

DOI: 10.31393/reports-vnmedical-2023-27(1)-02

УДК: 546.221.1: 616.61:616.379-008.64:612.08

МОРФОЛОГІЧНІ ЗМІНИ ТКАНИН НИРОК ЩУРІВ ЗА ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОГО ЦУКРОВОГО ДІАБЕТУ І НА ТЛІ КОРЕКЦІЇ МЕТФОРМІНОМ І МОДУЛЯТОРАМИ ОБМІНУ ГІДРОГЕН СУЛЬФІДУ

Струтинська О. Б., Мельник А. В.

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (вул. Пирогова, 56, м. Вінниця, Україна, 21018)

Відповідальний за листування:
e-mail: anderneting@gmail.com

Статтю отримано 15 листопада 2022 р.; прийнято до друку 19 грудня 2022 р.

Анотація. З метою фармакокорекції діабетичної нефропатії за цукрового діабету (ЦД) 2 типу широко використовується метформін. Однак, механізми захисної дії метформіну на нирки залишаються невивченими, зокрема, невідомий внесок системи гідроген сульфід у його нефропротекторну дію. Тому, метою нашого дослідження було оцінити роль метформіну та його комбінації з модуляторами обміну гідроген сульфід у корекції гістологічних змін у нирках щурів за стрептозотозин-індукованого діабету. Дослідження виконані на 30 білих нелінійних щурах-самцях, які були поділені на п'ять груп: 1 група - контроль; 2 група - тварини з експериментальним ЦД, який ініціювали одноразовим інтраперитонеальним введенням стрептозотозину (40 мг/кг маси) на 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5); 3 група - тварини з експериментальним ЦД, які з 3 по 28 добу отримували лікування метформіном (500 мг/кг/добу, інтрагастрально); 4 група - тварини з ЦД, яким поряд з метформіном вводили NaHS (56 мкмоль/кг/добу, інтрагастрально); 5 група - тварини з ЦД, яким поряд з метформіном вводили пропарігеліцин (442 мкмоль/кг/добу, інтрагастрально). Гістологічні дослідження проведені за загальноприйнятою методикою з використанням світлового мікроскопу Olympus BX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія). Встановлено, що у тварин з експериментальним ЦД відмічається розвиток нефросклерозу та гіпертрофії клубочків, пошкодження ендотелію судин нирок, інтерстиційне запалення та набряк, дистрофічні та некробіотичні зміни клубочків. Застосування метформіну за ЦД зменшувало виразність нефросклерозу, гіпертрофії клубочків, деструкції ендотеліоцитів судин, запалення та ураження клубочкового апарату. Використання донору гідроген сульфід NaHS посилювало нефропротекторну активність метформіну, тоді як введення інгібітору синтезу гідроген сульфід пропарігеліцину значно зменшувало його захисну дію на нирки. Отримані результати гістологічного дослідження обґрунтовують доцільність застосування донору гідроген сульфід з метою потенціювання ренопротективної дії метформіну.

Ключові слова: нирки, гістологічна структура, цукровий діабет, метформін, пропарігеліцин, гідроген сульфід, щури.

Вступ

Діабетична нефропатія відноситься до важких мікроангіопатичних ускладнень цукрового діабету (ЦД) і є важливою причиною термінальної ниркової недостатності та смертності хворих. За діабетичного ураження нирок відмічаються пошкодження судинної стінки, розвиток гломерулосклерозу та тубуло-інтерстиційного фіброзу [6]. У патогенезі діабетичної хвороби нирок тригерним чинником є гіперглікемія, яка викликає ренальні гемодинамічні зміни, розвиток ішемії, запалення, оксидативного стресу, активує фіброгенез у нирках [7, 11]. Останнім часом встановлено, що важливу роль у механізмах розвитку діабетичної нефропатії належить порушенням H₂S-сигналіngu. Відомо, що H₂S належить до цитопротекторів, виявляє вазодилатуючу, антиагрегантну, антиоксидантну дію, стимулює фільтрацію в нирках, регулює процеси екскреції натрію [10, 12]. За діабетичного ураження нирок відмічається формування дефіциту H₂S, що тісно асоціюється з порушеннями функціонального стану та гістологічної структури нирок [11].

Препаратом першої лінії у лікуванні ЦД 2 типу з доведеними нефропротекторними властивості є цукрознижуючий засіб метформін. Показано, що захисна дія метформіну на нирки реалізується через різноманітні механізми, а саме зменшення глікозилювання білків,

посилення аутофагії, зниження активності запалення, оксидативного стресу, фіброгенезу та апоптозу [1, 2, 6, 7]. У той же час практично відсутня інформація щодо ролі системи H₂S у реалізації нефропротекторної дії метформіну. Також залишається не вивченою здатність модуляторів обміну H₂S модифікувати захисну дію метформіну на нирки, що є важливим для оптимізації терапії діабетичної нефропатії.

Метою роботи було оцінити роль метформіну та його комбінації з модуляторами обміну гідроген сульфід у корекції гістологічних змін у нирках щурів за стрептозотозин-індукованого діабету.

Матеріали та методи

Досліди проведені на 30 білих нелінійних щурах-самцях масою тіла 150-240 г. Усіх лабораторних тварин утримували на стандартному харчовому раціоні виварію ВНМУ ім. М.І. Пирогова при звичайному світловому та температурному режимі. Всі етапи досліджень виконані за загальними етичними принципами експериментів на тваринах згідно Першого національного конгресу України з біоетики (Київ, 2001), "Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідів та інших наукових цілей" (Страсбург, 1986), а

також Закону України № 3447-IV від 21.02.2006 "Про захист тварин від жорстокого поводження". У ході експерименту усі піддослідні тварини поділені на п'ять груп (по 6 щурів у кожній). Перша група - контрольна, отримували інтраперитонеально 0,1 М цитратний буфер з рН 4,5 (0,1 мл/ 100 г маси). У другій, третій і четвертій та п'ятій групах тварин моделювали стрептозотоцин-індукований діабет (СТЦ-діабет) шляхом одноразового інтраперитонеального введення свіжоприготовленого розчину стрептозотоцину (Sigma, США) на 0,1 М цитратному буфері (рН 4,5) у дозі 40 мг/кг маси щура [8]. Через 72 години після ін'єкції стрептозотоцину визначали рівень глюкози в периферичній крові з використанням глюкометра Accu-Chek Active (Rouche Group, Німеччина) і для подальших досліджень відбирали тварин з рівнем глікемії більше 16,7 ммоль/л. З 3-ої по 28-му добу щурам третьої, четвертої та п'ятої груп вводили інтрагастральню метформін (Берлін-Хемі, Німеччина) у дозі 500 мг/кг 1 раз на добу на 1% крохмальному гелі (з розрахунку 1 мл на 100 г маси тіла) [9]. Щурам 4-ої групи поряд з метформіном вводили донор H_2S - $NaHS$ (Sigma, США) у дозі 56 мкмоль/кг 1 раз на добу інтраперитонеально [4]. Щурам 5-ої групи поряд з метформіном вводили інгібітор синтезу H_2S - D,L-пропаргілгліцин (Sigma, США) у дозі 442 мкмоль/кг маси 1 раз на добу інтраперитонеально [4].

Гістологічні дослідження проведені на базі Вінницького обласного патолого-анатомічного бюро (ліцензія МОЗ України АЕ № 638623 від 23.04.2015, № 240). Матеріалом для морфологічних досліджень були фрагменти нирок розміром 1x1 см. Шматочки фіксували в 10% розчині формаліну - тривалість експозиції становила 1-2 доби. Використання формаліну запобігає аутолізу та водночас стабілізує тканини і забезпечує можливість їх подальшої обробки та використання в процедурах фарбування. Після фіксації шматочки промивали водою, для видалення надлишку фіксатора, далі проводили зневоднення фіксованого матеріалу у спиртах зростаючої концентрації з метою ущільнення об'єкту та заливали в парафінові блоки. Далі готували напівтонкі зрізи (4-5 мкм) з використанням санного мікротому (MC-2M, Мікромед), а потім забарвлювали їх гематоксиліном і еозином. Світлооптичне дослідження гістологічних препаратів проводили з використанням світлового мікроскопу Olympus VX-41 (Olympus Europe GmbH, Японія) при збільшеннях мікроскопу x100 (ок. 10, об. 10) та x400 (ок. 10, об. 40). Мікрофотографії виготовляли за допомогою фотокамери Olympus C-5050 Zoom (Olympus Europe GmbH, Японія).

Робота виконана в рамках планової НДР кафедри біологічної та загальної хімії Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова "Роль екзогенних та ендогенних сірковмісних сполук в механізмах ураження внутрішніх органів та цитопротекції за різних патологічних станів" (№ держреєстрації 0119U001142, 2019-2023 рр.).

Результати. Обговорення

При гістологічному дослідженні нирок щурів з СТЦ-діабетом виявили виразні структурні зміни кіркового та мозкового шару нирок (рис. 1-2). Ниркові тільця відрізнялись один від одного особливостями гістоструктури. Так, поряд з нечисельними нирковими тільцями, які за бу-

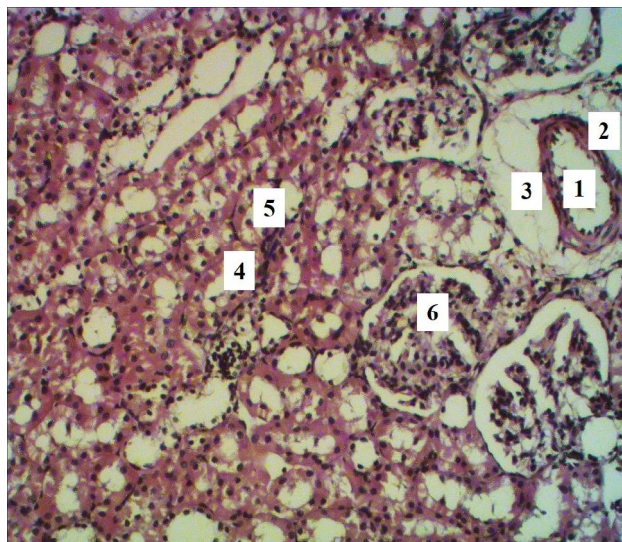


Рис. 1. Мікроскопічні зміни ниркової кори щура з СТЦ-діабетом на 28 добу.

Примітки: пристінкові тромби в просвітах артеріол (1), плазматичне просочування (2), виражений периваскулярний набряк (3), некроз і вакуольна дистрофія епітеліоцитів у стінках проксимальних трубочок (4), некроз і вакуольна дистрофія в стінках дистальних трубочок (5), лейкоцитарна інфільтрація навколо клубочкових капілярних судин (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 100.

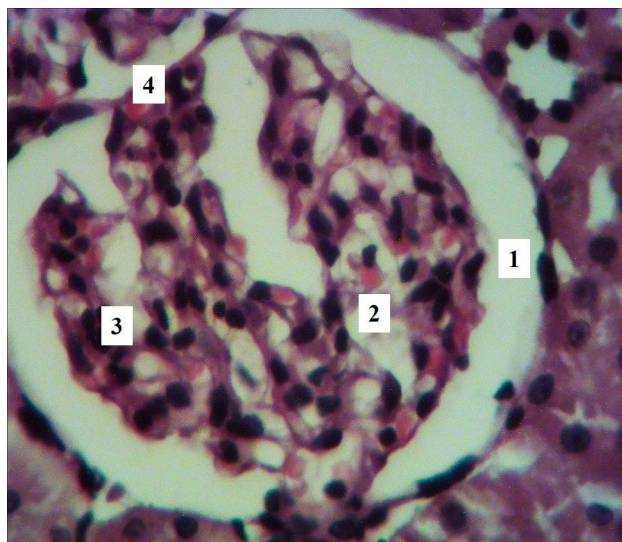


Рис. 2. Гістологічні зміни структурних елементів кіркової речовини нирки щура з СТЦ-діабетом на 28 добу.

Примітки: розширені сечові просвіти (1), розширені просвіти та повнокрів'я клубочкових капілярних судин (2), вогнищева гіперплазія та гіпертрофія мезангіоцитів (3), ділянки адгезії петель капілярів до зовнішньої стінки капсули ниркового тільця (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400.

довою подібні до таких у щурів контрольної групи, виявляли ті, що мали зморщені клубочки, значно розширені сечові простори, в яких був розміщений білковий детрит. подекуди відмічали також наявність гіпертрофованих ниркових тілець. Навколо них виявляли виражену гістіолімфоцитарну інфільтрацію, гіпертрофію та гіперплазію фібробластів. Зовнішні стінки капсули клубочків були потовщені. Просвіти їх капілярних судин розширені, повнокровні, а в деяких із них спостерігали стаз, крайове стояння, адгезію та діapedез лейкоцитів, сладжі еритроцитів і тромби. Ендотеліоцити стінок клубочкових капілярів мали ознаки набряку, їх ядра виступали в просвіт судин. Базальна мембрана була потовщена, набрякла. Відмічали наявність периваскулярних геморагій, гістіолімфоцитарної інфільтрації. Чисельність мезангіоцитів у клубочках щурів із СТЦ-діабетом значно переважала таку у тварин контрольної групи. Просвіти артеріол, розташованих на межі ниркової кори та мозкової речовини, звужені. Внутрішня еластична мембрана в них неоднорідна, подекуди потовщена, розшарована. Наявне плазматичне просякання стінок артеріол і периваскулярний набряк інтерстицію.

Дистальні трубочки нефронів були розширені, їх стінки утворені епітеліоцитами мали меншу висоту, ніж у тварин групи контролю. У стінках деяких дистальних трубочок епітеліоцити були дистрофічно змінені, їх ядра темні, хроматин конденсований. У нирковій корі також виявляли проксимальні та дистальні трубочки, стінки яких були дезорганізовані внаслідок десквамації епітеліального вистелення. Крім того, відмічали дисциркуляторні зміни в перитубулярних гемокапілярах. Так, поряд з повнокровними судинами із розширеними просвітами, траплялись капіляри, просвіти яких значно звужені. Навколо зазначених судин і дистальних трубочок нефронів виявляли гістіолімфоцитарну інфільтрацію та набряк інтерстицію, які також є наслідком порушення проникності стінок гемокапілярів.

У щурів з СТЦ-діабетом, яким для корекції вводили метформін, патологічний процес охоплював усі структури в корі та мозковій речовині нирок, однак зміни були менш виражені, ніж у тварин без корекції (рис. 3-4). Більшість ниркових тілець за будовою подібні до таких у щурів контрольної групи. У деяких ниркових тілцях ми відмітили незначне розширення сечового простору. Просвіти капілярів клубочка також розширені, однак повнокрів'я в них не виражене, на відміну від щурів, яким вводили лише стрептозоточин. Стінки більшої частини судин були суцільними, ендотеліоцити мали типову структуру. Навколо капілярів клубочка виявляли поодинокі лімфоцити та макрофаги. Клубочки, в яких наявні вогнища геморагій зустрічались на гістологічних препаратах значно рідше, ніж у щурів без корекції. Ми також відмітили незначну гіперплазію та гіпертрофію мезангіоцитів у деяких ниркових тілцях.

У проксимальних звивистих і прямих трубочках нефронів більша частина епітеліоцитів мали світлу цитоп-

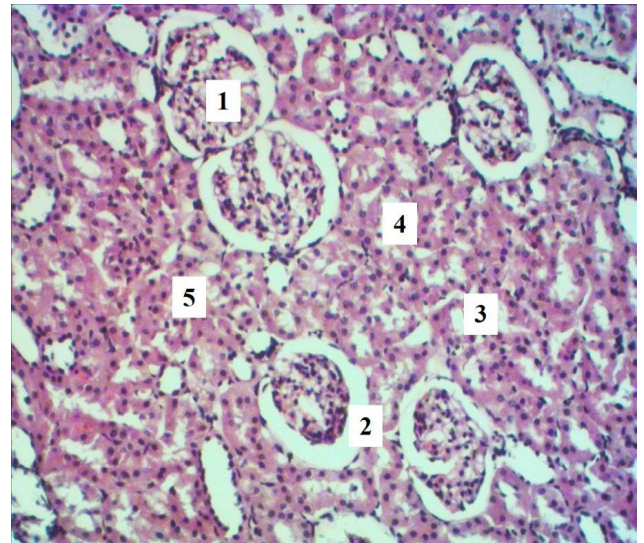


Рис. 3. Мікроскопічні зміни ниркової кори щурів з СТЦ-діабетом на 28 добу дослідження, яким для корекції вводили метформін. **Примітки:** гіпертрофовані ниркові тілця (1), розширені сечові простори (2), дистальні трубочки нефронів (3), проксимальні трубочки нефронів (4), перитубулярні кровоносні капіляри (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 100.

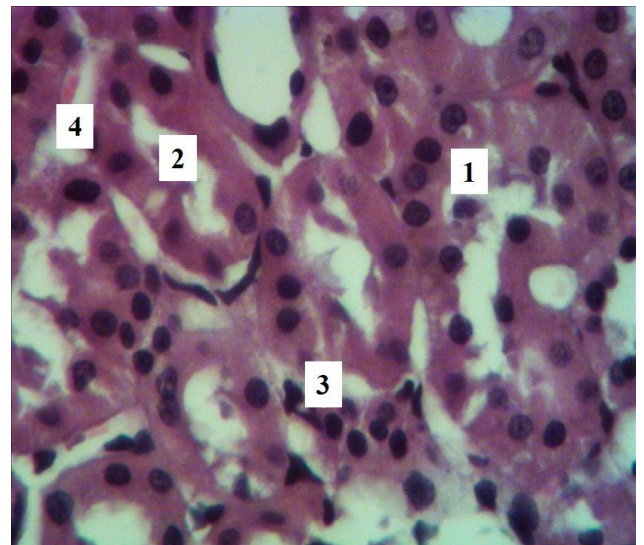


Рис. 4. Гістологічна будова ниркової кори щурів з СТЦ-діабетом на 28 добу дослідження, яким для корекції вводили метформін.

Примітки: вакулярна дистрофія епітеліоцитів у стінках проксимальних трубочок (1), вакулярна дистрофія епітеліоцитів у стінках дистальних трубочок (2), вогнища лейкоцитарної інфільтрації (3), просвіти перетубулярних капілярів (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 400.

лазму. Ядра цих клітин з гофрованою поверхнею з численними інвагінаціями каріолеми, ядерця в них були добре структуровані. подекуди виявляли проксимальні звивисті трубочки, в яких епітеліоцити мали ознаки зернистої дистрофії, однак їх було значно менше, ніж у щурів з експериментальним стрептозоточинним діабетом, яким не проводили корекцію. У нирковій корі перитубу-

лярний набряк інтерстицію та гістіолімфоцитарна інфільтрація були менше виражені, ніж у тварин, що отримували лише стрептозотонин. У дистальних трубочках відмічали наявність незначної кількості епітеліоцитів з ознаками вакуолярної та зернистої дистрофії. Просвіти більшої частини дистальних трубочок не розширені. У периваскулярних просторах виявляли поодинокі нейтрофільні лейкоцити та еозинофіли. В інтерстиції ниркової кори та мозкової речовини нирок були наявні гіпертрофовані фібробласти.

У щурів з СТЦ-діабетом, яким на тлі дії стрептозотонину вводили метформін в комбінації з інгібітором синтезу гідроген сульфід пропаргілгліцином, структурні пошкодження в нирковій корі та мозковій речовині нирок були більш виражені, ніж у тварин, що отримували лише метформін (рис. 5-6). Судини кровоносного мікроциркуляторного русла в нирковій корі та мозковій речовині нирок повнокровні. Просвіти артеріол звужені, внутрішня еластична мембрана в них неоднорідна, подекуди потовщена, розшарована. Однак просякання стінок артеріол і периваскулярний набряк інтерстицію менше виражені, ніж у щурів без корекції. Ниркові тільця зі зморщеними та гіпертрофованими клубочками і значно розширеними сечовими просторами, виявляли частіше, ніж у тварин, яким для корекції вводили лише метформін. Гістіолімфоцитарна інфільтрація, гіпертрофія та гіперплазія фібробластів навколо ниркових тілець були яскраво вираженими. Відмічали розширення просвітів капілярів клубочка. У їх стінках ендотеліоцити володіли ознаками гідропічної дистрофії, спостерігали явище так званих "голих ядер". Базальна мембрана капілярів клубочка потовщена, набрякла. Гістіолімфоцитарна інфільтрація та набряк інтерстицію, а також гіперплазія мезангіоцитів навколо клубочкових капілярних судин були більш виразні, ніж у тварин з експериментальним діабетом, яким вводили лише метформін. Частина сечових просторів є розширеною, всередині них наявні фібрин і білковий вміст. Однак відмічали також ниркові тільця зі звуженим сечовим простором, що вказує на порушення фільтраційних процесів у нирках.

Просвіти деяких проксимальних трубочок були розширені, містили десквамовані епітеліоцити та білковий детрит. У клітинах стінок проксимальних трубочок нефронів спостерігали вакуолярну та гіаліново-крапельну дистрофію цитоплазми. Навколо них визначався набряк інтерстицію. Просвіти дистальних трубочок також розширені. У деяких з них епітеліоцити були дистрофічно та некротично змінені. Слід зазначити, що подекуди визначались проксимальні та дистальні трубочки з порушенням цілісності їх стінок. У просвітах таких каналців знайдено білковий і клітинний детрит. Також виявлено дисциркуляторні зміни в перитубулярних гемокапілярах. Навколо останніх і трубочок нефронів спостерігали гістіолімфоцитарну інфільтрацію, інтерстиційний набряк. Просвіти лімфатичних капілярів у кірковій і мозковій речовині були значно розширені, містили лімфоцити та клітинний детрит.

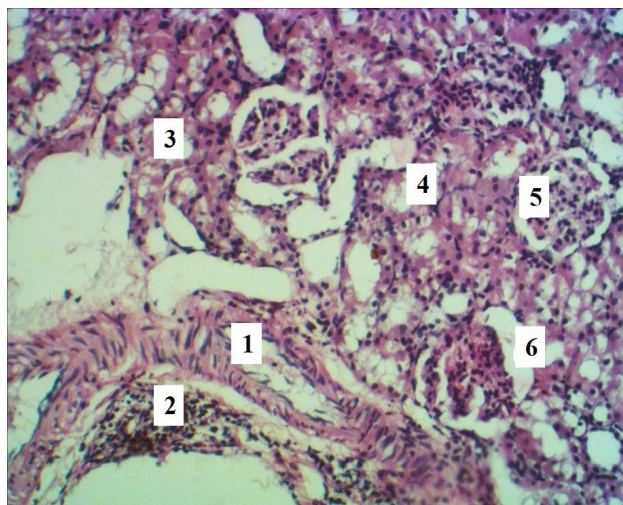


Рис. 5. Мікроскопічні зміни ниркової кори щурів з СТЦ-діабетом на 28 добу дослідження, які отримували метформін та пропаргілгліцин.

Примітки: пристінкові тромби в просвітах артеріол (1), повнокровні просвіти венул (2), розширені просвіти проксимальних трубочок (3), вакуолярна дистрофія епітеліоцитів у стінках проксимальних трубочок (4), звужені (5) та розширені (6) сечові простори. Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 100.

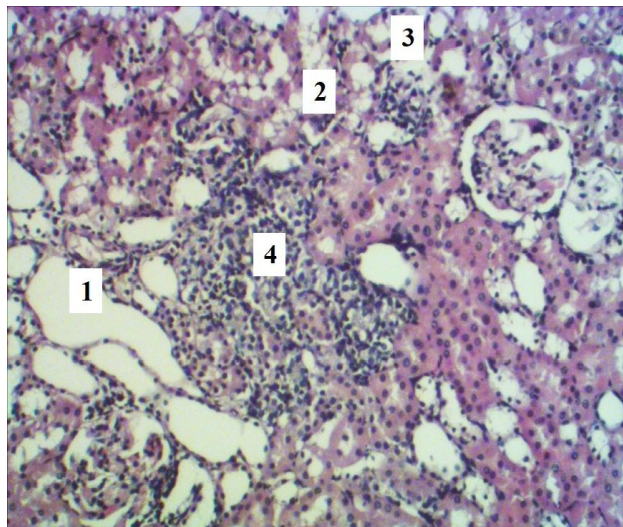


Рис. 6. Гістологічна організація кіркової речовини нирок щурів з СТЦ-діабетом, яким для корекції вводили метформін і пропаргілгліцин.

Примітки: розширені просвіти перитубулярних капілярів (1), некроз і вакуолярна дистрофія епітеліоцитів у стінках проксимальних трубочок (2) і дистальних трубочок (3), вогнища некрозу та лейкоцитарної інфільтрації (4). Забарвлення гематоксиліном та еозином. x 100.

При мікроскопічному дослідженні нирок щурів з СТЦ-діабетом, яким вводили метформін у поєднанні з донором гідроген сульфід NaHS , виявилось, що станом на 28 добу структурні пошкодження нирок були найменш виразними серед усіх груп лікованих тварин (рис. 7-8). Вони характеризувались помірним розширенням просвітів і повнокрів'ям. На відміну від щурів з стрептозо-

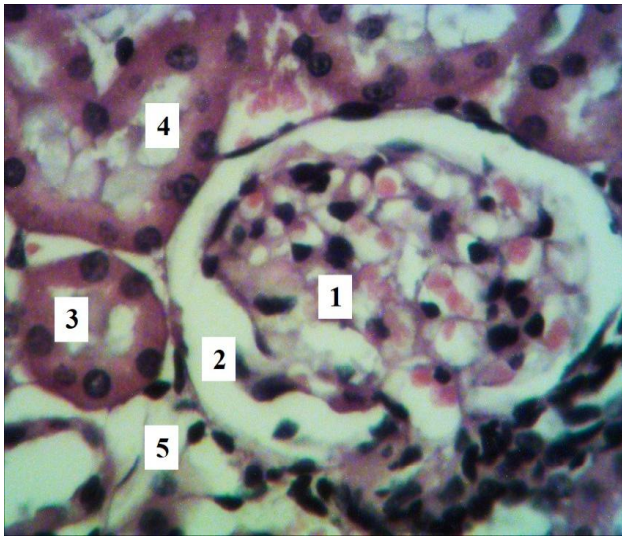


Рис. 7. Гістологічна організація ниркової кори щурів з СТЦ-діабетом на 28 добу дослідження, яким для корекції вводили NaHS та метформін.

Примітки: розширені просвіти капілярів клубочка (1), сечовий просвіт (2), просвіт проксимальної трубочки (3), просвіт дистальної трубочки (4), просвіт перитубулярного капіляра (5). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 400$.

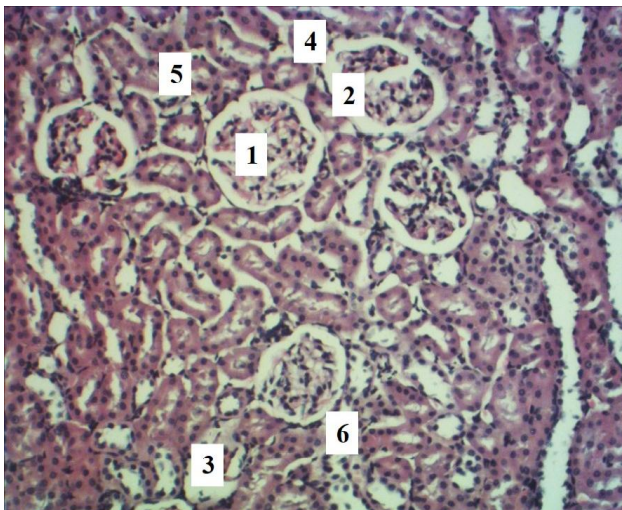


Рис. 8. Мікроскопічна організація кіркової речовини нирок щурів з експериментальним діабетом на 28 добу дослідження, яким для корекції вводили NaHS та метформін.

Примітки: гіпертрофовані ниркові тільця (1), сечові простори (2), зморщені ниркові тільця (3), дистальні трубочки (4), проксимальні трубочки (5), перитубулярні кровоносні капіляри (6). Забарвлення гематоксиліном та еозином. $\times 100$.

тоциновим діабетом без корекції, у даній групі тварин, артеріоли мали загальні закономірності будови. Ділянок набряку, розшарування, плазматичного просякання стінок та набряку інтерстицію не виявлено. Переважна більшість ниркових тілець у щурів володіли особливостями морфологічної організації, що близька до такої у тварин групи контролю. Однак, траплялись поодинокі зморщені або гіпертрофовані тільця. Гістіолімфоцитарна інфільтрація навколо них була невираженою. Окремі

капіляри клубочка характеризувались розширенням їх просвітів, що містили лейкоцити. Ендотеліальний шар стінок капілярів клубочка та їх базальна мембрана були суцільними. На відміну від щурів з експериментальним стрептозотоциновим діабетом, яким не проводили корекції, у тварин, що отримували NaHS та метформін, геморагії, гістіолімфоцитарну інфільтрацію, набряку інтерстицію, а також гіперплазію мезангіоцитів навколо судин не виявляли. Сечові простори в гіпертрофованих ниркових тільцях були розширені, однак не містили фібрину та білкового детриту.

Стінки проксимальних і дистальних трубочок нефронів були цілісними, а ознаки десквамації епітеліоцитів виражені мінімально. Просвіти деяких проксимальних трубочок розширені, їх стінки утворені епітеліоцитами кубічної форми з добре забарвленими ядрами і світлою цитоплазмою. Щіточкова облямівка наявна в більшій частині епітеліальних клітин проксимальних канальців. Гістіолімфоцитарна інфільтрація та інтерстиційний набряк навколо перитубулярних судин був відсутнім, що, ймовірно, є проявом нормалізації судинної проникності. Просвіти лімфатичних капілярів у кірковій і мозковій речовині нирок були значно розширені, в них виявляли лімфоцити.

Таким чином, стрептозотин-індукований діабет супроводжувався розвитком нефросклерозу та гіпертрофією клубочків, пошкодженням ендотелію судин, інтерстиційним запаленням і набряком, дистрофічними та некробіотичними змінами клубочків. За цих умов застосування метформіну виявляє нефропротекторну активність, яка характеризується зменшенням виразності нефросклерозу, гіпертрофії ниркових тілець, деструкції ендотелію, інтерстиційного запалення та пошкодження тубулярного апарату. Виявлені нами гістологічні зміни на тлі застосування метформіну не суперечать даним літератури при проведенні подібних досліджень [2, 7].

Використання модуляторів обміну гідроген сульфідом спричиняло різноспрямований вплив на ренопротективну активність метформіну у щурів з експериментальним цукровим діабетом. За даними гістологічних досліджень введення інгібітору синтезу гідроген сульфідом пропаргілліцину зменшувало нефропротекторний потенціал метформіну - гістологічні зміни наближались до таких у щурів з нелікованим діабетом. У той же час, застосування донору гідроген сульфідом - NaHS потенціювало захисну дію метформіну щодо нирок. Виникає питання щодо механізмів, через які реалізується вплив системи гідроген сульфідом на стан нирок щурів. Показано, що донори гідроген сульфідом виявляють протизапальну активність у нирках, яка опосередковується через зменшення експресії ядерного фактору NF- κ B, блокуванням мітоген-активованого протеїнкіназного (MAPK) сигналіну та зниження продукції прозапальних цитокінів [3, 11]. Поряд з цим встановлено, що гідроген сульфідом має антифіброгенний потенціал, який пояснюється його депримуєчим впливом на активність ренін-ангіотензин-альдостеронової

системи, а також блокуванням сигнальних шляхів, залежних від MAPK та трансформуючого фактора росту (TGF- β), що пригнічує трансформацію фібробластів у міофібробласти та проліферацію останніх [5, 8, 11]. Також донори гідроген сульфідів проявляють антиоксидантну дію через посилення експресії ядерного фактору Nrf2, що супроводжується активацією антиоксидантного захисту [3, 12].

Отримані результати гістологічного дослідження підтверджують участь системи гідроген сульфідів в механізмах ренопротективної дії метформіну. Поряд з цим за результатами роботи обґрунтовано доцільність застосування донору гідроген сульфідів з метою потенціювання ренопротективної дії метформіну.

Висновки та перспективи подальших розробок

1. Станом на 28 добу після одноразового введення стрептозоточину відмічались виразні зміни кіркового та

мозкового шару нирок, які характеризувались розвитком нефросклерозу та гіпертрофії клубочків, пошкодженням ендотелію судин нирок, інтерстиційним запаленням та набряком, дистрофічними та некробіотичними змінами клубочків.

2. Застосування метформіну за СТЦ-діабету зменшувало виразність нефросклерозу, гіпертрофії клубочків, деструкції ендотеліоцитів судин, запалення та ураження клубочкового апарату.

3. Використання донору гідроген сульфідів NaHS посилювало нефропротекторну активність метформіну, тоді як введення інгібітору синтезу гідроген сульфідів пропаргілгліцину значно зменшувало його захисну дію на нирки щурів за СТЦ-діабету.

Подальші дослідження в цьому напрямку дадуть можливість обґрунтувати необхідність включення донорів гідроген сульфідів для оптимізації фармакотерапії цукрового діабету метформіном.

Список посилань - References

- [1] Al Za'abi, M., Ali, B. H., Al Suleimani, Y., Adham, S. A., Ali, H., Manoj, P., ... Nemmar, A. (2021). The Effect of Metformin in Diabetic and Non-Diabetic Rats with Experimentally-Induced Chronic Kidney Disease. *Biomolecules*, 11(6), 814. doi: 10.3390/biom11060814
- [2] Dawood, A. F., Maarouf, A., Alzamil, N. M., Momenah, M. A., Shati, A. A., Bayoumy, N. M., ... & Al-Ani, B. (2022). Metformin Is Associated with the Inhibition of Renal Artery AT1R/ET-1/iNOS Axis in a Rat Model of Diabetic Nephropathy with Suppression of Inflammation and Oxidative Stress and Kidney Injury. *Biomedicines*, 10(7). doi: 10.3390/biomedicines10071644
- [3] Feng, J., Lu, X., Li, H., & Wang, S. (2022). The roles of hydrogen sulfide in renal physiology and disease states. *Ren Fail*, 44(1), 1289-1308. doi: 10.1080/0886022X.2022.2107936
- [4] Hashmi, S. F., Rathore, H. A., Sattar, M. A., Johns, E. J., Gan, C. Y., Chia, T. Y., & Ahmad, A. (2021). Hydrogen Sulphide Treatment Prevents Renal Ischemia-Reperfusion Injury by Inhibiting the Expression of ICAM-1 and NF- κ B Concentration in Normotensive and Hypertensive Rats. *Biomolecules*, 11(10). doi: 10.3390/biom11101549
- [5] Huang, Y., Zhang, Z., Huang, Y., Mao, Z., Yang, X., Nakamura, Y., ... & Yao, J. (2018). Induction of inactive TGF- β 1 monomer formation by hydrogen sulfide contributes to its suppressive effects on Ang II- and TGF- β 1-induced EMT in renal tubular epithelial cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 501, 534-540. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2018.05.032>
- [6] Kawanami, D., Takashi, Y., & Tanabe, M. (2020). Significance of Metformin Use in Diabetic Kidney Disease. *Int J Mol Sci.*, 21(12). doi: 10.3390/ijms21124239
- [7] Lehtonen, S. (2020). Metformin Protects against Podocyte Injury in Diabetic Kidney Disease. *Pharmaceuticals* (Basel), 13(12). doi: 10.3390/ph13120452
- [8] Li, L., Xiao, T., Li, F., Li, Y., Zeng, O., ... & Yang, J. (2017). Hydrogen sulfide reduced renal tissue fibrosis by regulating autophagy in diabetic rats. *Mol Med Rep*, 16(2), 1715-1722. doi: 10.3892/mmr.2017.6813
- [9] Maheshwari, R. A., Balaraman, R., Sen, A. K., & Seth, A. K. (2014). Effect of coenzyme Q10 alone and its combination with metformin on streptozotocin-nicotinamide-induced diabetic nephropathy in rats. *Indian J Pharmacol.*, 46(6), 627-632. doi: 10.4103/0253-7613.144924
- [10] Ngowi, E. E., Sarfraz, M., Afzal, A., Khan, N. H., Khattak, S., Zhang, X., ... & Wu, D. D. (2020). Roles of Hydrogen Sulfide Donors in Common Kidney Diseases. *Front Pharmacol.*, 11. doi: 10.3389/fphar.2020.564281
- [11] Sun, H. J., Wu, Z. Y., Cao, L., Zhu, M. Y., Liu, T. T., ... & Bian, J. S. (2019). Hydrogen Sulfide: Recent Progression and Perspectives for the Treatment of Diabetic Nephropathy. *Molecules*, 24(15), 2857. doi: 10.3390/molecules24152857
- [12] Zhang, H., Zhao, H., & Guo, N. (2021). Protective effect of hydrogen sulfide on the kidney (Review). *Mol Med Rep.*, 24(4), 696. doi: 10.3892/mmr.2021.12335

MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE KIDNEY TISSUE OF RATS WITH EXPERIMENTAL DIABETES MELLITUS AND DURING CORRECTION WITH METFORMIN AND MODULATORS OF HYDROGEN SULFIDE METABOLISM

Strutynska O. B., Melnyk A. V.

Annotation. Metformin is widely used for pharmacocorrection of diabetic nephropathy in type 2 diabetes mellitus. However, the mechanisms of the protective effect of metformin on the kidneys remain unclear, in particular, the contribution of the hydrogen sulfide system to metformin's nephroprotective effect is unknown. Therefore, the aim of our study was to assess the role of metformin and its combination with modulators of hydrogen sulfide metabolism in the correction of histological changes in the kidneys of streptozotocin-induced diabetic rats. The studies were performed on 30 white non-linear male rats, which were divided into five groups: 1 group - control; group 2 - animals with experimental diabetes, which was initiated by a single intraperitoneal injection of streptozotocin (40 mg/kg of weight) in 0.1 M citrate buffer (pH 4.5); Group 3 - animals with experimental diabetes, which were treated with metformin (500 mg/kg/day, intragastrically) from the 3rd to the 28th day; Group 4 - animals with diabetes mellitus, which, along with metformin, were administered NaHS (56 μ mol/kg/day, intragastrically); Group 5 - animals with diabetes mellitus, which, along with metformin, were administered propargylglycine (442 μ mol/kg/day, intragastrically). Histological examinations were performed according to generally accepted methods using an Olympus BX-41 light microscope (Olympus Europe GmbH, Japan). It was found that animals with experimental diabetes develop nephrosclerosis and glomerular hypertrophy, damage to the endothelium of kidney vessels, interstitial

inflammation, and edema, and dystrophic and necrobiotic changes in the glomeruli. The administration of metformin to diabetic animals reduced the severity of nephrosclerosis, glomerular hypertrophy, destruction of vascular endotheliocytes, inflammation, and damage to the glomerular apparatus. The use of the hydrogen sulfide donor NaHS increased the nephroprotective activity of metformin, while the introduction of the hydrogen sulfide synthesis inhibitor- propargylglycine, significantly reduced the protective effect of metformin on the kidneys. The obtained results of the histological examination justify the feasibility of implementation of a hydrogen sulfide donor in order to potentiate the renoprotective effect of metformin.

Keywords: *kidneys, histological structure, diabetes, metformin, propargylglycine, hydrogen sulfide, rats.*
