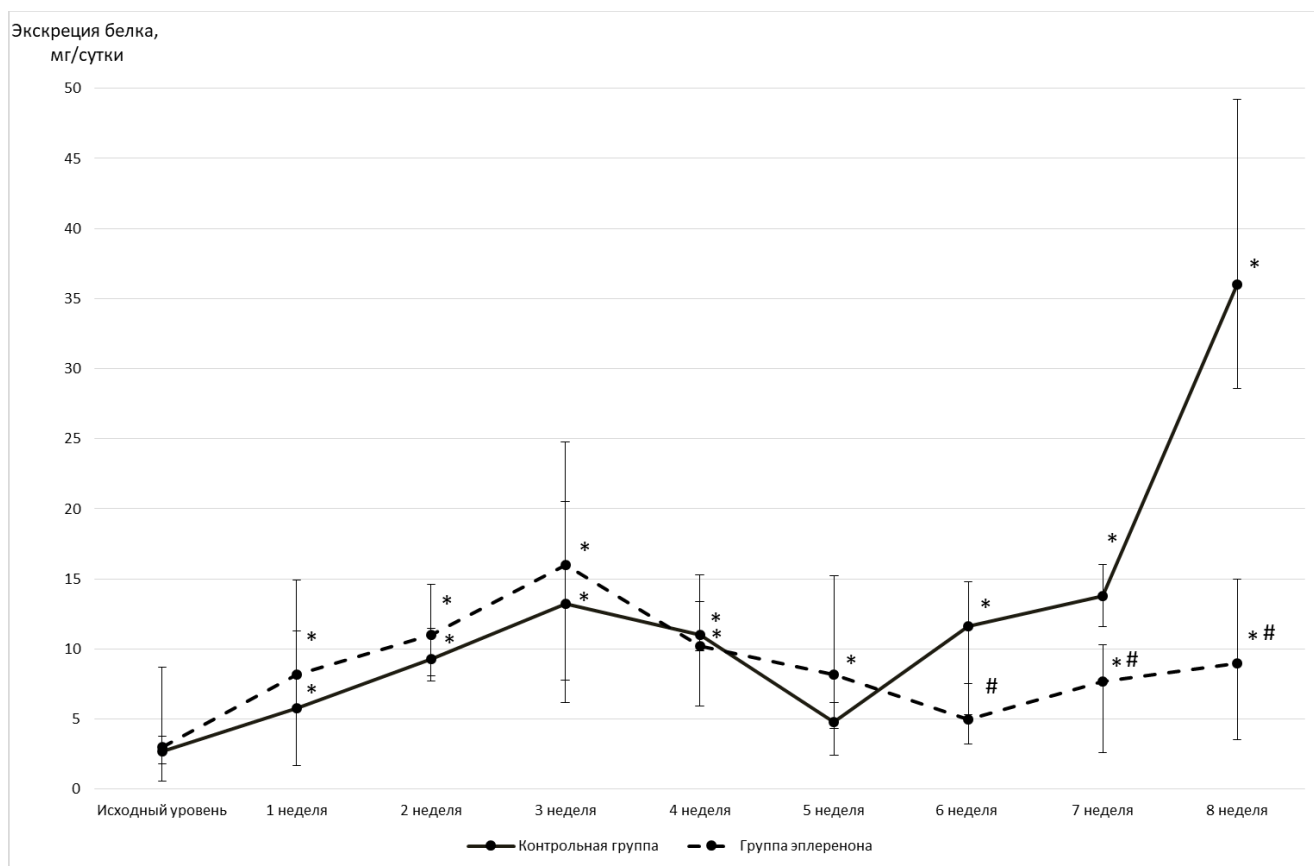
Группа	ТБРП (мкмоль/мг)	КАТ (%)	СОД (%)	ГПО (%)
Контрольная группа	6,0 (4,8;6,6)	32,7 (23,0;37,7)	8,8 (7,7;10,3)	58,7 (57,5;60,3)
Группа эплеренона	8,5 (6,2;9,9)*	60,1 (50,5;64,0)*	3,7 (3,4;5,5)*	89,5 (88,4;91,2)*

Примечание: \* – статистически значимо в сравнении с контрольной группой.

Оказалось, что концентрация ТБРП в почках крыс группы эплеренона в сравнении с контрольной группой не уменьшилась, а, наоборот, статистически значимо увеличилась в 1,4 раза. При этом активность КАТ в группе эплеренона также статистически значимо возросла относительно контрольной группы в 1,8 раза. Активность СОД статистически значимо снижалась относительно контрольной группы 2,4 раза. Активность ГПО статистически значимо увеличилась в 1,5 раза относительно контрольной группы.

Результаты определения показателей экскреторной функции почек у крыс экспериментальных групп показали, что динамика почечной экскреции глюкозы в обеих группах характеризовалась статистически значимым ростом описываемого показателя на протяжении всех 8 недель, вследствие чего к концу эксперимента в контрольной группе его значение превышало исходный уровень в 2,7 раза, а в группе эплеренона – в 4,5 раза. Статистически значимых межгрупповых различий не зафиксировано (в таблице не представлено).

Динамика почечной экскреции белка в контрольной группе и в группе эплеренона представлена на рисунке 4.



Примечание: \* – статистически значимо по сравнению с исходным уровнем. # – статистически значимо по сравнению с контрольной группой.

Рисунок 4 – Динамика экскреции белка с мочой в контрольной группе и в группе эплеренона

Почечная экскреция белка в контрольной группе и группе эплеренона на протяжении первых 4-х недель моделирования СД существенно возрастала (Рисунок 4): в контроле – с 2,7 (1,8;8,7) мг/сут до 11,0 (5,9;15,3) мг/сут ( $p=0,004$ ), в группе эплеренона – с 3,0 (0,6;3,8) мг/сут до 10,2 (9,9;13,4) мг/сут ( $p=0,002$ ). Статистически значимые различия между группами в этот период не выявлялись. С 5-й по 8-ю недели эксперимента экскреция белка в контрольной группе продолжала увеличиваться и достигала максимума к концу эксперимента – 36,0 (28,6;43,2) мг/сут, что было в 13,3 раза больше, чем до начала эксперимента ( $p=0,001$ ). В группе эплеренона после начала введения препарата рост почечной экскреции белка прекратился, и вплоть до конца эксперимента экскреция не изменялась относительно показателя, измеренного на 28-й день. Как следствие, на 6-8 недели на фоне введения эплеренона почечная экскреция белка была статистически значимо ниже, чем в контрольной группе в указанные периоды времени: через 6 недель уменьшалась в 2,3 раза до 5,0 (3,2;7,5) мг/сут против 11,6 (5,3;14,8) мг/сут,  $p<0,02$ ), через 7 недель – в 1,8 раза до 7,7 (2,6;10,3) мг/сут против

13,8 (11,6;16,0) мг/сут ( $p=0,002$ ), через 8 недель – в 4 раза до 9,0 (3,5;15,0) мг/сут против 36,0 (28,6;43,2) мг/сут ( $p<0,001$ ).

Согласно результатам морфологических исследований, в контрольной группе было выявлено увеличение размеров клубочков почек, расширение пространства между капиллярами за счет ШИК-позитивного материала. Также наблюдалось сужение просвета капилляров при утолщении базальных мембран и капсулы клубочков. Выявлялись увеличенные подоциты, имевшие набухшие ядра. Интерстициальное пространство почек содержало нефросклеротические очаги с утолщением базальных мембран канальцев. Нефроциты находились преимущественно в состоянии гиалиново-капельной дистрофии, являлись уплощенными при расширении просвета канальцев. Фиксировалась лимфо-плазмоцитарная инфильтрация на некоторых участках.

В группе эплеренона наблюдалось уменьшение площади клубочков почек. Фиксировалось слабо выраженное увеличение пространства между капиллярами и накопление ШИК-положительного материала. Капилляры были полнокровны, имели преимущественно широкий просвет. Подоциты имели небольшой размер, а также мелкие ядра округлой формы. Нефросклеротические изменения интерстиция были минимальны. Нефроциты имели в целом нормальное морфологическое строение при отсутствии на большинстве участков явлений гиалиново-капельной дистрофии.

Морфометрический анализ клубочков почек экспериментальных животных показал, что их площадь в группе эплеренона статистически значимо в 1,6 раза была меньше, чем в контрольной группе. Средняя площадь просвета капилляров увеличилась в 1,3 раза. Количество подоцитов на фоне введения эплеренона статистически значимо превышало уровень контрольной группы в 1,6 раза. (Таблица 8).

Таблица 8 – Показатели морфометрии почечных клубочков крыс контрольной группы и группы эплеренона ( $M\pm m$ )

Группа	Площадь почечных клубочков ( $\text{мкм}^2$ )	Суммарная площадь сосудов в клубочке ( $\text{мкм}^2$ )	Площадь просвета капилляров клубочка ( $\text{мкм}^2$ )	Площадь мезангия в клубочках ( $\text{мкм}^2$ )	Подоциты (количество)
Контрольная группа	7758,65±329,5	1148,5±107,65	24,25±1,65	5609,9±823,1	7,4±0,6
Группа эплеренона	4810,4±202,6*	1569,65±282,05	31,4±2,4*	3733,3±505,9	11,8±0,5*

Примечание: \* – статистически значимо в сравнении с контрольной группой.

**Изучение влияния ингибитора образования конечных продуктов гликирования карнозина на оксидативное повреждение и функцию почек при экспериментальном сахарном диабете.**

Изучение влияния карнозина на выраженность оксидативного стресса в почках крыс с экспериментальным СД показало, что концентрация ТБРП в группе карнозина была статистически значимо ниже уровня крыс контрольной группы в 1,5 раза (Таблица 9). Кроме того, наблюдалось статистически значимое

увеличение ОАА в 2,2 раза и рост активности КАТ на 20,4%. Уровень ОПА, а также активность СОД и ГПО не имели статистически значимых межгрупповых различий (в таблице не представлено).

Таблица 9 – Показатели активности процесса свободнорадикального окисления в почках крыс при экспериментальном сахарном диабете в контрольной группе и в группе карнозина (Ме (25%;75%))

Группа	ТБРП (мкмоль/мг)	ОАА (%)	КАТ (%)
Контрольная группа	6,2 (5,4;7,2)	30,1 (22,8;39,7)	10,3 (5,9;12,1)
Группа карнозина	4,2* (2,2;4,7)	66,4* (64,6;69,2)	12,4* (11,1;13,6)

Примечание: \* – статистически значимо в сравнении с контрольной группой.

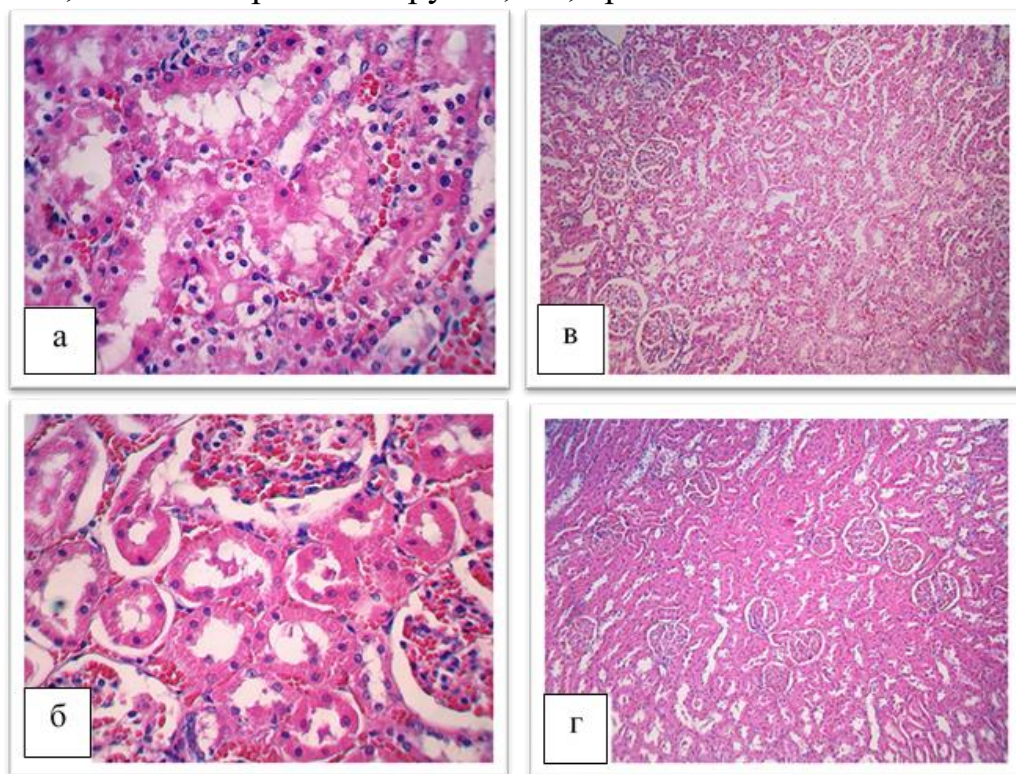
Кроме того, при применении карнозина наблюдалось уменьшение концентрации белка в моче. В период с 5-й по 8-ю недели величина данного показателя последовательно снижалась, в результате чего к концу эксперимента она была статистически значимо меньше, чем в контрольной группе в 3,5 раза. Концентрация глюкозы в моче к концу эксперимента также снижалась.

Проведенное морфологическое исследование показало, что в контрольной группе в почечных клубочках было выявлено расширение межкапиллярного пространства за счет разрастания ШИК-позитивной соединительной ткани и увеличения площади мезангия. Просветы капилляров клубочков были сужены, базальные мембраны капилляров утолщены. Капсулы клубочков были утолщены. Подоциты увеличены в размерах, с набухшими ядрами. В интерстиции почки встречались очаги нефросклероза, в таких участках отмечались утолщенные базальные мембраны канальцев. Нефроциты канальцев были уплощены, просвет канальцев расширен. Канальцы были кистозно расширены. Большинство нефроцитов находилось в состоянии гиалиново-капельной дистрофии. На некоторых участках определялась лимфо-плазматитарная инфильтрация. Гистологическая картина выявленных изменений представлена на рисунке 5.

На этом фоне, как это следует из того же рисунка 5, в почечных клубочках крыс группы карнозина было выявлено слабо выраженное очаговое расширение межкапиллярного пространства и незначительное отложение ШИК-позитивного материала в мезангии. Просветы капилляров клубочков преимущественно были широкими, отмечалось полнокровие капилляров. Подоциты были небольшого размера, с округлыми ядрами. В интерстиции почки явления нефросклероза были минимальны. Морфологическое строение нефроцитов приближалось к норме, явления гиалиново-капельной дистрофии на большинстве участков отсутствовали.

При проведении морфометрии, результаты которой представлены в таблице 10, было выявлено статистически значимое уменьшение площади почечных клубочков у крыс группы карнозина относительно контрольной группы в 1,6 раза. Площадь мезангия в клубочках на фоне применения карнозина также снижалась в 1,6 раза. При этом в контрольной группе было зафиксировано разрастание ШИК-

позитивной ткани в клубочках, которое в группе карнозина было незначительным. Кроме того, суммарная площадь сосудистого русла и площадь 1 капилляра в почечных клубочках крыс, получавших карнозин, статистически значимо увеличились относительно контрольной группы в 2,4 и 1,9 раза соответственно. Количество подоцитов в клубочках почек крыс группы карнозина было больше, чем в контрольной группе, в 1,9 раза.



Примечание: 5а – ув.×400, гиалиново-капельная дистрофия нефроцитов в контрольной группе; 5б – ув.×400, отсутствие дистрофических изменений в группе карнозина; 5в – ув.×100, контрольная группа, клубочки увеличены в размерах; 5г – ув.×100, группа карнозина, размеры клубочков уменьшены .

Рисунок 5 – Ткань почек экспериментальных крыс. Окраска гематоксилином и эозином

Таблица 10 – Показатели морфометрии почечных клубочков крыс контрольной группы и группы карнозина (M±m)

Группа	Площадь почечных клубочков (мкм <sup>2</sup> )	Суммарная площадь сосудов в клубочке (мкм <sup>2</sup> )	Площадь просвета капилляров клубочка (мкм <sup>2</sup> )	Площадь мезангия в клубочках (мкм <sup>2</sup> )	Подоциты (количество)
Контрольная группа	10470,5±735,6	1289,4±109,8	24,0±1,2	7158,2±858,8	9,2±1,0
Группа карнозина	6447,2±309,6*	3064,2±29,8*	45,8±2,0*	4452,3±304,6*	17,8±1,4*

Примечание: \* – статистически значимо в сравнении с контрольной группой.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В результате проведенного исследования установлено, что применение ингибитора образования конечных продуктов гликирования карнозина при экспериментальном СД сопровождалось выраженным нефропротекторным эффектом, который характеризовался увеличением количества подоцитов относительно контрольной группы, а также нормализацией их структуры и функции, существенным ослаблением оксидативного повреждения почек, снижением концентрации белка в моче.

Прямой антиоксидант  $\alpha$ -токоферола ацетат оказывал выраженный антиоксидантный эффект, о чем свидетельствовало пятикратное снижение концентрации ТБРП в почках, однако нефропротекторного эффекта при этом не возникало. Подавление прямого компонента оксидативного эффекта глюкозы и продуктов ее метаболизма недостаточно для нормализации структуры и функции почечного фильтрационного барьера.

Ингибитор минералокортикоидных рецепторов эплеренон при экспериментальном СД оказывал нефропротекторный эффект, но при этом выраженность оксидативного стресса в почечной ткани крыс в сравнении с контрольной группой не снижалась, а, наоборот, увеличивалась. Вероятно, это происходило вследствие компенсаторного усиления продукции ренина, ангиотензина II и альдостерона, который на фоне блокады цитозольных рецепторов в большей степени проявил негеномные мембранные эффекты в виде активации протеинкиназы C, стимулирующей образование активных форм кислорода.

Таким образом, результаты проведенного исследования демонстрируют, что наиболее перспективным патогенетически обоснованным направлением фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при сахарном диабете для будущей разработки новых высокоэффективных антиоксидантных нефропротекторов является ингибирование образования конечных продуктов гликирования. Прямое антиоксидантное действие и ослабление активности ренин-ангиотензин-альдостероновой системы носят, как минимум, не однозначный и во многом противоречивый характер. В первом случае на фоне явно выраженного подавления оксидативного стресса в почках отсутствовал нефропротекторный эффект, во втором – нефропротекторный эффект имел место, но активность процесса свободнорадикального окисления не снижалась, а возрастала.

## ВЫВОДЫ

1. При моделировании экспериментального сахарного диабета в течении 4-х недель возникает протеин- и глюкозурия, оксидативный стресс. В почечном клубочке уменьшается количество подоцитов и развиваются сопутствующие патоморфологические изменения. Это позволяет использовать четырехнедельный вариант стрептозотоциновой модели сахарного диабета для оценки эффективности фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при сахарном диабете.

2. При введении прямого антиоксиданта  $\alpha$ -токоферола ацетата происходит ослабление оксидативного стресса в почках крыс с экспериментальным сахарным

диабетом (снижение концентрации ТБРП в 5,3 раза), но при этом не возникает нефропротекторного эффекта – высокий уровень экскреции белка с мочой и выраженное повреждение тканей почечного клубочка сохраняются на уровне контрольной группы.

3. Применение ингибитора минералокортикоидных рецепторов эплеренона в условиях экспериментального сахарного диабета значительно ослабляет протеинурию (в 4 раза по сравнению с контрольной группой), а также улучшает морфологические характеристики почечного клубочка. Однако выраженность оксидативного стресса в почках не снижается, а увеличивается (увеличение концентрации ТБРП на 40% относительно контрольной группы).

4. Карнозин обладает антиоксидантным эффектом в почках крыс с экспериментальным сахарным диабетом, нормализует структуру и функцию почечного клубочка, что сопровождается снижением концентрации белка в моче.

5. Наиболее перспективным патогенетически обоснованным направлением фармакологической коррекции оксидативного повреждения почек при сахарном диабете является ингибирование образования конечных продуктов гликирования.

#### **СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ В РЕЦЕНЗИРУЕМЫХ НАУЧНЫХ ИЗДАНИЯХ**

1. Филинова, С.О. Патоморфологическая картина диабетической нефропатии при экспериментальном сахарном диабете / С.О. Филинова, А.Ю. Жариков, И.П. Бобров, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова // **Казанский медицинский журнал.** – 2019. – Т. 100, № 1. – С. 147-152. (**Scopus, Перечень ВАК**)

2. Zharikov, A.Yu. Comparison of the pathological picture of experimental diabetic nephropathy in rats at early (1 month) and late (8 months) stages / A.Yu. Zharikov, S.O. Filinova, O.N. Mazko, O.G. Makarova, Yu.V. Korenovsky, A.V. Lepilov, I.P. Bobrov, O.V. Azarova // **International Journal of Biomedicine.** – 2019. – Vol. 9, № 4. – P. 345-349. (**Web of Science, Scopus**)

3. Филинова, С.О. Показатели прооксидантного и антиоксидантного статусов в почках крыс при экспериментальном сахарном диабете / С.О. Филинова, А.Ю. Жариков, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Б.А. Баландович // **Патологическая физиология и экспериментальная терапия.** – 2020. – Т. 64, № 1. – С. 124-127. (**Перечень ВАК**)

4. Zharikov, A.Yu. Direct pharmacological correction of oxidative stress in rat kidneys does not facilitate diabetic nephropathy / A.Yu. Zharikov, S.O. Filinova, O.N. Mazko, O.G. Makarova, I.P. Bobrov // **International Journal of Biomedicine.** – 2021. – Vol. 11, № 3. – P. 296-300. (**Web of Science, Scopus**)

5. Жариков, А.Ю. Роль свободнорадикального окисления в почках в нефропротекторном действии блокатора минералокортикоидных рецепторов эплеренона при экспериментальном сахарном диабете / А.Ю. Жариков, С.О. Филинова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, И.П. Бобров, В.М. Брюханов // **Бюллетень сибирской медицины.** – 2021. – Т. 20, № 2. – С. 29-35. (**Web of Science, Scopus, Перечень ВАК**)

б. Жариков, А.Ю. Влияние карнозина на оксидативное повреждение почек при экспериментальном сахарном диабете / А.Ю. Жариков, С.О. Филинова, О.Н. Мазко, И.П. Бобров, О.Г. Макарова, А.С. Кальницкий // **Биомедицина.** – 2024. – Т. 20, № 1. – С. 52-61. **(Перечень ВАК)**

### **СВИДЕТЕЛЬСТВО О РЕГИСТРАЦИИ БАЗЫ ДАННЫХ (RU)**

1. Свидетельство о государственной регистрации базы данных № 2020620306 Российская Федерация. Сравнение патологической картины экспериментальной диабетической нефропатии у крыс на ранних сроках (1 месяц) и поздних сроках (8 месяцев): № 2020620123: заявл. 04.02.2020: опубл. 18.02.2020 / С.О. Филинова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, А.Ю. Жариков; заявитель Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный медицинский университет» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

### **ТЕЗИСЫ В МАТЕРИАЛАХ МЕЖДУНАРОДНЫХ И РОССИЙСКИХ КОНФЕРЕНЦИЙ**

1. Жариков, А.Ю. Сравнение патологической картины Экспериментальной диабетической нефропатии у крыс на ранних сроках (1 месяц) и поздних сроках (8 месяцев) / А.Ю. Жариков, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, И.П. Бобров, В.М. Брюханов // В сборнике: От биопродуктов к биоэкономике. Материалы III межрегиональной научно-практической конференции (с международным участием) (7-8 ноября 2019 г.) «От биопродуктов к биоэкономике» / под ред. А.Н. Лукьянова. – Барнаул: Изд-во Алт. ун-та, 2019. – С. 250-257.

2. Жариков, А.Ю. О роли процесса свободнорадикального окисления в почках в нефропротекторном действии ингибитора минералокортикоидных рецепторов эплеренона при экспериментальном сахарном диабете / А.Ю. Жариков, С.О. Филинова, О.Н. Мазко, О.Г. Макарова, Ю.В. Кореновский, А.В. Лепилов, И.П. Бобров, О.В. Азарова // В сборнике: Актуальные проблемы экспериментальной и клинической медицины. сборник 79-й международной научно-практической конференции молодых учёных и студентов. Волгоградский государственный медицинский университет, Федерация представителей молодёжных научных обществ медвузов, научно-образовательный медицинский кластер ЮФО «Южный», автономная некоммерческая организация развития образования и науки «Региональная ассоциация университетов», Научное общество молодых ученых и студентов ВолГМУ ( Волгоград 24- 27 апреля 2019 г.), 2021. – С.354-355.

### **СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ**

ГПО – глутатионпероксидаза;

ДН – диабетическая нефропатия;

КАТ – каталаза;

ЛДГ – лактатдегидрогеназа;

ОПА – общая прооксидантная активность;

ОАА – общая антиоксидантная активность;

СД – сахарный диабет;

ТБРП – тиобарбитуратреактивные продукты