



Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis

Scientific and Practical, Medical Journal

Founders:

- State Institution «Institute of Nephrology NAMS of Ukraine»
- National Kidney Foundation of Ukraine

ISSN 2304-0238;
eISSN 2616-7352

Journal homepage: <https://ukrjnd.com.ua>

Research Article

M. Kolesnyk, L. Korol, N. Stepanova, V. Driianska,
L. Migal, V. Savchenko

doi: 10.31450/ukrjnd.2(58).2018.04

Antioxidant effects of immunomodulators in patients with recurrent pyelonephritis

SI «Institute of Nephrology of NAMS of Ukraine»

Citation:

Kolesnyk M, Korol L, Stepanova N, Driianska V, Migal L, Savchenko V. Antioxidant effects of immunomodulators in patients with recurrent pyelonephritis. Ukr Journ Nephrol Dial. 2018;2(58):18-28. [In Ukrainian]. doi: 10.31450/ukrjnd.2(58).2018.04

Abstract. *The purpose of our work was to investigate the effect of immunomodulatory medicines on the intensity of oxidative stress (OS), the cytokines level and the activity of renospecific enzymes in patients with recurrent pyelonephritis (rPN).*

Methods. *A prospective, randomized, open-label study involved of 100 women aged 33.4 ± 8.8 year old. According to the sensitivity of the detected pathogens all patients received antibacterial therapy for two weeks. Along with the main course of antibiotic therapy, 25 patients were assigned Sodium nucleinate at a dose of 0.25 g 4 times per day during 14 days, 18 patients were prescribed Galavit intramuscularly 2 ml per day for 10 days, and 27 patients were prescribed Proteflazid according to the manufacturer's instructions. The comparison group consisted of 30 women with rPN who received antibiotic therapy exclusively. Women were screened before and after the treatment. The content of malondialdehyde (MDA), ceruloplasmin (CP), transferrin (TF) and sulfhydryl groups (SH-groups) were determined in the blood by colorimetric method. Oxidative stress index (OSI) was calculated. The concentration of interleukins (IL) -1β, -4, -8, -10, -17, tumor necrosis factor α (TNF-α), transforming growth factor β (TGF-β), monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and interferon γ (IFN-γ) were analyzed in the blood of the women using an ELISA. To evaluate the functional state of the renal parenchyma the activity of tubular lysosome enzymes a total β-N-acetylhexosaminidase and β-galactosidase were determined in urine.*

Results. *The use of Sodium nucleinate decreased of the OS activity by reducing MDA level (p < 0.001) and increasing the concentration of CP (p < 0.03). The serum levels of IL-4 (p = 0.007), IL-17 (p = 0.04), TGF-β (p = 0.02) and MCP-1 (p = 0.03) were decrease. The use of Galavit contributed to a statistically significant decrease in the concentration of TNF-α (p < 0.001), IL-8 (p < 0.001), IFN-γ (p = 0.001) and TGF-β (p < 0.001). The administration of Proteflazid resulted in a decrease in the concentrations of IL-8 and IFN-γ, with a decrease in OSI (p = 0.04) compared to pre-treatment. All applied immunomodulators partially reduced the activity of renospecific enzymes markers of kidney damage.*

Conclusions. *The use of immunomodulators in the complex therapy of patients with rPN contributes to the partial normalization of functional activity of immune system by the decreasing of the production of cytokines as its mediators and the reducing of the OS intensity.*

Key words: *immunomodulators, recurrent pyelonephritis, oxidative stress, cytokines, treatment.*

Conflict of interest statement: all the authors declared no competing interests.

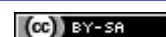
© M. Kolesnyk, L. Korol, N. Stepanova, V. Driianska, L. Migal, V. Savchenko, 2018.
Correspondence should be addressed to Lesya Korol lesyakorol@meta.ua

Article history:

Received 29 May 2018

Received in revised
form 25 May 2018

Accepted 7 June 2018



© Колесник М.О., Король Л.В., Степанова Н.М., Дріянська В.Є., Мигаль Л.Я., Савченко В.С., 2018

УДК 616.61-0002.3-036.12

М.О. Колесник, Л.В. Король, Н.М. Степанова, В.Є. Дріянська, Л.Я. Мигаль, В.С. Савченко

Антиоксидантні ефекти застосування імуномодуляторних засобів у пацієнток з рецидивуючим пієлонефритом

Державна установа «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ

Резюме. Метою роботи було дослідити вплив застосування імуномодуляторних засобів на інтенсивність оксидативного стресу (ОС), цитокінову ланку імунітету та активність реноспецифічних ензимів у хворих на рецидивуючий пієлонефрит (рПН).

Матеріал та методи. Проспективне рандомізоване відкрите дослідження за участю 100 жінок з рПН віком $33,4 \pm 8,8$ років. Усі пацієнтки отримували антибактеріальне лікування протягом двох тижнів, згідно визначеної чутливості виявлених збудників до антибактеріальних лікарських засобів. Поряд з основним курсом антибактеріальної терапії 25 хворим призначали імуномодуляторний засіб Нуклеїнат натрію 0,25 г 4 р/добу, 14 днів, 18 пацієнткам призначали Галавіт в/м по 2 мл через добу № 10, 27 хворим призначали Протефлазід згідно інструкції виробника. Групу порівняння склали 30 жінок з рПН, які отримували виключно антибактеріальну терапію.

Жінки були обстежені до та після закінчення лікування. Інтенсивність ОС оцінювали шляхом визначення у сироватці крові малонового діальдегіду (МДА), церулоплазміну (ЦП), трансферину (ТР) та сульфгідрильних груп білків, розраховували індекс ОС (ІОС).

Цитокінову ланку імунітету досліджували за концентраціями інтерлейкінів (ІЛ) -1 β , -4, -8, -10, -17, фактору некрозу пухлин α (ФНП- α), трансформуючого фактору росту β (ТФР- β), моноцитарного хемотаксичного протеїн-1 (МХП-1) та інтерферон γ (ІФН- γ). У сечі пацієнтів визначали активність N-ацетил- β -D-гексозамідази (НАГ) і β -галактозидази (β -Гал), специфічних для нирок.

Результати. Застосування Нуклеїнату натрію сприяло зниженню активності ОС за рахунок зниження МДА ($p < 0,001$) й підвищення концентрації ЦП ($p < 0,03$) та зниженню сироваткових рівнів ІЛ-17 ($p = 0,04$), ТФР- β ($p = 0,02$) і МХП-1 ($p = 0,03$), що призводило до зменшення запалення та, відповідно, активності Тх-2 та, відповідно, продукції протизапального ІЛ-4 ($p = 0,007$). Застосування Галавіту сприяло статистично значущому зниженню концентрації ФНП- α ($p < 0,001$), ІЛ-8 ($p < 0,001$), ІФН- γ ($p = 0,001$) та ТФР- β ($p < 0,001$). Призначення Протефлазиду приводило до зниження концентрації ІЛ-8 та ІФН- γ разом із зниженням ІОС ($p = 0,04$), нормалізації ТР ($p = 0,001$) та МДА сироватки ($p < 0,001$) у порівнянні зі станом перед лікуванням.

Усі застосовані засоби частково знижували активність реноспецифічних ензимних маркерів ушкодження нирок

Висновки. Застосування імуномодуляторних засобів у комплексній терапії пацієнток з рПН сприяє частковій нормалізації функціональної активності клітин імунної системи за продукцією цитокінів як її медіаторів та знижують інтенсивність ОС.

Ключові слова: імуномодуляторні засоби, рецидивуючий пієлонефрит, оксидативний стрес, цитокіни, лікування.

Вступ. Рецидивуючий пієлонефрит (рПН) являє собою глобальну соціально-економічну проблему охорони здоров'я в усьому світі [1, 2]. Близько 70% жінок репродуктивного віку принаймні хоч раз у житті переносять епізод дизурії, спричинений ІСС, а у 30%-40% з них щорічно спостерігаються 1-3 рецидиви захворювання [1, 2, 3]. Серед низки патогенетичних факторів рПН провідна роль належить розви-

тку оксидативного стресу (ОС) в клітинах нирок (їх оксидативному ураженню) [2-6] та вторинному імунодефіциту, що поєднується з глибокою деструкцією сполучнотканинних структур ниркового інтерстицію і базальних мембран [5]. Унаслідок прямої дії бактерій, гіпоксії та запальної реакції відбувається зростання продукції активних метаболітів кисню, тоді як їх несвоєчасне знешкодження сприяє розвитку ОС, що, у свою чергу, стимулює рецептори клітин, які індукують продукцію прозапальних цитокінів та експресію адгезивних молекул [6, 8, 10]. З іншого боку, утворення активних метаболітів кисню є основою неспецифічного імунітету [5]. Тому комплексна терапія хворих на рПН повинна включати лікарські засоби, які здатні корегувати порушення імунної системи та впливати на ОС [6, 10, 11].

Король Леся Вікторівна

lesyakorol@meta.ua

На сьогодні у пацієнтів з рПН все частіше використовуються імуномодуляторні препарати [11-20]. Основним показанням до призначення імуномодуляторів є вторинна імунна недостатність, що клінічно проявляється схильністю до активного перебігу інфекційно-запальних процесів будь-якої локалізації, частими рецидивами захворювання, резистентністю до лікування, переважанням опортуністичних або умовно патогенних мікроорганізмів, а також патогенної флори з атиповими біологічними властивостями, наявністю множинної резистентності до антибактеріальних лікарських засобів [18]. Наукова література демонструє досвід використання імуномодуляторних лікарських засобів у хворих з хворобами нирок мікробного походження – бактеріальні лізати (імудон, уро-ваксом); дріжджові гідролізати (натрію нуклеїнат) [16], препаратів тимусу та синтетичних аналогів тимічних факторів (тималін, тактивин, тимоптин, тимоген, Т-активін), цитокінів та їх синтетичних похідних: інтерферону та синтетичних індукторів (інтерферон людський, віферон, циклоферон, аміксин) [13, 18, 21, 22], синтетичних імуностимуляторів (левамізол, поліоксидоній) та поліпептидних засобів (Arg- -Asp-Lys-Val-Tyr-Arg (імунофан), γ -D-глутаміл-L-триптофану) [15], імуностимулятори рослинного походження (імупрет, імунал) [14, 16].

Одним з напрямків патогенетичної терапії рПН є використання пептидних імуномодуляторів. Так, у дослідженні за участю 62 жінок з рПН, яким був призначений пептидний імуномодулятор γ -D-глутаміл-L-триптофану (γ -D-Glu-L-Trp), що індукує диференціювання попередників Т-лімфоцитів з переважною стимуляцією утворення Т-хелперів 1 типу і пригніченням Т-хелперів 2 типу, було продемонстровано прискорення клінічного одужання, активізацію клітинної ланки імунітету та функціональної активності фагоцитів [15].

В іншому дослідженні визначались імуномодулюючі властивості Поліоксидонія, що є N-оксидованим похідним поліетіленпіперазину, який впливає на фактори природної резистентності: моноцити / макрофаги, нейтрофіли і природні кілери, а також фактори набутого імунітету – гуморального і клітинного [22]. Під час взаємодії Поліоксидонію з нейтрофілами активується міграція нейтрофілів у вогнище запалення, посилюються незалежні від кисню механізми бактерицидності і здатність фагоцитів поглинати і вбивати мікроби. Взаємодія Поліоксидонію з мононуклеарами і природними кілерами призводить до індукції синтезу моноцитами цитокінів (ФНП- α і ІЛ-1 β), посилення цитотоксичності природних кілерів. Підвищення під впливом Поліоксидонія функціональної активності моноцитарно-макрофагальної системи активує клітинний і гуморальний імунітет, що проявляється в посиленні синтезу антитіл [22]. Отже, на думку більшості авторів, імунотропна активність імуномодуляторів дозволяє використовувати

їх для відновлення функцій імунної системи і забезпечення належного імунного захисту організму. У той же час, імуномодулююча терапія за своєю спрямованістю не є етіотропною.

Одним з напрямків застосування імуномодуляторних лікарських засобів у лікуванні хвороб нирок бактеріальної етіології є посилення антиінфекційного імунітету та зниження частоти рецидивів ПН [2, 10, 11, 16, 18, 21, 23]. Так, у дослідженні за участі дітей з рПН імунокоригуюча терапія препаратами Імупрет і Нуклеїнат натрію привела до зниження рівнів прозапального ІЛ-17 і зростання рівнів протизапального ІЛ-4 [16]. На думку автора, більш високі рівні ІЛ-4 у хворих після імунокорекції свідчать про значну активацію Т-лімфоцитів, хелперів другого типу і стимуляцію гуморальної ланки імунітету, що слід вважати позитивним прогностичним ефектом повної елімінації збудника з організму і запобігання рецидивам ПН [16].

Серед імуномодуляторних засобів, що активно використовуються останнім часом, є Нуклеїнат натрію, Галавіт та Протефлазид [4, 17, 22]. Так, Галавіт (Код АТС L03A X21*) -5-аміно-1,2,3,4-тетрагідрофталазин-1,4-діону-2 натрієва сіль- синтетичний низько молекулярний імуномодуляторний лікарський засіб з протизапальною активністю [4]. Дозволений до клінічного застосування з 1997 р Галавіт® -імуномодулятор з доведеною протизапальною дією. Галавіт демонструє не тільки імуномодулюючі і протизапальні, а й мембрано-протективні, антиоксидантні і репараційні ефекти; безпосередньо впливає на регуляцію фагоцитарної і проліферативної активності: макрофагів, нейтрофілів, НК-клітин, Т-лімфоцитів. Він регулює синтез ендогенних інтерферонів (ІФН- α , γ), опосередковано впливає на продукцію антитіл (IgM, IgG, IgA) і їх функціональну активність; протизапальний ефект Галавіту: оборотне (на 6-8 годин) інгібування надлишкового синтезу активованими макрофагами прозапальних цитокінів (ІЛ-1, ФНП- α), індукція синтезу протизапальних цитокінів (ІЛ-10), що приводить до зниження ступеня інтоксикації, тривалості і виразності запального процесу. Мембрано-протективний ефект проявляється опосередковано, за рахунок зниження ОС, внаслідок пригнічення продукції активних форм кисню фагоцитарних клітинами, що призводить до підвищення стійкості клітинних мембран і зменшення шкідливої дії продуктів пероксидації [19, 24].

Іншим цікавим препаратом є Нуклеїнат натрію (Код АТС L03A X21*) - імуномодуляторний засіб, який стимулює лейкоцитоз у кістковому мозку, відновлюючи диференціацію, якісний та кількісний склад клітин кісткового мозку і периферичної крові [12, 16]. Нормалізує клітинний імунітет, підвищуючи міграцію і кооперацію Т- і В-лімфоцитів та фагоцитарну активність макрофагів, посилюючи активність факторів неспецифічної резистентності [16, 23]. Має протизапальну активність і при-

гнічує підвищену агрегацію тромбоцитів. В основі фармако-терапевтичних ефектів препарату лежать такі механізми: стимулювання процесів клітинного метаболізму, посилення біосинтезу ендогенних нуклеїнових кислот, специфічних протеїнів та ферментів; посилення мітотичної активності клітин кісткового мозку, прискорення процесів регенерації; підвищення енергозабезпечення клітини шляхом стимулювання синтезу макроергічних сполук (АТФ); підвищення продукції інтерферону та стимулювання противірусного захисту, нормалізація NO-синтазної активності, інгібування окисних процесів у клітинних мембранах, стабілізація мембран клітин та оптимізація окисно-відновних процесів у тканинах [12, 16, 23].

Вітчизняний рослинний засіб Протефлазід (Код АТС J05A X20**) містить рідкий екстракт (1:1) одержаний із суміші трави Щучки дернистої (*Herba Deschampsia caespitosa* L.) та трави Війника наземного (*Herba Calamagrostis epigeios* L.), в складі якого не менше 0,32 мг флавоноїдів у перерахунку на рутин та не менше 0,3 мг суми карбонових кислот у перерахунку на яблучну кислоту. Протефлазід є імуномодуляторним препаратом рослинного походження, який збільшує продукцію ендогенних інтерферонів та неспецифічну резистентність організму до вірусної та бактеріальної інфекції [21].

Виходячи зі властивостей даних лікарських засобів вважали за необхідне дослідити їх вплив на інтенсивність запалення, ОС та активність органоспецифічних ензимів у хворих на рПН.

Мета роботи: дослідити вплив імуномодуляторних засобів на інтенсивність ОС, цитокінову ланку імунітету та активність реноспецифічних ензимів в сечі хворих на рПН.

Матеріал та методи. Нами було проведено проспективне рандомізоване відкрите дослідження за участю 100 жінок з рПН віком від 20 до 50 років (у середньому $33,4 \pm 8,8$ років). Усі пацієнтки перебували на амбулаторному лікуванні у ДУ «Інститут нефрології НАМН України» протягом 2014–2018 років та надали письмову інформовану згоду на участь у дослідженні.

Референтну групу склали 30 умовно-здорових жінок того ж віку.

Протокол дослідження був схвалений локальною етичною комісією ДУ «Інститут нефрології НАМН України». Під час виконання роботи дотримані принципи біоетики, законодавчих норм та вимог щодо проведення біомедичних досліджень.

Критеріями включення пацієнток до дослідження були: наявність клінічних ознак рецидиву ПН (підвищення температури тіла, відчуття болю та важкості у костовертебральному куті, дизурія та інші); ідентифікація бактеріального збудника у сечі; лейкоцитурія; підписання пацієнткою інформованої згоди на участь у дослідженні.

Критеріями виключення пацієнток із дослідження були: цукровий діабет; вагітність; лакта-

ція; обструкція сечової системи; пухлини нирок та сечових шляхів; зниження швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) < 60 мл/хв/1,73 м²; наявність супутніх декомпенсованих захворювань або гострих станів.

Серед етіологічних чинників рПН домінували *E. coli* – 42/100 (42 %) та *E. faecalis* – 33/100 (33 %) жінок.

Усі пацієнтки отримували антибактеріальне лікування протягом двох тижнів, згідно визначеної чутливості виявлених збудників до антибактеріальних лікарських засобів. Поряд з основним курсом антибактеріальної терапії 25 хворим призначали імуномодуляторний засіб Нуклеїнат натрію 0,25 г 4 р/добу, 14 днів, які склали I групу, 18 пацієнткам призначали Галавіт в/м по 2 мл через добу № 10 (II група), 27 хворим призначали Протефлазід згідно інструкції виробника (III група). Групу порівняння склали 30 жінок з рПН, які отримували виключно антибактеріальну терапію.

Жінки були обстежені до та після закінчення лікування. Під позитивним впливом лікарського засобу ми розуміли його регуляторний ефект: по-перше, підвищення досліджуваного показника після лікування, якщо його вихідні дані були нижче нормальних величин; по-друге, зниження відповідного показника після лікування, якщо його вихідні дані були більші за показники фізіологічної норми.

У сироватці крові пацієнток та умовно-здорових жінок референтної групи визначали концентрацію інтерлейкінів (ІЛ-1 β , -4, -8, -10, -17, 23), фактору некрозу пухлин (ФНП- α), трансформінового фактору росту (ТФР- β), інтерферону γ (ІФН- γ) та моноцитарного хемотаксичного протеїну-1 (МХП-1) за допомогою імуноферментного аналізатору «SunRise TouchScreen» та тест-систем «Diacclone» (Франція), «DRG» (Німеччина) і «Вектор Бест» (РФ).

Інтенсивність ОС визначали за концентраціями малонового діальдегіда у сироватці (МДАс) та еритроцитах (МДАе) за реакцією з тіобарбітуровою кислотою, церулоплазмину сироватки (ЦП) за реакцією з п-фенілендіамін дигідрохлоридом, трансферину (ТР) за реакцією з залізо-амоній цитратом, SH груп сироватки крові [25]. Розраховуючи індекс ОС (ІОС) як співвідношення сумарних змін активності оксидативних процесів до показника антиоксидантної ємності крові (АОЄ) [26]. В еритроцитах та сечі визначали сумарну пероксидазну активність (СПАе та СПАсечі) [6]. Також визначали активність специфічних для нирок N-ацетил- β -D-гексозамінідази (ЕС 3.2.1.30, НАГ), β -галактозидази (ЕС 3.2.1.23, β -Гал) [27] та аргінін:глїцин амідинотрансферази (ЕС 2.1.4.1, АГАТ) [28].

Статистичну обробку отриманих результатів проводили за допомогою програм «Statistica 10,0 for Windows» та «MedCalc» з урахуванням перевірки

ки показників на нормальний розподіл з використанням критерію Колмогорова-Смірнова (dK-S). За умов нормального розподілу оцінювали середні значення показників (M) та середнє квадратичне відхилення (SD); для їх порівняння використовували критерій Ст'юдента (kS). За невідповідності закону нормального розподілу для опису ознаки застосовували медіану (Me) та інтерквартильний розмах [Q25-Q75]; для порівняльного аналізу застосовували непараметричний (U-критерій) Манна-Уїтні.

Кореляційний зв'язок кількісних показників рівнів цитокінів, за умов їх нормального розподілу, визначали за методом Пірсона (r). Кореляційний аналіз за Спірменом (ρ) використовували у разі відсутності нормального розподілу показників.

Результати дослідження. Дослідження клінічних ефектів імуномодуляторних засобів у схемі комплексного лікування хворих на рПН продемонструвало нормалізацію температури тіла, зменшення скарг, покращення самопочуття та збільшення

працездатності вже на 3-5 день, тоді як у групі порівняння цей період становив 5-7 днів.

Порівняльний аналіз показників ОС до лікування встановив зростання концентрації МДАс у хворих на рПН у порівнянні з показниками референтної групи (p = 0,02); концентрація ТР у 70% пацієнток перевищувала показники референтної групи (p < 0,001), а у решти пацієнтів навпаки знижувалася майже на третину (p < 0,05). Концентрація ЦП також знижувалася у 30 % хворих в середньому на 20% (p < 0,05). Показники СПАе у 22% хворих у 1,33 рази перевищували показники референтної групи (p < 0,05), у 30% хворих знижувалися майже на 45% (p < 0,02). Загальні концентрація SH груп у сироватці крові у 30% хворих знижувалася на 18% (p < 0,05), у решти пацієнтів перебували у межах референтного діапазону. Проте концентрація SH-груп небілкової фракції знижувалася майже в усіх пацієнток на 18-50% (p < 0,02) (табл. 1). Ці зміни оксидантно-антиоксидантних (О/А) параметрів крові зумовлювали зростання ІОС до 5 разів (p < 0,02-0,05).

Таблиця 1

Показники ліпопероксидації та антиоксидантного захисту в крові хворих на хронічний пієлонефрит до та після застосування імуномодуляторних засобів (M ± SD)

Показник		Референтна група (n = 30)	Група порівняння (n = 30)	I група (n = 25)	II група (n = 18)	III група (n = 27)
ТР, г/л	до	4,162±0,80	8,562±1,183 *	2,922 ± 0,3622*	9,892±0,916*	8,184±0,565*
	після	0,80	10,482±1,440*	3,224±0,356*	8,141±0,923*	6,192±0,508 **
ЦП, г/л	до	0,218±0,011	0,191±0,010	0,174 ± 0,01*	0,184±0,020	0,208±0,011
	після	0,011	0,173±0,012*	0,232±0,009 **	0,161±0,016*	0,210±0,012
СПАе мккат/г Нв	до	7,622±0,348	10,252±1,848*	3,892 ± 0,317 *	7,467±0,346	7,152±0,499
	після	0,348	8,834±1,317	4,250±0,366 *	6,780±0,275	6,963±0,452
SHc (ммоль/л)	до	2,218±0,018	1,982±0,478	1,840 ± 0,051*	1,962±0,124	1,893±0,117
	після	0,018	2,024±0,484	2,060±0,049 **	2,283±0,137	1,962±0,153
SHc небілкові (ммоль/л)	до	0,778±0,086	0,592±0,031*	0,64±0,052*	0,405±0,062*	0,652±0,027*
	після	0,086	0,653±0,026*	0,611±0,048*	0,656±0,049 **	0,617±0,056*
МДАс (мкмоль/л)	до	119,20±35,20	514,02±32,04*	470,08 ± 30,77*	192,04±65,77	270,03±13,86*
	після	35,20	450,05±28,03*	344,25±48,67***	180,02±22,88	192,02±31,78**
МДАе (мкмоль/л)	до	549,30±50,92	604,23±81,12	613,88 ± 81,72	553,31±112,1	578,13±51,08
	після	50,92	488,08±48,02	647,56 ± 61,62 *	475,03±52,77	643,02±50,05
АОЄс	до	1,0±0,1	1,273±0,053	0,776±0,028*	1,36±0,35	1,25±0,207
	після	0,1	1,141±0,065	0,922±0,033 **, *	1,23±0,32	1,1±0,22
ІОСс	до	1,0 ± 0,1	3,391±0,170	5,080±0,420*	1,17±0,27	1,790±0,150
	після	0,1	2,72±0,260 *, **	3,130±0,450*, **	0,802±0,132	1,490±0,120 *, **

Примітки: * – статистично значуща різниця у порівнянні з референтною групою, ** - зі станом до лікування

Як продемонстровано у таблиці 1, після завершення лікування Нуклеїнатом натрію спостерігалось позитивне зниження рівнів МДАс

(p = 0,03), ІОС (p = 0,001), АОЄ (p = 0,01) та зростання вмісту ЦП (p = 0,02) до показників референтної групи.

Аналізуючи вплив застосування інших імуномодуляторних засобів констатовано, що призначення Галавіту хворим на рПН практично не впливало на О/А показники за виключенням концентрації небілкової фракції SHc, котрий збільшився на 60% проти рівня до лікування ($p < 0,001$) (див. табл. 1).

Застосування Протефлазиду сприяло нормалізації концентрації ТР ($p = 0,001$) та МДАс ($p < 0,001$), що скоріш за все, зумовлено індукуванням синтезу інтерферонів (див. табл. 1).

Кореляційний аналіз між О/А показниками у пацієток з рПН виявив пряму залежність між концентраціями МДАс й ІОС ($r = 0,463$, $p < 0,02$) та ЦП і АОЄ ($r = 0,793$, $p < 0,001$). Встановлено зворотній кореляційний зв'язок між ТР та ІОС ($r = -0,415$, $p < 0,01$), а також ЦП і ІОС ($r = -0,453$, $p < 0,01$). Тобто, чим нижчі концентрації ТР та ЦП, тим нижча АОЄ і тим інтенсивніший ОС.

Дослідження цитокінової ланки імунітету хворих на рПН продемонструвало вірогідне підвищення продукції, ІЛ-6, -10, -17 та ФНП- α у порівнянні з умовно-здоровими жінками (рис. 1).

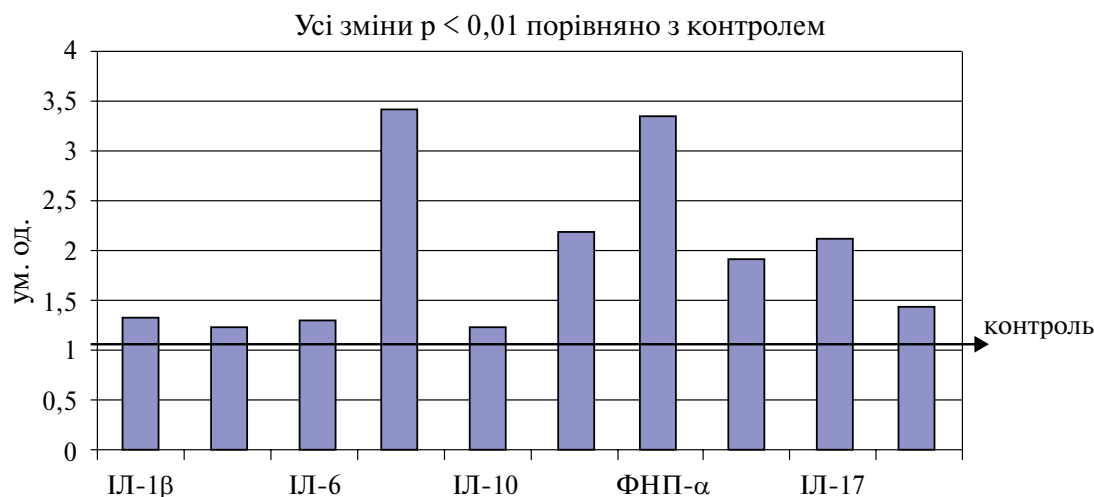


Рис. 1. Концентрація досліджуваних медіаторів запалення у крові хворих на рПН ($n = 100$) порівняно з референтною групою.

Концентрація ТФР- β у крові хворих на рПН втричі перевищувала таку у пацієток референтної групи: $3,5 \pm 1,5$ проти $0,36 \pm 0,02$ пкг/мл ($p < 0,0001$). Зростання ТФР- β продукції у хворих на рПН є скоріш негативним фактором через його властивості пригнічувати імунну відповідь [10, 11] та сприяти проліферації сполученої тканини і фіброзу нирок [29]. Цей багатофункціональний протизапальний цитокін відіграє роль ключового фактору, що індукує утворення екстрацелюлярних матриксних протеїнів. Внаслідок численних досліджень встановлено, що на завершальних етапах запального процесу ТФР- β активно стимулює хемотаксис Т-клітин, моноцитів, лейкоцитів і фібробластів в інтерстицій [5, 29]. Також під впливом ТФР- β посилюється синтез інгібіторів протеаз і знижується секреція самих протеаз, котрі деградують матрикс. Виходячи з цього, можна зробити висновок, що біологічні ефекти ТФР- β реалізуються практично на всіх етапах формування тубулоінтерстиціальних і гломерулярних пошкоджень [5, 29].

Крім того, нами визначено помірний кореляційний зв'язок між рівнем ФНП- α та ЦП ($r = 0,377$, $p < 0,01$), що можна пояснити синтезом лімфоцитами та моноцитами/макрофагами ФНП- α саме у вогнищі запалення, який спільно з ІЛ-1 та ІЛ-6 ін-

дукує синтез протеїнів гострої фази запалення. До того ж, підвищення ЦП та його активація зумовлені підвищенням утворенням макрофагами супероксидного радикалу та збільшенням Fe^{2+} . Також виявлений прямий корелятивний зв'язок між рівнем ІЛ-23 та вмістом ЦП ($r = 0,333$, $p < 0,02$), що зумовлено прозапальними властивостями даного цитокіну. Концентрація ІЛ-17 мала зворотній кореляційний зв'язок з ІОС ($r = -0,63$, $p = 0,0008$).

Аналіз впливу застосованих імуномодуляторних засобів на цитокінову ланку імунітету продемонстрував ряд позитивних ефектів. Так, використання Нуклеїнату натрію сприяло вірогідному зниженню високих рівнів: ФНП- α ($87,8 [70,7; 94,3]$ проти $63,1 [57,8; 73,9]$ пкг/мл, $p = 0,001$), МХП-1 ($211,5 [154,4; 252,8]$ проти $136,4 [110,3; 187,1]$ пкг/мл, $p = 0,008$), ІЛ-23 ($68,8 \pm 3,2$ проти $50,8 \pm 4,0$ пкг/мл, $p < 0,05$). Нами не визначено динаміки ІЛ-17 ($p = 0,316$), тобто на функціональну активність Т-хелперів 17 типу Нуклеїнату натрію вірогідно не впливав. Після застосування Нуклеїнату натрію спостерігалось вірогідне зниження вмісту ІЛ-4 ($65,8 \pm 6,2$ проти $43,8 \pm 4,0$ пкг/мл, $p = 0,004$). Таким чином, у хворих на рПН використання Нуклеїнату натрію сприяє зниженню ФНП- α , МХП-1 і ІЛ-23, що приводить до зменшення активності запалення. У пацієток групи порів-

няння визначено зниження лише рівнів ІЛ-4 ($p = 0,007$) та ІЛ-17 ($p = 0,04$).

Застосування Галавіту у комплексній терапії хворих на рПН сприяло достовірному зниженню концентрації прозапальних цитокінів у сироватці крові, а саме: ФНП- α ($82,7 \pm 4,4$ проти $33,4 \pm 2,8$ пкг/мл, $p < 0,001$), ІЛ-8 ($42,7 \pm 3,3$ проти $26,2 \pm 2,7$ пкг/мл, $p < 0,001$), ІФН- γ ($25,9 \pm 1,9$ проти $17,0 \pm 1,3$ пкг/мл, $p = 0,001$) та ТФР- β ($3,5 \pm 1,5$ проти $1,2 \pm 0,5$ пкг/мл, $p < 0,001$).

Після використання Протефлазиду рівні спонтанної та індукованої продукції ІЛ-8 вірогідно знижувалися ($p < 0,001$), відбувалась корекція ІФН- γ ланки в бік підвищення продукції лімфокіну імунотропними клітинами ($18,3 \pm 0,42$ проти $15,7 \pm 0,5$ пкг/мл, $p < 0,05$). Зниження після лікування спонтанної продукції ІФН- γ імунотропними клітинами вважаємо результатом впливу антибіотикотерапії, але використання Протефла-

зиду сприяло меншому зниженню функціональної активності клітин (за його секрецією), що також є позитивним ефектом, особливо для хворих з персистою вірусною інфекцією. Позитивним ефектом в цій групі вважаємо вірогідне зниження продукції прооксеротичного ТФР- β ($p < 0,05$), тоді як в групі порівняння не відбувалось достовірних змін, і продукція цього прогностично негативного для нирок фактору залишалась високою.

Аналіз активності реноспецифічних ензимів у сечі та крові хворих на рПН продемонстрував зростання активності АГАТ порівняно з референтною групою ($p < 0,001$). Цей ензим є більш міцно зв'язаним з мембранами [28, 30] і в сечі практично здорових осіб майже не виявляється (в слідових кількостях), а підвищення його активності констатується за умов руйнування клітин проксимальних канальців нефрону [28] (рис. 2).

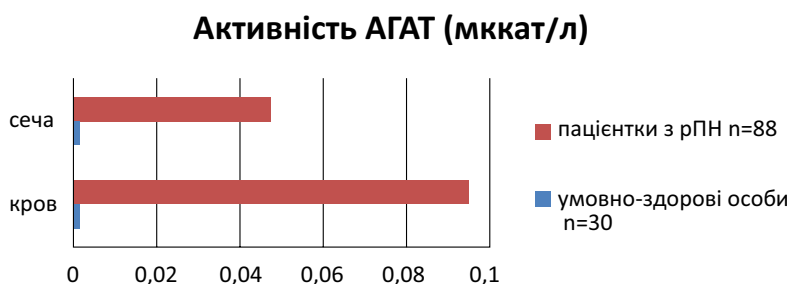


Рис. 2. Активність АГАТ у сечі та крові хворих на рПН у порівнянні з показниками референтної групи.

Після лікування спостерігалось позитивне зменшення активності АГАТ як у хворих групи по-

рівняння ($p < 0,02$), так і у разі застосування Нуклеїнату натрію та Галавіту ($p < 0,01$) (рис. 3).

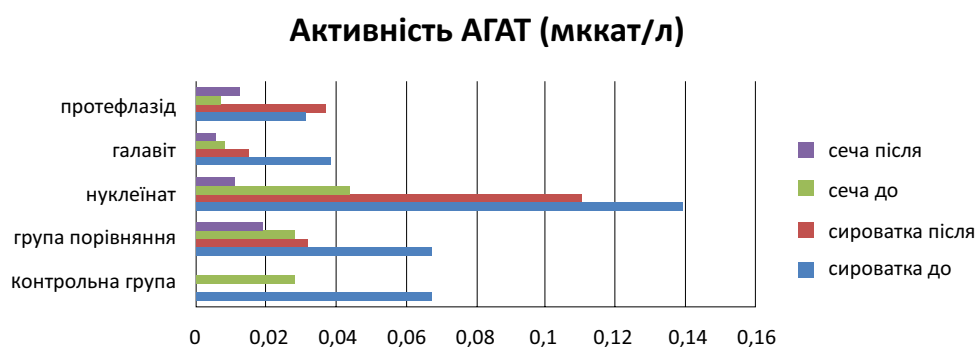


Рис. 3. Активність АГАТ у крові та сечі хворих на рПН в динаміці застосування імуномодуляторних засобів у хворих на рПН ($n = 100$).

Застосування Протефлазиду статистично значущо не впливало на активність АГАТ.

Аналіз даних змін активності лізосомних гідролаз у сечі пацієнток продемонстрував підвищення активності НАГ сечі у 1,6 рази у порівнянні з

референтною групою ($p < 0,01$), що вказує на деструкцію біомембран клітин епітелію тубулярного апарату нирок і потраплянням ензиму у вторинну сечу внаслідок хронічного запалення, що призводить до активації ОС (рис. 4) [30-32].

Активність НАГ та β -галактозидази в сечі (мкмоль/ммоль креатиніну сечі за год інкубації)

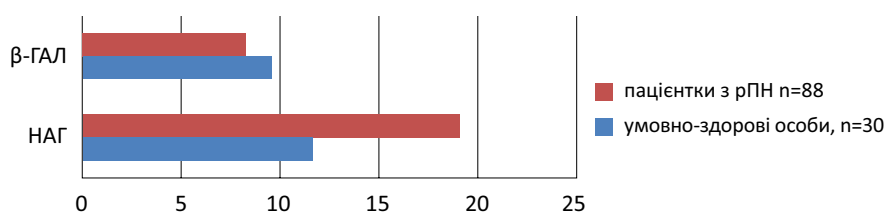


Рис. 4. Активність НАГ та β -Гал у сечі хворих на рПН (n=88) та умовно-здорових донорів.

Визначені зміни активності НАГ мали прямий кореляційний зв'язок з ІОС ($r = 0,37$, $p = 0,03$), активність β -Гал зворотно корелювала за показниками АОЄ крові ($r = -0,325$, $p < 0,05$). Активність даних ензимів, на нашу думку, може бути зумовлена зниженням локального імунітету слизової оболонки сечового тракту та кишківника. Відомо, що β -Гал є ензимом, який каталізує реакцію гідролітичного відщеплення залишків β -D-галактози в β -галактозидах (олігосахаридах, полісахаридах, гліколіпідах, глікопептидах) [30, 31]. Крім того,

індигенна мікробіота кишківника приймає участь у функціонуванні як локальної, так і системної імунної відповіді організму хворого [33]. Тобто, зниження активності β -Гал може бути пов'язано зі зниженням його синтезу у кишківнику внаслідок порушення еубіозу через застосування антибіотикотерапії.

Після застосування Нуклеїнату натрію відбувалось статистично значуще зниження активності НАГ ($p < 0,001$) та β -Гал ($p = 0,003$) (табл. 2).

Таблиця 2

Активність НАГ та β -Гал у сечі хворих на хронічний пієлонефрит до та після застосування імуномодуляторних засобів (M \pm SD)

№	Групи обстежених хворих	Етап обстеження	НАГ	β -Гал
			в мкмоль/год/ ммоль креатиніну сечі	
1	I група (n = 25)	До лікування	23,32 \pm 3,21 *	12,31 \pm 0,93*
2		Після лікування	15,21 \pm 2,92*,**	9,82 \pm 1,30**
3	II група (n = 18)	До лікування	11,27 \pm 0,93	4,59 \pm 0,93*
4		Після лікування	8,13 \pm 1,22*,**	3,92 \pm 1,30*
5	III група (n = 27)	До лікування	14,20 \pm 1,09	6,55 \pm 0,63*
6		Після лікування	11,61 \pm 0,92*,**	7,37 \pm 0,82
7	Група порівняння (n = 30)	До лікування	21,05 \pm 1,27 *	8,87 \pm 0,56
8		Після лікування	15,34 \pm 1,12*,**	8,28 \pm 1,28
9	Референтна група (n = 30)	До лікування	11,64 \pm 0,72	9,58 \pm 0,68

Примітки: * – статистично значуща різниця у порівнянні з показниками референтної групи, ** - зі станом до лікування

Поряд з цим, у разі застосування Галавіту показники активності НАГ сечі досягали позитивних результатів у 80% хворих ($p < 0,001$). Відмітимо, що активність НАГ та β -Гал в сечі після лікування була нижчою за показники фізіологічної норми.

Застосування Протефлазиду також сприяло позитивному зниженню показників активності НАГ сечі у 68% хворих ($p < 0,001$), а β -Гал сечі – у 58% відповідно ($p < 0,001$).

До лікування активність пероксидази в сечі пацієнток визначалась у 83% пацієнток та становила $0,12 \pm 0,05$ мккат/л. Вважається, що у практично здорових осіб пероксидазна активність

сечі досить низька 0-0,05 мккат/л, оскільки здебільшого вона зумовлена діяльністю мікроорганізмів, зокрема активністю пероксидаз бактерій, що викликають локальне запалення в нирках, або ж, при бактеріальному ушкодженні нирок, може бути наслідком руйнування клітин нирок, де, як відомо, достатньо висока активність цього ензиму [30, 31].

Після лікування відмічалось статистично значуще зниження пероксидазної активності сечі у разі застосування Нуклеїнату натрію або Протефлазиду на 23% ($p < 0,05$), у разі застосування Галавіту – на 72% ($p < 0,001$) (рис 5).

Активність пероксидази в сечі (мккат/л)

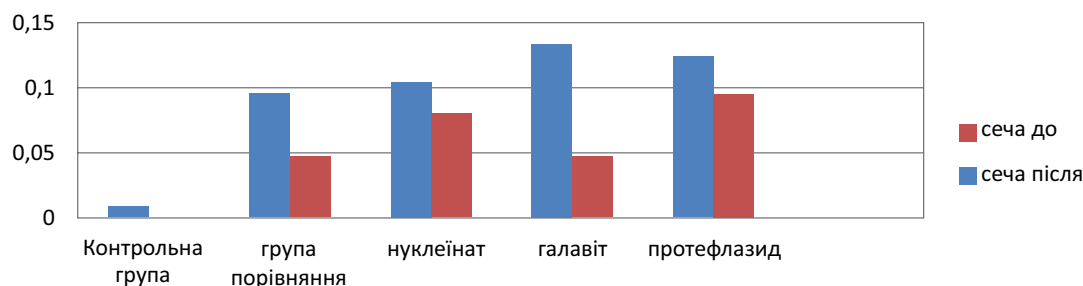


Рис. 5. Активність пероксидази у сечі хворих на рПН в динаміці лікування імуномодуляторними засобами (n = 100).

Обговорення. Доведено, що у хворих на рПН визначається порушення О/А балансу крові: активізація окисних процесів на фоні компенсаторного підвищення антиоксидантного захисту або його пригнічення [3]. Активація процесів окисації сприяє генералізації мембрано-деструктивних змін у нирках переважно за рахунок розвитку ОС та порушення балансу між оксидантними та антиоксидантними реакціями, що є цитотоксичним для нирок [6, 7, 9]. Вважається, що ОС ушкоджує саме канальцевий апарат нирок за рахунок послаблення гідрофобних зв'язків клітинних мембран, порушення їх проникності та у кінцевому результаті шляхом лабілізації лізосом [5]. Якщо підвищений вміст продуктів ПОЛ у крові вказує здебільшого на універсальні механізми пошкодження клітин організму в цілому та клітинних мембран ниркового епітелію, зокрема, то зміни активності лізосомних ензимів в сечі (НАГ, β -Гал), як правило, вказують вже на активність локальних мембранолітичних процесів [31, 32] та локального ОС [6].

Наскільки нам відомо, це перше дослідження, в якому застосовувалось поєднання антибактеріальної терапії з призначенням Нуклеїнату натрію, Галавіту та Протефлазиду. Нами продемонстровано, що застосування імуномодуляторних лікарських засобів у комплексному лікуванні хворих на рПН викликає певні позитивні зрушення О/А показників, а позитивна спрямованість змін активності лізосомних ензимів сечі у більшості пацієнтів вказує, що зміни стану паренхіми нирок мають переважно функціональний характер.

Позитивна динаміка досліджуваних показників ОС під впливом застосування Нуклеїнату натрію, на нашу думку, зумовлена впливом цього засобу на процеси регенерації; енергозабезпечення клітини шляхом стимулювання синтезу макроергічних сполук, пригнічення окислювальних процесів у клітинних мембранах [12]. Виявлені вторинні антиоксидантно-опосередковані ефекти Нуклеїнату натрію у хворих на рПН ймовірно пов'язані

із здатністю цього препарату впливати саме на клітинний імунітет, посилюючи неспецифічну резистентність шляхом активації енергетичного обміну в клітинах макрофагальної системи; а також проти-запальною активністю [12, 23].

Одержані результати продемонстрували вплив Галавіту на цитокинову ланку імунітету та показники О/А балансу, що дозволило підтвердити його антиоксидантні властивості (зокрема вплив на показники концентрації тіолових груп). Вважаємо, що гальмування під впливом Галавіту на деякий час високої активності клітин фагоцитарної ланки імунної системи сприяє зниженню високої активності моноцитарно-макрофагальної ланки та концентрації прозапальних цитокинів (ФНП- α , ІЛ-8) (внаслідок успішної елімінації збудників) та підвищенню, як наслідок, продукції протизапального ІЛ-10 регуляторними Т-хелперами. Важливим ефектом Галавіту було зниження концентрації ТФР- β , котрий зумовлює ризик формування тубулоінтерстиціальних ушкоджень в нирках [5, 29]. Відновлення балансу про/протизапальних медіаторів досягалося в результаті нормалізації функціональної активності моноцитів-макрофагів, Т-хелперів 1, 2, 3 типів, що сприяло підвищенню протиінфекційного захисту. Застосування Протефлазиду сприяло підвищенню продукції клітинами крові протизапального ТФР- β та зниженню концентрації ІЛ-8 та ІФН- як в крові, так і в сечі.

Висновки:

Застосування Нуклеїнату натрію у комплексному лікуванні хворих на рПН сприяло позитивному впливу на цитокинову ланку імунітету з статистично значущим зниженням ІЛ-23, ФНП- α та МХП-1, що приводило до зменшення активності запалення, зниженню активності окисда- тивних процесів та відновлення антиоксидантно- го захисту.

Доповнення антибактеріальної терапії Галаві- том або Протефлазидом сприяло зниженню інтен- сивності ОС поряд з нормалізацією факторів між-

клітинної кооперації імунної системи, унаслідок чого було відбувалось зниження активності реноспецифічних ензимних маркерів ушкодження нирок.

Призначення Галавіту та Протефлазиду пацієнткам з рПН частково відновлювало О/А дисбаланс та впливало на захисні властивості клітин нирки.

Конфлікт інтересів: автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів.

Інформація про внесок кожного учасника:

М.О. Колесник – ідея дослідження,

Л.В. Король – дизайн дослідження, визначення біохімічних показників, оформлення огляду літератури та списку використаних джерел,

Н.М. Степанова – забір біологічного матеріалу, статистична обробка отриманих результатів, підготовка статті до друку,

В.Є. Дріяńska – дослідження імунологічних показників, оформлення висновків,

Л.Я. Мигаль – дослідження біохімічних показників,

В.С. Савченко – імунологічні дослідження крові.

Література (References):

1. *Kolesnyk M, Stepanova N, Kruglikov V, Rudenko A.* The etiological spectrum and antibiotic resistance pattern of bacteria causing uncomplicated urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2005-2015). *Ukr.J.Neph.Dial.* 2016;№1(49):39-41. [In Ukrainian]. doi: 10.31450/ukrjnd.1(49).2016.02
2. *Kolesnyk M, Stepanova N, Driyanskaya V, Rudenko A, Kruglikov V, Lebid L.* Recurrent urinary tract infections: etiological structure and current concept of the pathogenesis. *J.Nat.Acad.Med.Sc.* 2013; 19 (2):194-204. [In Ukrainian].
3. *Kolesnyk M, Stepanova N, Korol L, Romanenko O, Mygal L.* Prediction of recurrent pyelonephritis by an index of oxidative stress. *Lik Sprava.* 2014;(9-10):81-8. [In Ukrainian]. PMID: 26492781
4. *Driyanska VE, Drannik GN, Stepanova NM, Lebed LO, Kruglikov VT, Driyanska VV, et al.* Positive effects of modern immunocorrection according to the analysis of cytokines and slpi in patients with pyelonephritis. *Lik Sprava.* 2014;(12):45-56. [In Ukrainian]. PMID: 26638467
5. *Miyata T, Eckardt K-U, Nangaku M.* Studies of Renal Disorders. Berlin: Springer-Verlag GmbH; 2011. 830 p. doi: 10.1007/978-1-60761-857-7.
6. *Korol LV.* Mekhanizmy rozvytku oksydatyvnoho stresu pry zapalnykh protsesakh v nyrkakh ta shliakhy yoho korektsii [dysertatsiia v Interneti]. Kyiv: nats. un-t im. Tarasa Shevchenka; 2017. Dostupno: http://scc.univ.kiev.ua/upload/iblock/b17/dis_Korol%20L._new.pdf [In Ukrainian].
7. *Putri AY, Thaha M.* Role of oxidative stress on chronic kidney disease progression. *Acta.Med. Indones.* 2014;46(3):244-52.
8. *Morozova OL, Morozov DA, Zaharova NB.* Prichiny i klyuchevyie zvenya patogeneza lokalnogo vospaleniya v mochevyivodyaschih putyakh u detey s obstruktivnyimi uropatiyami. *Pediatriya: zhurnal im. G. N. Speranskogo.* 2014;93(2):117-123. [In Russian]. <https://pediatrijournal.ru/archive?show=334§ion=3961>
9. *Massy ZA, Stenvinkel P, Drueke TB.* The role of oxidative stress in chronic kidney disease. *Semin. Dial.* 2009;22(4):405-8. doi: 10.1111/j.1525-139X.2009.00590.x.
10. *Gaiseniuk FZ, Driianskaia VE, Drannik GN.* Proinflammatory cytokines in patients with pyelonephritis. *Lik Sprava.* 2013;(6):32-7. [In Ukrainian]. PMID: 25510086
11. *Kolesnyk MO, Driianska VYe, Drannik HM, Haiseniuk FZ, Rudenko MIu, Stepanova NM, Lavrenchuk OV, Savchenko BC.* Effects of immunocorrection on the state of cytokines and SLPI in patients with pyelonephritis. *Ukr.J.Neph.Dial.* 2014;№1(41):19-29. [In Ukrainian]. doi: [https://doi.org/10.31450/ukrjnd.1\(41\).2014.04](https://doi.org/10.31450/ukrjnd.1(41).2014.04)
12. *Andrijuk LV.* Vid nuklei'novykh kyslot do preparatu Nuklei'nat natriju. *Nov med i farm.* 2007;14(220):16-20. [In Ukrainian].
13. *Ershov FI, Ospelnikova TP, Kudryashova IP.* Primenenie tsikloferona pri hronicheskom pielonefrite: dinamika pokazateley interferonovogo statusa. *Terapevticheskiy arhiv.* 2011;6:33-5. [In Russian].
14. *Buryak VN, Mahmutov RF, Poshehonova YuV, Babich VL, Vihovskaya NV.* Immunokorrigiruyuschaya terapiya pri hronicheskom pielonefrite v detskom vozraste. *Sovremennaya pediatriya.* 2013; 5(53):186-91. [In Russian].
15. *Gorelov AI, Simbirtsev AS, Serezhenkov AV, Petrov AV* Immunoterapiya patsientov s hronicheskim pielonefritom v aktivnoy faze vospaleniya. *Vestnik Sankt-Peterburgskogo universiteta.* 2014;11(3):118-24. [In Russian].
16. *Lavrenchuk OV.* Immunoreabilitatsiya detey s hronicheskim retsidiviruyuschim pielonefritom. *Sovremennaya pediatriya.* 2015;1(65):120-5. [In Russian]. doi 10.15574/SP.2015.65.120.
17. *Parahonskiy AP, Timofeev VA.* Patogeneticheskoe obostnovanie primeniya immunomodulyatorov pri patologii pochek. *Sovremennyye naukoemkie tehnologii.* 2005;1:114-5. [In Russian].
18. *Zemskov AM, Naraeva NYu, Deeva YuA, Startseva SV, Zhurihina II, Shabanov VG.* Primenenie differentsirovannoy immunoterapii v lechenii zabolvaniy mochevyidelitel'noy sistemyi. *Nauchno-meditsinskiy vestnik tsentralno Chernozemya.* 2013;51:48-51. [In Russian].

19. *Usovetskiy IA*. Primenenie novogo immunomodulyatora Galavita v lechenii urogenitalnykh infektsiy. *Ter.Medica*. 2004;2:45-7. [In Russian].
20. *Shatohin MN, Teodorovich OV, Chirkov SN*. Sovremennyye aspekty primeneniya immunomodulyatorov v urologicheskoy praktike. *Urologiya i nefrologiya*. 2013;1:38-42. [In Russian].
21. Proteflazid. Informatsionnyye materialy po svoystvam i metodikam primeneniya. K., 2002. 69 p. [In Russian].
22. *Shpot EV*. Primenenie immunomodulyatora Polioksidoniy pri hronicheskikh vospalitelnykh zabolvaniyah mochepolovnykh organov. *Effektivnaya farmakoterapiya. Urologiya i nefrologiya*. 2012;5:14-21. [In Russian].
23. *Mavrodiy VM, Lyubchak AM*. Vedenie bolnykh s hronicheskim pielonefritom. *Praktykujuchyj likar*. 2015;3:44-8. [In Russian].
24. *Narovlyanskiy AN, Ershov FI, Gintsburg AP*. Interferony: perspektivnyye napravleniya issledovaniy. *Immunologiya*. 2013;3:168-71. [In Russian].
25. *Korol LV, Migal LYa, Stepanova NM*. Intensity of oxidative stress and activity of angiotensin converting enzyme in blood of patients with uncomplicated pyelonephritis. *Ukr. Biochem. J.* 2017;89(2):99-105. doi: 10.15407/ubj89.02.099.
26. *Korol' LV, Mygal' LJa*, vynakhidnyky; DU "In-t nefrolohii AMN Ukrainy", patentovlasnyk. Sposib integral'noi' ocinky antyoksydantnoi' jemnosti syrovatky krovi Patent Ukrainy. № 113602. 2017, Opub. 10.02.2017, Bjul. № 3. [In Ukrainian].
27. *Mygal' LJa, Bagdasarova IV, Serbina IJe, Kindij TV*. Lisozomna enzymuriia yak kryterii dysfunktsii proksymalnykh kanaltsiv nyrok u ditei pry prohresuvanni hlomerulonefrytu. *Perynatologija ta pediatrija*. 2003;3:39-41. [In Ukrainian].
28. *Karpenko VS, Kolesnikov GF, Petrun NM*. Funktsionalnaya diagnostika v urologii i nefrologii K.: Zdorov'ya, 1977. P. 63-70. [In Russian].
29. *Sutariya B, Jhonsa D, Saraf MN*. TGF- β : the connecting link between nephropathy and fibrosis. *Immunopharm.Immunotox*. 2016;38(1):39-49. doi: 10.3109/08923973.2015.1127382. PMID: 26849902.
30. *Humm A, Fritsche E, Steinbacher S, Huber R*. Crystal structure and mechanism of human L-arginine:glycine amidinotransferase : a mitochondrial enzyme involved in creatine biosynthesis. *EMBO J.* 1997;16(12):3373-85. doi: 10.1093/emboj/16.12.3373. PMID 9218780
31. *Fergyuson MA, Vaykar SS*. Ustanovlennyye i vnov predlagaemye markeryi pochek. *Klinicheskaya laboratornaya diagnostika*. 2013;11:3-11. [In Russian].
32. *Mohkam M, Ghafari A*. The Role of Urinary N-acetyl-beta-glucosaminidase in Diagnosis of Kidney Diseases. *Ped. Nephrology*. 2015;3(3):84-91.
33. *Stashevskaya NV, Korol LV, Mygal LJa, Stepanova NM*. The role of gut indigenous microbiota in the development of oxidative stress in women with recurrent pyelonephritis. *Ukr.J.Neph.Dial.* 2017;1(53):31-5. [In Ukrainian]. doi [https://doi.org/10.31450/ukrjnd.1\(53\).2017.05](https://doi.org/10.31450/ukrjnd.1(53).2017.05)