

*Katarzyna Antoniak¹, Wiesława Bylka²

Nefroprotekcjna aktywność ekstraktów i związków pochodzenia roślinnego. Część 2

Nephroprotective activity of extracts and compounds of medicinal plants origin. Part 2

¹Badacz niezależny, Łódź

²Badacz niezależny, Poznań

SUMMARY

The paper presents results of the works proven nephroprotective activity of extracts from the pomegranate tree (*Punica granatum* L.), white mulberry (*Morus alba* L.), common peach (*Prunus persica* L. Batsch), two-thorn currant (*Ribes diacanthum* Pall.), garlic (*Allium sativum*), garden marjoram (*Origanum majorana* L.), common nettle (*Urtica dioica* L.), *Pueraria tuberosa* DC., *Rubia cordifolia* L., herbal preparation Cystone®, also species: *Eurycoma longifolia* Jack., *Phyllanthus fraternus* Webster, soybean (*Glycine max* L. Merr.), *Chrysanthemum indicum* L., propolis, and ginkgo biloba (*Ginkgo biloba* L.). The authors of experiments have shown that the nephroprotective potential tested under nephrotoxicity conditions caused by various factors depends on the tested extract's antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic activity.

Keywords: nephroprotection, extracts, medicinal plants

STRESZCZENIE

W niniejszym artykule przedstawiono wyniki prac zawartych w dostępnym piśmiennictwie, w których udowodniono działanie zmniejszające uszkodzenia nerek przez wyciągi z granatowca właściwego (*Punica granatum* L.), morwy białej (*Morus alba* L.), brzoskwini zwyczajnej (*Prunus persica* L. Batsch), porzeczki dwukolcowej (*Ribes diacanthum* Pall.), czosnku pospolitego (*Allium sativum*), majeranku ogrodowego (*Origanum majorana* L.), pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica* L.), opornika bulwiastego (*Pueraria tuberosa* DC.), marzany sercolistnej (*Rubia cordifolia* L.), *Phyllanthus fraternus* Webster, soi zwyczajnej (*Glycine max* L. Merr.), złoczenia ogrodowego (*Chrysanthemum indicum* L.), miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba* L.) oraz przez preparat Cystone®, ekstrakty z *Eurycoma longifolia* Jack. i propolis. Autorzy prac wykazali, że potencjał ochronny przeciwko nefrotoksyczności wywołanej eksperymentalnie różnymi czynnikami jest zależny od aktywności antyoksydacyjnej, przeciwzapalnej i antiapoptotycznej badanych ekstraktów.

Słowa kluczowe: nefroprotekcja, wyciągi, surowce roślinne

Wstęp

Nerki są narządem szczególnie podatnym na działanie różnych substancji, charakteryzującym się wysokim przepływem krwi, aktywnością metaboliczną i występowaniem w przesączu wysokich stężeń substancji toksycznych wynikających z ich zdolności do zagęszczania moczu. Niekorzystne zmiany nasilają się, gdy nerki są niedokrwione lub uszkodzone.

Wiele leków może przyczyniać się do wystąpienia niewydolności nerek powiązanej z niedokrwieniem, niedotlenieniem narządu lub nefrotoksycznością wskutek bezpośredniego działania leku. Upośledzony dopływ tlenu i składników odżywczych do nefronów nasila zapotrzebowanie na energię z powodu stresu oksydacyjnego i przyczynia się do rozwoju stanu zapalnego w odpowiedzi na zaburzoną równowagę redoks.

Wyciągi z roślinnych surowców leczniczych stanowią źródło substancji nefroprotektoryjnych i mogą wywierać korzystny efekt leczniczy w ostrym i przewlekłym uszkodzeniu nerek m.in. ze względu na działanie: antyoksydacyjne, diuretyczne i przeciwzapalne.

W bieżącej, drugiej części artykułu, zebrano wyniki prac, w których badano aktywność nefroprotektoryjną różnych wyciągów z wybranych gatunków roślin.

Nefroprotektoryjna aktywność wyciągów z granatowca właściwego

Owoce granatowca właściwego, granatu właściwego (*Punica granatum* L.) z rodziny krwawnicowatych (*Lythraceae*), są cenione z powodu wartości odżywczej (dżemy, napoje, soki), a także właściwości terapeutycznych. Granatowiec zawiera liczne substancje bioaktywne, m.in. związki fenolowe, garbniki: galo- i elagotaniny, antocyjany, flawonoidy, kwasy organiczne, terpenoidy i witaminy. Najczęściej wykorzystywane są: nasiona, olej z nasion, sok z owoców, skórka owoców, kwiaty, liście, a także korzenie i kora. W medycynie tradycyjnej znajdują zastosowanie w leczeniu choroby wrzodowej, w schorzeniach kardiologicznych, nowotworowych i wirusowych, w dolegliwościach o podłożu zapalnym, a także w zaburzeniach metabolicznych: cukrzycy i otyłości. Wyniki badań wskazują, że wyciągi z owoców i innych części granatu mogą zapobiegać nefrotoksyczności wywołanej przez cisplatynę i cyklosporynę.

Udowodniono, że zapobieganie nefro- i hepatotoksyczności po cisplatynie przez wyciąg z nasion granatu PSE (ang. *pomegranate seed extract*) wynika z działania antyoksydacyjnego i antyapoptotycznego. W przeprowadzonym badaniu spośród 27 szczurów wydzielono cztery grupy. Pierwszej podano pojedynczą iniekcję dootrzewnową cisplatyny (7 mg/kg m.c.), drugiej aplikowano dożołądkowo PSE (300 mg/kg/dzień) przez 15 dni, trzeciej po pojedynczej iniekcji cisplatyny dawano przez 15 dni PSE (300 mg/kg/dzień), czwarta stanowiła grupę kontrolną. Ochronna rola wyciągu PSE w wątrobie i nerkach polegała na: zmniejszeniu stopnia peroksydacji lipidów określonego stężeniem kwasu malonowego, zwiększeniu poziomu S-transferazy glutationu oraz aktywności: peroksydazy glutationowej, S-transferazy glutationowej i dysmutazy nadtlenkowej w homogenatach nerek i wątroby szczurów. Właściwości antyapoptotyczne określono na podstawie poziomu kaspazy-3 (1).

Wykazano także, że sok z owoców i zmielonych nasion granatu (PJ) działał ochronnie na zmiany w nerkach wywołane cyklosporyną (CsA). Badaniami objęto 80 szczurów podzielonych na cztery grupy.

Pierwsza stanowiła grupę kontrolną, grupa 2 (CsA) otrzymywała CsA w dawce 25 mg/kg/dzień doustnie, grupa 3 (CsA + PJ) przyjmowała CsA w dawce 25 mg/kg/dzień oraz 2,5 ml/dzień PJ, a grupa 4 (PJ) dostawała 2,5 ml PJ dziennie. Pod koniec 21. dnia doświadczenia oznaczono poziom kreatyniny w surowicy, wartość azotu mocznika i klirens kreatyniny, a także stężenia dwóch białek zaliczanych do wczesnych biomarkerów dysfunkcji nerek: cząsteczkę-1 uszkodzenia nerek KIM-1 (ang. *kidney injury molecule-1*) i lipokalinę związaną z żelatynazą neutrofilów NGAL (ang. *neutrophil gelatinase associated lipocalin*) w moczu. Przeprowadzono badanie histopatologiczne nerek oraz oznaczono aldehyd malonowy MDA i enzymy antyoksydacyjne w pobranych próbkach. W grupie CsA poziom kreatyniny w osoczu ($0,59 \pm 0,04$ mg/dl), azotu mocznika ($35,4 \pm 9,4$ mg/dl), klirens kreatyniny ($0,38 \pm 0,11$ ml/min), KIM-1 ($33,5 \pm 5,9$ ng/mg kreatyniny) oraz NGAL ($268,4 \pm 31,3$) uległy niekorzystnym zmianom. Suplementacja sokiem (PJ) osłabiła zmiany parametrów wywołane przez CsA w zakresie poziomu kreatyniny ($0,45 \pm 0,04$ mg/dl), azotu mocznika ($22,7 \pm 2,0$ mg/dl), klirensu kreatyniny ($0,88 \pm 0,19$ ml/min), KIM-1 ($12,4 \pm 4,0$ ng/mg kreatyniny) i NGAL ($141,0 \pm 19,6$) oraz zapobiegła peroksydacji lipidów (MDA z $4,65$ na $2,92$ nmol/mg), a także spadkowi enzymów antyoksydacyjnych: peroksydazy glutationowej (z $0,28$ na $0,52$ U/mg), katalazy (z $0,21$ na $0,38$ U/mg) i dysmutazy nadtlenkowej (z $1,15$ na $2,05$ U/mg). Zmniejszyły się również zmiany zaobserwowane w badaniu histopatologicznym. Pozwala to na wysunięcie wniosku, że sok z owoców i zmielonych nasion granatu ze względu na właściwości antyoksydacyjne chronił zwierzęta przed nefrotoksycznością wywołaną cyklosporyną (CsA) (2).

Olej z nasion granatu właściwego PSO (ang. *pomegranate seed oil*) został przebadany w eksperymencie przeprowadzonym na szczurach: pierwszej grupie (I) zwierząt podawano jedynie cisplatynę (8 mg/kg), drugiej i trzeciej grupie (II i III) przez 2 dni aplikowano olej z nasion granatu PSO, odpowiednio w dawkach $0,4$ i $0,8$ ml/kg godzinę przed iniekcją cisplatyny. Grupa kontrolna (IV) otrzymywała olej kukurydziany (1 ml/kg). Olej PSO znacząco zmniejszał podwyższony cisplatyną poziom glukozy ($12,43 \pm 3,18$ mg/dl w grupie III i $8,0 \pm 2,30$ mg/dl w grupie IV) oraz białko w moczu ($22,37 \pm 5,62$ mg/dl w grupie III i $11,65 \pm 2,13$ mg/dl w grupie IV). Ponadto olej w stężeniu $0,8$ ml/kg nieznacznie redukował ilość aldehydu malonowego ($24,98 \pm 1,82$ nmol/g tkanki) i zwiększał poziom tioli ($155,76 \pm 2,23$ mM) w homogenacie komórkowym. Natomiast w stężeniu $0,4$ ml/kg w niewielkim stopniu zmniejszał poziom kreatyniny

w osoczu ($3,03 \pm 0,36$ mg/dl) w porównaniu z grupą otrzymującą samą cisplatynę (3).

W kolejnym badaniu oceniano wpływ wyciągu ze skórki granatu na inicjowane cisplatyną uszkodzenia w nerkach. Przez 10 dni szczurom Wistar podawano doustnie wyciąg w dawkach: 50, 100 i 200 mg/kg m.c. Iniekcję dootrzewnową z cisplatyną (8 mg/kg) wstrzyknięto 7. dnia, za wyjątkiem grupy kontrolnej i grupy otrzymującej sam wyciąg. Ostatniego dnia badania oceniono stan nefrotoksyczności po cisplatynie i potencjał ochronny wyciągu. Jedynie ekstrakt w dawce 200 mg/kg m.c. znacznie zmniejszył stężenie kreatyniny i azotu mocznika w osoczu. Aktywność antyapoptotyczna korelowała ze zmniejszeniem ekspresji kaspazy-3 w nerkach. W badaniu wykazano także działanie antyoksydacyjne i przeciwzapalne wyciągu ze skórki granatu (4).

Istnieją sprzeczne doniesienia na temat redukcji toksycznych działań cisplatyny przez wyciąg z kwiatów granatowca. Pozytywne wyniki otrzymano w doświadczeniu przeprowadzonym na samcach szczurów Wistar, którym przez 9 dni podawano wodnoalkoholowy wyciąg z kwiatów granatu PFE (ang. *pomegranate flower extract*) w dawkach: 25 i 50 mg/kg lub placebo. Badanie wykazało, że największą skuteczność protekcyjną miał ekstrakt w stężeniu 25 mg/kg, który zmniejszał stężenie kreatyniny w surowicy i uszkodzenia komórek nerkowych wywołane cisplatyną, aplikowaną 3. dnia badania (2,5 mg/kg/dzień) (5). W innym eksperymencie z udziałem samic szczura wyciąg z kwiatów granatu zastosowany również w stężeniach: 25 i 50 mg/kg/dzień, nie tylko nie wykazywał działania protekcyjnego, lecz nie poprawiał badanych parametrów lub nasilał dysfunkcję nerek po intoksykacji cisplatyną, związaną ze zwiększeniem utraty masy ciała i wzrostem masy nerek, poziomu azotu mocznika, kreatyniny i azotynów w osoczu, ilości dialdehydu malonowego oraz stopnia uszkodzenia tkanki nerkowej (6). Można przypuszczać, że w eksperymencie z udziałem samic doszło do przeważenia działania prooksydacyjnego nad antyoksydacyjnym analizowanego ekstraktu, które mogło korelować z dawką preparatu i/lub ilością grup hydroksylowych obecnych w cząsteczkach antyoksydantów. Jednakże w przypadku obu analiz, w których podawano wyciągi w niskich, ale takich samych, stężeniach do pogorszenia lub negatywnych wyników mogły przyczynić się również inne czynniki, takie jak: całkowita zawartość polifenoli w ekstraktach, obecność fitoestrogenów w kwiatach granatu i estrogenów u badanych zwierząt (7).

Wyniki badań przeprowadzonych przez Ankita i wsp. (8) dowodzą, że bogata we flawonoidy frakcja

otrzymana z liści *P. granatum* (ang. *flavonoid-rich fraction of P. granatum leaves* – PGFF) może chronić przed zmianami we wczesnej nefropatii cukrzycowej. Autorzy przeprowadzili doświadczenie, w którym u szczurów rasy Wistar indukowano nefropatię cukrzycową pojedynczym dootrzewnowym wstrzyknięciem streptozotocyny (65 mg/kg). Po indukcji zwierzęta otrzymywały glibenklamid (5 mg/kg) oraz doustnie frakcję PGFF w dawkach: 50, 100 i 200 mg/kg m.c./dzień przez 28 dni. Następnie oznaczano: stężenie glukozy we krwi na czczo, profil lipidowy, poziom białka całkowitego, albumin, kreatyniny w surowicy, stężenie mocznika we krwi, hemoglobiny glikozylowanej i biomarkery stresu oksydacyjnego nerek. Natomiast w moczu mierzono poziom całkowitego białka, albuminy i klirens kreatyniny, ponadto tkankę nerek poddano badaniu histopatologicznemu. Wyniki wskazywały, że PGFF podawany codziennie w różnych dawkach przez 28 dni powodował normalizację wskaźników biochemicznych, metabolicznych i histopatologicznych u szczurów chorych na cukrzycę w porównaniu ze szczurami z grupy kontrolnej.

Nefroprotekcjna aktywność wyciągów z morwy białej, brzoskwini zwyczajnej i porzeczki dwukolcowej

Do badań nad potencjałem nefroprotekcijnym surowców roślinnych wybrano także owoce morwy białej (*Morus alba* L.) z rodziny morwowatych (*Moraceae*). Surowiec cechuje znaczna zawartość flawonoidów oraz właściwości antyoksydacyjne, diuretyczne i tonizujące nerki. Etanolowy wyciąg z owoców morwy białej (200 mg/kg/dzień) podawano codziennie przez 21 dni razem z gentamycyną (80 mg/kg/dzień) o działaniu nefrotoksycznym. Badany ekstrakt zapobiegał wzrostowi poziomów kreatyniny w osoczu ($4,02 \pm 0,14$ mg/dl), azotu mocznika we krwi ($54,18 \pm 2,60$ mg/dl) i kwasu moczowego w surowicy ($2,34 \pm 0,12$ mg/dl) oraz zmianom histopatologicznym i enzymatycznym. Gentamycyna przyczyniała się m.in. do nekrozy kanalików proksymalnych i atrofii kłębuszkowej oraz nasilała wydzielanie z moczem fosfatazy zasadowej i dehydrogenazy mleczanowej. Równoczesne podawanie ekstraktu z morwy białej z gentamycyną nie chroniło jednak zwierząt laboratoryjnych (króliki) przed spadkiem klirensu kreatyniny i objętości moczu (9).

W Azji różne części brzoskwini zwyczajnej (*Prunus persica* L. Batsch) z rodziny różowatych (*Rosaceae*) są nie tylko przysmakiem kulinarnym, ale także remedium na różne dolegliwości. W tradycyjnej medycynie Japonii, Chin i innych krajów azjatyckich najczęściej

sięga się w tym celu po nasiona brzoskwini (*Persicae semen*). Pozostałe części owocu są stale przedmiotem badań naukowych. Lee i wsp. (10) ocenili wpływ wyciągu z owocni (miąższu) brzoskwini zwyczajnej PPE (ang. *peach pericarp extract of P. persica*) na minimalizowanie objawów ostrej nefro- i hepatotoksyczności wywołanych u myszy pojedynczą dawką cisplatyny (45 mg/kg) podawaną dootrzewnowo przez 16 godzin. Wyciąg PPE w dawce 500 mg/kg, aplikowany doustnie przez 7 dni, zapobiegał zmniejszeniu masy nerek i wątroby, znacznie hamował podwyższone poziomy kreatyniny i mocznika w osoczu wynikające z uszkodzenia nerek oraz zwiększone stężenia aminotransferazy alaninowej i asparaginowej spowodowane dysfunkcją wątroby. Zaobserwowano również powrót do prawidłowych poziomów tlenu azotu w surowicy, stopnia peroksydacji lipidów i zasobów glutationu w tkankach. Widoczna była zależność między działaniem protekcyjnym i regenerującym analizowanego wyciągu w odpowiedzi na stres oksydacyjny wywołany toksycznością cisplatyny. W następnym roku Lee i wsp. (11) kontynuowali badania. Okazało się, że ekstrakt z miąższu brzoskwini zwyczajnej PPFE (ang. *Prunus persica flesh extract*) znacznie hamował wzrost komórek raka jelita grubego linii CT-26 wszczepionych myszom, nie wykazując działań niepożądanych, oraz nasilał efekt terapeutyczny cisplatyny. Zarówno w modelu przeszczepu komórek nowotworowych powtarzanie małych dawek cisplatyny przez 15 dni, jak i w modelu ostrej toksyczności z pojedynczą wysoką dawką cisplatyny podawaną w ciągu 16 godzin wyciąg PPFE stosowany razem z substancją nefrotoksyczną lub profilaktycznie odwracał utratę masy nerek, hamował wzrost kreatyniny i mocznika w surowicy oraz stres oksydacyjny. Tym samym wzmacniał efekt cytostatyczny, jednocześnie osłabiając działanie nefrotoksyczne cisplatyny.

Wodny wyciąg z części nadziemnych porzeczki dwukolcowej (*Ribes diacanthum* Pall.) (RDP) jest w Mongolii popularnym środkiem leczniczym stosowanym w schorzeniach dróg moczowych, takich jak: infekcje, stan zapalny pęcherza moczowego, obrzęki i kamica nerkowa. Znaczna ilość flawonoidów obecnych w surowcu wpływa na działanie antyoksydacyjne. Profilaktyczne stosowanie ekstraktu przy intoksykacji cisplatyną zmniejszało ilość biomarkerów toksyczności i wolnych rodników oraz zwiększało aktywność enzymów antyoksydacyjnych. Uszkodzenie nerek modelowano poprzez dootrzewnowe wstrzykiwanie myszom cisplatyny przez 5 kolejnych dni (5 mg/kg). Aby ocenić nefroprotekcyjne działanie RDP, ekstrakt podawano w dawce dziennej 40 mg/kg przez 14 kolejnych dni, zaczynając 7 dni przed podaniem cisplatyny. Wyciąg

RDP chronił myszy przed śmiercią, komórki kanalików nerkowych przed apoptozą, znacznie zmniejszał stężenie mocznika i kreatyniny w osoczu, istotnie odwracał zwiększoną ekspresję kaspazy-3 i Bax oraz zmniejszony przez cisplatynę poziom ekspresji Bcl-2 w nerkach, wyraźnie zwiększał aktywność dysmutazy ponadtlenkowej, oksygenazy hemowej-1 i katalazy, hamował peroksydację lipidów, jak również produkcję wolnych rodników (12).

Nefroprotekcyjna aktywność wyciągów z cebuli czosnku pospolitego

W analizie wykonanej pod kątem oceny właściwości protekcyjnych czosnku pospolitego (*Allium sativum* L.) objawy nefrotoksyczne wywoływano u szczurów podaniem dootrzewnowym pojedynczej dawki metotreksatu (20 mg/kg m.c.). Doustne przyjmowanie wodnego wyciągu z cebuli czosnku (1 ml/100 g m.c.) przez 7 dni – przed aplikacją i po aplikacji metotreksatu – znacznie poprawiło filtrację kłębuszkową, zwiększyło aktywność enzymów antyoksydacyjnych i zapobiegło zmianom morfologicznym w nerkach. Doszło do zmniejszenia stężenia mocznika (z $10,66 \pm 0,34$ na $4,30 \pm 0,95$ mmol/l), kreatyniny (z $0,31 \pm 0,01$ na $0,25 \pm 0,02$ mg/l), aldehydu malonowego (z $51,62 \pm 1,6$ na $31,23 \pm 1,7$ nmol/g), deaminazy adenozynowej (z $42,00 \pm 0,56$ na $12,57 \pm 0,34$ U/l), potasu (z $1,61 \pm 0,29$ na $1,43 \pm 0,21$ mmol/l), fosforu (z $4,04 \pm 0,32$ na $3,63 \pm 0,33$ mg/dl) i tlenu azotu (z $2,20 \pm 0,14$ na $1,86 \pm 0,21$ μ mol/l). Jednocześnie zaobserwowano wzrost poziomu glutationu (z $0,06 \pm 0,01$ na $0,25 \pm 0,03$ mmol/g), katalazy (z $0,97 \pm 0,01$ na $1,87 \pm 0,02$ U/g), sodu (z $122,7 \pm 2,7$ na $133,0 \pm 1,2$ mmol/l) i wapnia (z $11,33 \pm 0,88$ na $11,63 \pm 0,67$ mg/dl) (13).

W kolejnym badaniu pokazano, że wodny wyciąg z cebuli czosnku pospolitego AGE (ang. *aqueous garlic extract*) normalizuje dysfunkcję nerek rozwijającą się pod wpływem gentamycyny. Trzydziestu dwóch dorosłych samców szczura podzielono na 4 grupy, którym w ciągu 21 dni podawano: doustnie roztwór soli fizjologicznej (grupa kontrolna), doustnie wodny wyciąg z czosnku AGE (250 mg/kg/dzień), dootrzewnowo siarczan gentamycyny (80 mg/kg/dzień) oraz czwartej grupie siarczan gentamycyny łącznie z badanym ekstraktem. Protekcyjna rola wyciągu AGE polegała na znacznej redukcji stężenia mocznika i kreatyniny w osoczu, ciśnienia skurczowego i rozkurczowego, cytokin prozapalnych: czynnika martwicy nowotworów (ang. *tumor necrosis factor α* – TNF- α), interleukiny 6 (IL-6), interferonu gamma (INF- γ) i aldehydu malonowego oraz na wzroście współczynnika filtracji kłębuszkowej GFR,

poziomu dysmutazy ponadtlenkowej i poprawie zmian tkankowych. W homogenacie nerek szczurów uległa zmniejszeniu ekspresja mRNA białka KIM-1 – jednego z wczesnych biomarkerów dysfunkcji nerek (14).

Potencjał nefroprotekcyny preparatów oceniono również po intoksykacji cisplatyną. Tym razem w badaniu zastosowano wyciąg z dojrzałej cebuli czosnku AGE (ang. *aged garlic extract*), znany także pod nazwą *kyolic*, który otrzymano w procesie co najmniej 10-miesięcznej fermentacji surowego czosnku pospolitego (*Allium sativum*) w roztworze wodno-alkoholowym (15-20%). Ekstrakt AGE zawierał 1,47 mg/ml S-allilocysteiny i przez 21 dni był podawany szczurom raz dziennie w dawce 250 mg/kg. Chronił zwierzęta przed toksycznym działaniem cisplatyny (7,5 mg/kg) wstrzykniętej dootrzewnowo w 16. dniu badania dzięki znacznej redukcji aktywności dysmutazy ponadtlenkowej i katalazy, a także poprawie zmian histomorfologicznych, ultrastrukturalnych i biochemicznych (15).

Nefroprotekcjna aktywność wyciągów z kwiatów majeranku ogrodowego i ziela pokrzywy zwyczajnej

W badaniu Solimana i wsp. (16) obserwowano korzystny wpływ wyciągu etanolowego z kwiatów majeranku ogrodowego OMEE (ang. *Origanum majorana ethanolic extract*) na zmienione po podaniu cisplatyny parametry nerkowe i wskaźniki stresu oksydacyjnego. Obserwacjami objęto 18 samców szczurów Wistar albino podzielonych na 3 grupy: pierwszą – kontrolną, drugą traktowaną pojedynczą dootrzewnową dawką cisplatyny (3 mg/kg m.c.) i trzecią, której aplikowano cisplatynę, a po 3 dniach wyciąg OMEE (500 mg/kg m.c.) podawany następnie przez kolejnych 14 dni. Z właściwości antyoksydacyjnych ekstraktu wynikało zmniejszenie znacznie podwyższonych przez cisplatynę poziomów kreatyniny (z $0,727 \pm 0,047$ na $0,465 \pm 0,027$ mg/dl), mocznika (z $54,598 \pm 4,042$ na $33,466 \pm 1,451$ g/dl), kwasu moczowego (z $2,742 \pm 0,165$ na $1,926 \pm 0,212$ mg/dl) i azotu mocznika w surowicy zwierząt (z $116,911 \pm 8,654$ na $81,879 \pm 6,303$ g/dl), a także aldehydu malonowego (z $12,029 \pm 0,711$ na $5,628 \pm 0,527$ nmol/g) i tlenu azotu w tkankach nerki (z $312,555 \pm 19,110$ na $187,258 \pm 24,846$ mmol/g) oraz podwyższenie zmniejszonego glutationu (z $13,621 \pm 2,098$ na $22,378 \pm 1,591$ mg/g białka), dysmutazy ponadtlenkowej (z $655,220 \pm 87,654$ na $991,462 \pm 105,168$ U/g białka) i katalazy (z $5,730 \pm 0,776$ na $11,081 \pm 1,161$ U/g białka) w nerkach. W badaniu histologicznym potwierdzono brak zmian patologicznych. W tkankach zwierząt traktowanych cisplatyną i wyciągiem OMEE nie dochodziło

do degeneracji ani zaniku kłębuszków nerkowych, jak również zwyrodnień, poszerzenia lub martwicy kanalików nerkowych.

Efekt hepatoprotekcyny, nefroprotekcyny i antyoksydacyjnej wykazano dla otrzymanego z ziela pokrzywy zwyczajnej (*Urtica dioica* L.) metanolowego ekstraktu UDME (ang. *Urtica dioica L. methanolic extract*). Mysiom z wszczepionymi komórkami nowotworowego wodobrzusza Ehrlicha podano pierwszego dnia pojedynczą dawkę cisplatyny i codziennie przez 6 dni aplikowano wyciąg z pokrzywy w dawkach: 50, 100, 200 i 400 mg/kg m.c. UDME wywierał ochronny efekt na nerki i wątrobę. Ekstrakt obniżał poziom kreatyniny, mocznika, aminotransferazy asparaginowej i alaninowej, dehydrogenazy mleczanowej, peroksydację lipidów, aktywność mieloperoksydazy i poziom oksydacji białek, jak również zwiększał ilość glutationu oraz aktywność enzymów antyoksydacyjnych, takich jak: dysmutaza ponadtlenkowa, S-transferaza glutationowa, katalaza i peroksydaza glutationowa (17).

Nefroprotekcjna aktywność wyciągów z bulw opornika bulwiastego

Przedmiotem badań w różnych modelach uszkodzeń nerkowych był znany z medycyny ajurwedyjskiej opornik bulwiasty (*Pueraria tuberosa* DC.). Aktywność korzeni tego surowca wynika z obecności izoflawonoidów, głównie pueraryny, daidzeiny, genistyny i genisteiny. W eksperymencie Tripathiego i wsp. (18) ze sproszkowanego surowca przygotowano ciastka (ang. *PT-embedded biscuits*) zawierające 1, 2 i 4 g korzenia opornika, które podawano myszom Swiss albino przez 10 dni. Stan nefrotoksyczności wywołano 7. dnia badania iniekcją dootrzewnową z cisplatyny (8 mg/kg m.c.). Opornik znacznie chronił nerki przed działaniem cisplatyny. Przy dawce 4 g zaobserwowano przejściowy wzrost aminotransferazy alaninowej i asparaginianowej. Uznano, że zasadna może być suplementacja korzeniem opornika bulwiastego w celu ochrony nerek przed toksycznym wpływem cisplatyny z jednoczesnym okresowym badaniem funkcji wątroby, szczególnie podczas dłuższych terapii i stosowania większych dawek.

Wyciąg metanolowy z bulw opornika bulwiastego PTY (ang. *Pueraria tuberosa extract*) zawierający polifenole i flawonoidy w badaniu Nagwaniego i Tripathiego (19) znacznie zwiększał aktywność katalazy i dysmutazy ponadtlenkowej, zapobiegał spadkowi glutationu oraz wzrostowi stężenia mocznika i kreatyniny. PTY zmniejszał stan zapalny kanalików nerkowych, uszkodzenia DNA i tkanek oraz odkładanie wałeczków w moczu. Badany ekstrakt

podawano szczurom doustnie w różnych dawkach przez 7 kolejnych dni, przy czym 4. dnia wstrzyknięto dootrzewnowo cisplatynę (8 mg/kg m.c.). Wywołane zmiany zostały przywrócone do poziomów zbliżonych do normalnych przy dawce PTY 40 mg/100 g m.c.

Wyniki kolejnego eksperymentu wykazały, że po podaniu ekstraktu z bulw *P. tuberosa* następowało znaczące łagodzenie ostrego uszkodzenia nerek u szczurów wywołane glicerolem. Uzyskane wyniki wskazywały na korzystny wpływ wyciągu na peroksydację lipidów, poziom dysmutazy nadadtlenkowej, aktywność katalazy, mniejsze gromadzenie się wałeczków w moczu i niski stopień martwicy kanalików widoczny w badaniu histopatologicznym nerki (20).

Działanie nefroprotektoryjne wodnoalkoholowego ekstraktu z bulw *P. tuberosa* obserwowano także w przypadku uszkodzeń oksydacyjnych tkanki nerek indukowanych u szczurów arsenianem sodu (1 mg/kg m.c.) (20).

Obiecujące wyniki badań uzyskano, stosując ekstrakt z bulw *P. tuberosa* w nefropatii cukrzycowej. W grupie szczurów z nefropatią cukrzycową (DN) wywołaną streptozotocyną (55 mg/kg; i.p.) notowano wzrost stężenia glukozy we krwi, mocznika w osoczu, kreatyniny i białka w moczu, obniżenie klirensu kreatyniny, a także wyższy stopień stwardnienia kłębuszków nerkowych, nadmierne odkładanie się macierzy zewnątrzkomórkowej i wałeczków w moczu. Po doustnym stosowaniu wodnego ekstraktu z bulw *P. tuberosa* (30 mg/100 g m.c.) przez 20 dni obserwowano znaczące złagodzenie zmian nefropatycznych na skutek wzrostu ekspresji i aktywności metaloproteiny MMP-9, co w konsekwencji prowadziło do degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej w badanych tkankach (21).

W nefropatii cukrzycowej wywołanej u szczurów alloxanem (120 mg/kg m.c.) w ciągu 7-8 tygodni poprawę uszkodzeń nerek określono za pomocą testów czynnościowych, badania histopatologicznego i oceny poziomu stresu oksydacyjnego. Ekstrakt metanolowy z *P. tuberosa* w dawkach 40 mg/100 g m.c. przez 7 dni i 20 mg/100 g m.c. przez 14 dni powodował u badanych zwierząt zmniejszenie poziomu mocznika i kreatyniny oraz poprawiał parametry czynnościowe w wyniku zmniejszenia apoptozy komórkowej i aktywności antyoksydacyjnej (20).

Nefroprotektoryjna aktywność wyciągów z korzenia marzany sercolistnej i preparatu Cystone®

Kolejnym przebadanym środkiem roślinnym, który może łagodzić objawy towarzyszące chemioterapii

cisplatyną, jest marzana sercolistna (*Rubia cordifolia* L.) z rodziny marzanowatych *Rubiaceae*. Marzana sercolistna jest powszechnie stosowana w Ajurwedzie jako Manjista, ze względu na właściwości antyoksydacyjne, zdolność do wychwytywania wolnych rodników i redukcji stresu oksydacyjnego. U myszy albino Swiss wyciąg wodnoalkoholowy z korzenia marzany sercolistnej RCE (ang. *Rubia cordifolia extract*) w stężeniach 250 i 500 mg/kg m.c. podawano doustnie przez zgłębnik godzinę przed oraz 24 i 48 godzin po wstrzyknięciu cisplatyny dootrzewnowo w dawce 12 mg/kg m.c. Po 72 godzinach od zastosowania cisplatyny pobrano próbki do oceny docelowych parametrów świadczących o nadmiernym generowaniu wolnych rodników i zaburzeniu równowagi oksydoredukcyjnej. Wyciąg RCE w obu stężeniach znacznie zmniejszał podwyższone poziomy kreatyniny (z $2,18 \pm 0,098$ na $1,00 \pm 0,16$ i $1,37 \pm 0,18$ mg/dl) i mocznika (z $85,52 \pm 5,87$ na $66,74 \pm 5,02$ i $47,42 \pm 4,25$ mg/dl) w osoczu, przyczyniał się do regeneracji obniżonych zasobów glutationu oraz zwiększał zredukowane poziomy enzymów antyoksydacyjnych, takich jak: dysmutaza nadadtlenkowa (z $6,02 \pm 0,87$ na $7,13 \pm 0,81$ i $9,96 \pm 0,76$ U/mg), katalaza (z $7,87 \pm 1,23$ na $9,72 \pm 0,56$ i $13,2 \pm 1,17$ U/mg) i peroksydaza glutationowa (z $20,58 \pm 0,91$ na $22,72 \pm 0,841$ i $25,05 \pm 1,64$ U/mg) w nerkach myszy. Zaobserwowano istotne zmniejszenie produkcji aldehydu malonowego obrazującego stan uszkodzenia błon komórkowych i stopień nasilenia peroksydacji lipidów w nerkach oraz wątrobie zwierząt. Właściwości antyoksydacyjne przypisuje się antrachinonom stanowiącym główne składniki aktywne wyciągu RCE, m.in. 1-hydroksy-2-metyloantrachinonowi i nordamnakanolowi (22).

Korzeń marzany sercolistnej jest jednym ze składników złożonego preparatu roślinnego Cystone® stosowanego w dolegliwościach nerkowych na terenie Himalajów i w medycynie ajurwedyjskiej. Środek obecny jest również na polskim rynku farmaceutycznym, zalecany m.in. w kamicy nerkowej i infekcjach dróg moczowych. Składa się z suchych wyciągów otrzymanych: z liści shilapushpa (*Didymopanax pedicellata*), korzenia skalnicy (*Saxifraga ligulata*), korzenia marzany sercolistnej (*Rubia cordifolia*), kłącza nagarmusty (*Cyperus scariosus*), nasion grzebykowca (*Achyranthes aspera*), części nadziemnych onosmy (*Onosma bracteatum*), całej rośliny wernonii (*Vernonia cinerea*), mumio i Hajrul Yahood Bhasma. W modelu zwierzęcym zastosowanym w badaniu Rao i wsp. (23) po 5 dniach od podania dootrzewnowego cisplatyny w dawce 6 mg/kg myszom szczepu C57BL/6J z melanomą B16F1 zaobserwowano znaczne zmniejszenie masy ciała, podniesienie poziomu stężenia mocznika i kreatyniny

w osoczu. W grupie zwierząt, którym godzinę przed cisplatyną aplikowano zapobiegawczo dootrzewnowo Cystone® w dawce 1000 mg/kg, stwierdzono protekcję w zakresie: spadku masy ciała (46%), poziomu azotu mocznika (57%) i kreatyniny w osoczu (66%). Zastosowana ilość preparatu nie zmniejszyła aktywności przeciwnowotworowej cisplatyny.

W badaniu klinicznym prospektywnym randomizowanym zauważono złagodzenie działań niepożądanych ze strony nerek bez wpływu na działanie farmakologiczne cisplatyny. Czterdziestu dziewięciu pacjentów z chorobą nowotworową otrzymywało 6 cykli cisplatyny w dawce 70 mg/m², 28 pacjentów w grupie kontrolnej przyjęło wyłącznie cisplatynę, 21 pacjentów w grupie doświadczalnej cisplatynę suplementowaną preparatem Cystone®. Po 3. i 6. cyklu chemioterapii zaobserwowano istotne obniżenie poziomu kreatyniny, mocznika i cystatyny C w osoczu oraz zwiększenie klirensu kreatyniny u pacjentów przyjmujących dodatkowo Cystone®. Autorzy wnioskują, że badany preparat ziołowy może chronić pacjentów onkologicznych przed nefrotoksycznością cisplatyny bez zakłócania jej działania przeciwnowotworowego (24).

Nefroprotekcijna aktywność wyciągów z korzenia *Eurycoma longifolia*, liściokwiatu *Phyllanthus fraternus*, nasion soi zwyczajnej oraz kwiatów złocienia ogrodowego *Chrysanthemum indicum*

Paracetamol (PCM) jest popularnym lekiem stosowanym ze względu na swoje właściwości przeciwbólowe i przeciwgorączkowe. Powszechnie jest uważany za bezpieczny, lecz w pewnych okolicznościach, np. w niewydolności nerek, u osób starszych, przy przedawkowaniu może prowadzić do uszkodzeń i zmiany funkcjonowania nerek. Właściwości ochronne korzenia tongkatu ali (*Eurycoma longifolia* Jack.) z rodziny bieguncznikowatych (*Simaroubaceae*) przed nefrotoksycznym działaniem paracetamolu badano na szczurach. W doświadczeniu sięgnięto po preparat Physta® zawierający wodny ekstrakt z korzenia tongkatu ali (EL), standaryzowany na zawartość: eurykomanonu (0,8-1,5%), białek (nie mniej niż 22%), polisacharydów (nie mniej niż 30,0%) oraz glikosaponin (nie mniej niż 40%). Spośród 40 osobników wydzielono 5 grup po 8 szczurów w każdej: grupę kontrolną (nośnik 10 ml/kg), grupę otrzymującą jedynie PCM (200 mg/kg PCM), grupy przyjmujące EL + PCM: EL 100 (EL 100 mg/kg + 200 mg/kg PCM), EL 200 (EL 200 mg/kg + 200 mg/kg PCM) i EL 400 (EL 400 mg/kg + 200 mg/kg PCM). Wszystkie zwierzęta z grupy kontrolnej pobierały

nośnik codziennie, a zwierzęta z grup PCM, EL 100, EL 200 i EL 400 dostawały odpowiednie dawki codziennie przez 14 dni. Piętnastego dnia mierzono poziom kreatyniny w surowicy, stężenia mocznika, białka i albuminy we krwi oraz klirens kreatyniny w moczu zebranym w ciągu 24 godzin. Wycinki tkanek pobranych z nerek wszystkich grup eksperymentalnych poddano analizie histopatologicznej. W grupie otrzymującej wyłącznie PCM stwierdzono istotny wzrost poziomu kreatyniny w surowicy i mocznika we krwi, w porównaniu z grupami pobierającymi wyciągi. Obserwowano zależną od dawki ochronę przed zmianami wywołanymi przez PCM (normalizacja całkowitego stężenia białka w surowicy, albumin, mocznika i kreatyniny). W grupach EL 200 i EL 400 odnotowano znaczny spadek stężenia kreatyniny w surowicy (z $1,6 \pm 0,5$ na $0,9 \pm 0,1$ i $0,8 \pm 0,16$ mg/dl) i mocznika we krwi (z $41,7 \pm 7,3$ na $21,7 \pm 3,4$ i $18,0 \pm 2,3$ mg/dl) oraz wzrost klirensu kreatyniny (z $0,31 \pm 0,12$ na $0,61 \pm 0,22$ i $0,87 \pm 0,26$ ml/min), stężenia całkowitego białka (z $7,0 \pm 1,2$ na $9,4 \pm 1,4$ i $10,1 \pm 1,6$ g/dl) i albumin w surowicy (z $1,7 \pm 0,7$ na $3,1 \pm 0,8$ i $3,1 \pm 0,3$ g/dl) w porównaniu z grupą otrzymującą wyłącznie PCM. Badanie histopatologiczne szczurów z grupy PCM wykazało poważne zmiany, podczas gdy w grupach przyjmujących ekstrakty stwierdzono znaczącą, zależną od dawki ochronę przed uszkodzeniami spowodowanymi przez PCM. Wyniki biochemiczne oraz analiza histopatologiczna nerek wskazują na potencjał nefroprotekcijny ekstraktu EL przed działaniem nefrotoksycznym paracetamolu (25).

Uwagę badaczy przykuwa również roślina tropikalna z rodzaju *Phyllanthus* – liściokwiat (*Phyllanthus fraternus* Webster) z rodziny wilczomleczowatych (*Euphorbiaceae*), której wyciągi wodne otrzymane z całej rośliny wraz z korzeniami mogą zmniejszać dolegliwości nerek wywołane stosowaniem cytostatyków. Równoczesne podanie szczurom dootrzewnowo cisplatyny (12 mg/kg) i doustnie cyklofosfamidu (150 mg/kg) znacznie zmieniło strukturę i funkcje mitochondriów oraz obniżyło wskaźnik oddychania komórkowego wraz z substratami zależnymi od przenośników energii NAD⁺ i FAD. Jednocześnie doszło do istotnego zmniejszenia: współczynnika kontroli oddychania RCR (ang. *respiratory control ratio*) mierzącego efektywność przekształcania w mitochondriach tlenu w energię, wskaźnika integralności błony komórkowej oraz wydajności fosforylacji, towarzyszących podwyższonej peroksydacji lipidów, odpowiednio w wątrobie, homogenacie nerkowym i mitochondriach wątroby. W błonie komórkowej zmniejszyła się zawartość fosfolipidów. Profilaktyczne zastosowanie

badanego wyciągu w dawce 100 mg/kg przed aplikacją cytostatyków wpłynęło na poprawę badanych parametrów, chociaż sam wyciąg nie przyczynił się do znaczących zmian w bioenergetyce mitochondrialnej. Autorzy badania założyli, że toksyczne działania niepożądane wynikające z równoczesnego stosowania cisplatyny i cyklofosfamidu korelują ze zmianami chemicznymi zachodzącymi w obrębie błony wewnętrznej mitochondrium, które ostatecznie prowadzą do uszkodzenia nerek i wątroby. Zatem aplikowanie wyciągu z *Phyllanthus fraternus* mogłoby zwiększyć potencjał leczniczy obu cytostatyków na skutek redukcji ich działań toksycznych (26).

Wyciąg z nasion soi zwyczajnej (*Glycine max* L. Merr.) oraz wyciąg z kwiatów złoczenia ogrodowego (*Chrysanthemum indicum* L.) wykazywały silne działanie antyoksydacyjne i nefroprotektoryjne na traktowanej cisplatyną ludzkiej linii komórek nabłonka cewek nerkowych HK-2. W badaniu pokazano, że kluczową rolę w mechanizmie uszkodzenia komórek nabłonkowych nerek przez cisplatynę (50 μ M) odgrywają rodniki wodoronadtlenkowy i hydroksylowy. Komórki były inkubowane ze specyficznymi zmiataczami wolnych rodników: katalazą (akceptor rodnikowy nadtlenu wodoru) i deferoksamina (akceptor rodnika hydroksylowego). Deferoksamina, chelatując jony żelaza (Fe^{2+}), hamowała generowanie rodnika hydroksylowego w reakcji Fentona, natomiast katalaza przyspieszała transformację nadtlenu wodoru do wody i tlenu. Ochronna rola zastosowanych ekstraktów, zawierających związki flawonoidowe, wynikała z silnej aktywności antyoksydacyjnej wobec obu rodników w przypadku wyciągu ze złoczenia (0,2% v/v) i słabszej dla wyciągu z soi (0,1% v/v), który wychwytywał jedynie rodniki wodoronadtlenkowe. Oba wyciągi działając protekcyjnie na nerki, jednocześnie w niewielkim stopniu wpływały na apoptozę komórek nowotworowych: niedrobnokomórkowego raka płuc H460 i czerniaka G361, nie zmniejszając tym samym działania leczniczego cisplatyny (100 μ M). Prawdopodobnie większą wrażliwością na uszkodzenia wolnych rodników charakteryzują się komórki nerek niż proliferujące komórki nowotworowe bardziej podatne na addukty DNA (27).

Nefroprotektoryjna aktywność wyciągów z propolisu

Do uszkodzeń nerek mogą przyczyniać się także środki cieniujące stosowane w diagnostyce radiologicznej. W celu odwrócenia skutków niepożądanych nefropatii kontrastowej w praktyce stosuje się prewencyjnie N-acetylocysteinę lub kalpainę. Wśród

potencjalnych nefroprotektorów znajdują się także środki pochodzenia naturalnego, np. propolis, który może chronić tkanki nerek przed wolnymi rodnikami, toksycznością i innymi działaniami niepożądanymi wywołanymi specyficznym kontrastem, jakim jest kwas diatrozowy. Propolis (kit pszczeli) jest znany z wielokierunkowej aktywności biologicznej, m.in. antyoksydacyjnej i detoksykującej oraz zróżnicowania w składzie chemicznym i właściwościach farmakologicznych w zależności od miejsca pozyskania surowca. Przedmiotem badania był propolis wytworzony przez kolonię pszczół miodnych *Apis mellifera caucasica* z Kayseri (Region Środkowej Anatolii) zawierający m.in. pinocembrynę, chryzynę i galanginę o właściwościach antyoksydacyjnych. Badanie *in vivo* przeprowadzono na 35 samcach szczurów podzielonych na 5 grup: kontrolną z solą fizjologiczną, następnie grupę otrzymującą dożylnie sam kwas diatrozowy (6 mg/kg m.c.) i 3 grupy, którym aplikowano dootrzewnowo: propolis (100 mg/kg m.c.), N-acetylocysteinę (300 mg/kg/m.c.) lub kalpainę (10 mg/kg m.c.), godzinę przed środkiem cieniującym. Po pobraniu krwi i tkanek do analizy określono parametry tkankowe i biomarkery stresu oksydacyjnego (aldehyd malonowy, glutation, peroksydaza glutationowa, dysmutaza nadtlenukowa i katalaza), poziom kreatyniny i mocznika w osoczu. Propolis działał równie efektywnie na nerki jak zastosowane dla porównania środki referencyjne: N-acetylocysteina i kalpaina. W przypadku propolisu działanie nefroprotektoryjne polegało na przywróceniu normalnego zakresu istotnych biomarkerów stresu oksydacyjnego: aldehydu malonowego, glutationu, dysmutazy nadtlenukowej i peroksydazy glutationowej (28).

Nefroprotektoryjna aktywność wyciągów z liści miłorzębu japońskiego

Związki czynne liścia miłorzębu japońskiego (*Ginkgo biloba* L.) poprawiają przepływ krwi przez naczynia krwionośne, posiadają właściwości antyoksydacyjne i hamują utlenianie lipidów, z czym może wiązać się potencjał nefroprotektoryjny surowca. Wyciąg z liści miłorzębu japońskiego został przebadany w doświadczeniach na szczurach, u których uszkodzenia nerek wywoływano: metotreksatem, gentamycyną, wankomycyną, streptozotocyną i adriamycyną.

W eksperymencie z metotreksatem jednej grupie szczurów podano dootrzewnowo substancję nefrotoksyczną w pojedynczej dawce 20 mg/kg, a drugiej aplikowano codziennie, przez 10 dni, doustnie wyciąg z miłorzębu (60 mg/kg). Metotreksat zwiększał poziom

kreatyniny i mocznika w osoczu, ekspresję mRNA dla transformującego czynnika wzrostu beta (ang. *transforming growth factor β* – TGF- β) i transkryptu 1 gruczolakoraka płuc związanego z przerzutami MALAT1 (ang. *metastasis associated lung adenocarcinoma transcript 1*) w nerkach. Ponadto zaobserwowano rozregulowanie szlaku sygnalizacyjnego kinazy 3-fosfatydiloinozytolu i kinazy białkowej AKT aktywującego kinazę mTOR (PI3K/Akt/mTOR) w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą tylko roztwór soli fizjologicznej. Ekstrakt z miłorzębu japońskiego odwracał zmiany histopatologiczne i biochemiczne zachodzące w nerkach po zastosowaniu metotreksatu. Zaobserwowano obniżenie stężenia kreatyniny w surowicy (40%) i azotu mocznika (46%), zmniejszenie ekspresji mRNA dla TGF- β w nerkach o 50,3%, aktywacji p-PI3K o 74%, p-Akt o 63,1% i p-mTOR o 68,3% w nerkach oraz ekspresji MALAT1 o 50,1%, a także zwiększenie średnicy kłębuszka nerkowego o 24,6% w porównaniu z grupą otrzymującą sam metotreksat. W nefroprotekcjny mechanizm działania wyciągu zaangażowany był szlak sygnalizacyjny PI3K/Akt/mTOR, a także zmniejszona ekspresja mRNA dla czynnika TGF- β i transkryptu MALAT1 w nerkach (29).

Wyciąg z liści miłorzębu japońskiego EGb (ang. *Ginkgo biloba extract*) standaryzowany na zawartość flawonoidów (24%) i terpenów (6%) może odgrywać protekcjną rolę w zmniejszaniu uszkodzeń nerek spowodowanych także przez gentamycynę. Samcom szczura Wistar podawano wyciąg z miłorzębu japońskiego (300 mg/kg/m.c.) doustnie 2 dni przed i 8 dni razem z gentamycyną (80 mg/kg/m.c.). W tym czasie grupa kontrolna otrzymywała sól fizjologiczną. Gentamycyna zwiększała poziom mocznika i kreatyniny w osoczu odpowiednio o 896% i 461% w porównaniu z grupą kontrolną. Obniżył się znacznie klirens kreatyniny. Badany wyciąg chronił szczury przed nefrotoksycznym działaniem gentamycyny, zmniejszając zmiany stężenia mocznika we krwi, kreatyniny w osoczu i klirensu kreatyniny. Normalizował także zwiększenie poziomu aldehydu malonowego w osoczu i nerkach odpowiednio o 177% i 374%. W badaniu morfologicznym nekroza i złuszczenie komórek nabłonkowych kanalików kory nerkowej spowodowane gentamycyną było porównywalne z grupą kontrolną (30).

Hamowanie produkcji wolnych rodników składa się na jeden z mechanizmów uczestniczących w poprawie zmian histologicznych i czynności nerek spowodowanych przez wankomycynę. Trzydzieści samic szczurów Sprague Dawley podzielono na grupy: kontrolną otrzymującą roztwór soli fizjologicznej oraz przyjmującą przez 7 dni samą wankomycynę dootrzewnowo

(100 mg/kg) lub w połączeniu z wyciągiem z liści miłorzębu japońskiego (Ginkgo biloba extract 761) podawanym doustnie (100 mg/kg). Wankomycyna zwiększała stężenie mocznika, kreatyniny, poziom aldehydu malonowego w nerkach oraz zmniejszała aktywność dysmutazy ponadtlenkowej i peroksydazy glutationu. Dołączenie badanego ekstraktu do wankomycyny chroniło zwierzęta przed wzrostem mocznika (z $54,0 \pm 4,95$ do $39,6 \pm 6,65$ mg/dl), kreatyniny (z $0,76 \pm 0,11$ do $0,48 \pm 0,11$ mg/dl) i poziomu aldehydu malonowego (z $3,84 \pm 0,21$ do $1,44 \pm 0,29$ nmol/mg/protein) oraz zwiększało aktywność dysmutazy ponadtlenkowej (z $12,8 \pm 1,66$ do $21,5 \pm 2,66$ nmol/mg/protein) i peroksydazy glutationu (z $1,21 \pm 0,12$ do $2,07 \pm 0,45$ nmol/mg/protein). Następowala także poprawa zmian patologicznych w porównaniu ze szczurami stosującymi samą wankomycyną (31).

W badaniu Welta i wsp. (32) oceniono z kolei wpływ wyciągu z liści miłorzębu japońskiego EGb 761 na zmiany w nerkach u szczurów podczas doświadczalnie wywołanej streptozotocyną 4-miesięcznej cukrzycy i niedotlenienia układu oddechowego. Dawkę dzienną wyciągu 100 mg/kg/m.c. zaczęto podawać po miesiącu od wywołania cukrzycy. Ekstrakt EGb redukował nasilone przesączanie kłębuszkowe, objętość moczu i ścieńczenie błony podstawnej torebki Bowmana, a także wzrost kolagenu typu I, III i VI. Ponadto zmniejszał aktywność dysmutazy ponadtlenkowej z 163% do 46% i uszkodzenia ultrastrukturalne spowodowane niedotlenieniem.

Standaryzowany wyciąg z miłorzębu japońskiego EGb 761 (Ginkgo biloba extract) spełniał także rolę nefroprotekcjną w przebiegu hiperlipidemii i stresu oksydacyjnego indukowanego pojedynczą dawką adriamycyny (5 mg/kg; i.v.). Przez kolejnych 35 dni aplikowano codziennie dożołądkowo ekstrakt EGb 761 (100 mg/kg), który łagodził pojawiające się dysfunkcje, zgodnie z oceną za pomocą pomiaru: profilu lipidowego, białek osocza, mocznika i klirensu kreatyniny. Znacznie zmniejszył się białkomocz, wydalanie markera uszkodzenia nerek NAG (N-acetylo-beta-D-glukozaminidaza) i generowanie markera peroksydacji lipidów TBARS (ang. *thiobarbituric acid reactive substances*) oraz wyraźnie poprawiła się zawartość glutationu i aktywność enzymów antyoksydacyjnych w homogenacie nerkowym. Protekcjną rolę wyciągu EGb 761 w prewencji uszkodzeń hiperlipidemicznych nerek spowodowanych przez adriamycynę u szczurów korelowała ze spadkiem stresu oksydacyjnego i poziomu tlenu azotu w nerkach i moczu. Zdolność badanego ekstraktu do redukcji hiperlipidemii i białkomoczu powiązanych z nefropatią może w praktyce pozwolić na zwiększenie indeksu terapeutycznego adriamycyny (33).

Podsumowanie

Z danych literaturowych przedstawionych w bieżącym artykule wynika, że działanie nefroprotektoryjne mogą wykazywać wyciągi z różnych surowców roślinnych. W większości prac ocenę działania ochronnego prowadzono na zwierzętach (szczurach, myszach i królikach) oraz na ludzkich komórkach nabłonkowych nerek (HK-2), stosując jako czynnik nefrotoksyczny: cisplatynę, cyklofosfamid, cyklosporynę, gentamycynę, metotreksat, wankomycynę, adriamycynę, paracetamol i kwas diatrozowy, substancje, których efektem ubocznym jest uszkodzenie nerek. Nefropatie wywoływano także doświadczalnie: streptozotocyną, glicerolem, alloksanem i arsenianem sodu. Efekt nefroprotektoryjny charakteryzował sok z owoców, wyciąg i olej z nasion granatu, ekstrakt ze skórki granatu oraz frakcję flawonoidową otrzymaną z liści *P. granatum*. Na temat wyciągu z kwiatów granatowca istnieją dotychczas sprzeczne doniesienia. W jednym badaniu pokazano skuteczność protekcyjną, w innym możliwość nasilania uszkodzenia nerek w obecności substancji toksycznej. Potencjał ochronny w tym zakresie wykazano także dla wyciągów: z owoców morwy białej, owocni (miąższu) brzoskwini zwyczajnej, części nadziemnych porzeczki

dwukolcowej, cebuli czosnku pospolitego, kwiatów majeranku ogrodowego, ziela pokrzywy zwyczajnej, bulw opornika bulwiastego, korzenia marzany sercolistnej, korzenia *Eurycoma longifolia*, liściokwiatu *Phyllanthus fraternus*, nasion soi zwyczajnej, kwiatów złocienia ogrodowego, liści miłorzębu japońskiego oraz z propolisu. Zostało wykonane tylko jedno badanie kliniczne prospective randomizowane i to na małej liczbie pacjentów z zastosowaniem złożonego preparatu roślinnego Cystone® zawierającego m.in. wyciąg z korzenia marzany sercolistnej. Autorzy przytoczonych prac w swoich eksperymentach zwracali uwagę na wpływ badanych wyciągów na aktywność enzymów antyoksydacyjnych, zasoby glutationu w komórkach nerek, poziom kreatyniny i mocznika w osoczu, stopień peroksydacji lipidów, zmiany w obrębie błon komórkowych mitochondrium, szlaki sygnalizacyjne uczestniczące w apoptozie, a także na stan biomarkerów dysfunkcji nerek: KIM-1, NGAL, NAG i TBARS. Ponadto przeprowadzali badania histopatologiczne wskazujące na stopień uszkodzenia nerek. Na podstawie analizy dotychczasowych doświadczeń opisanych w cytowanych pracach można wnioskować, że mechanizm działania nefroprotektoryjnego badanych wyciągów wynika z ich aktywności antyoksydacyjnej, przeciwzapalnej i antyapoptotycznej.

Piśmiennictwo

1. Cayir K, Karadeniz A, Simsek N i wsp. Pomegranate seed extract attenuates chemotherapy-induced acute nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *J Med Food* 2011; 14(10):1254-62.
2. Mortada WI, Matter Y, Khater SM i wsp. Pomegranate attenuates kidney injury in cyclosporine-induced nephrotoxicity in rats by suppressing oxidative stress. *Open Chemistry* 2023; 21:20220271.
3. Boroushaki MT, Rajabian A, Farzadnia M i wsp. Protective effect of pomegranate seed oil against cisplatin-induced nephrotoxicity in rat. *Ren Fail* 2015; 37(8):1338-43.
4. Karwasra R, Kalra P, Gupta YK i wsp. Antioxidant and anti-inflammatory potential of pomegranate rind extract to ameliorate cisplatin-induced acute kidney injury. *Food Funct* 2016; 7(7):3091-101.
5. Motamedi F, Nematbakhsh M, Monajemi R i wsp. Effect of pomegranate flower extract on cisplatin-induced nephrotoxicity in rats. *J Nephropathol* 2014; 3(4):133-8.
6. Jilanchi S, Nematbakhsh M, Mazaheri S i wsp. Pomegranate flower extract does not prevent cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Int J Prev Med* 2014; 5(12):1621-5.
7. Nasri H, Rafieian-Kopaei M. Comment on: Pomegranate flower extract does not prevent cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Int J Prev Med* 2015; 6:94.
8. Ankita P, Deepti B, Nilam M. Flavonoid rich fraction of *Punica granatum* improves early diabetic nephropathy by ameliorating proteinuria and disturbed glucose homeostasis in experimental animals. *Pharm Biol* 2015; 53(1):61-71.
9. Ullah N, Khan MA, Khan S i wsp. Nephro-protective potential of *Morus alba*, a prospective experimental study on animal models. *Pharm Biol* 2016; 54(3):530-5.
10. Lee CK, Park KK, Hwang JK i wsp. The pericarp extract of *Prunus persica* attenuates chemotherapy-induced acute nephrotoxicity and hepatotoxicity in mice. *J Med Food* 2008; 11(2):302-6.
11. Lee CK, Park KK, Hwang JK i wsp. Extract of *Prunus persica* flesh (PPFE) improves chemotherapeutic efficacy and protects against nephrotoxicity in cisplatin-treated mice. *Phytother Res* 2009; 23(7):999-1005.
12. Tilyek A, Chai C, Hou X i wsp. The protective effects of *Ribes diacanthum* Pall on cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *J Ethnopharmacol* 2016; 178:297-306.
13. Ahmed W, Zaki A, Nabil T. Prevention of methotrexate-induced nephrotoxicity by concomitant administration of garlic aqueous extract in rat. *Turk J Med Sci* 2015; 45(3):507-16.
14. Galal HM, Abd El-Rady NM. Aqueous garlic extract suppresses experimental gentamicin induced renal pathophysiology mediated by oxidative stress, inflammation and Kim-1. *Pathophysiology* 2019; 26(3-4):271-9.
15. Nasr AY, Saleh HA. Aged garlic extract protects against oxidative stress and renal changes in cisplatin-treated adult male rats. *Cancer Cell Int* 2014; 14(1):92.
16. Soliman AM, Desouky S, Marzouk M i wsp. *Origanum majorana* Attenuates Nephrotoxicity of Cisplatin Anticancer Drug through Ameliorating Oxidative Stress. *Nutrients* 2016; 8(5):264.

17. Özkol H, Musa D, Tulu Y i wsp. Ameliorative influence of *Urtica dioica* L against cisplatin-induced toxicity in mice bearing Ehrlich ascites carcinoma. *Drug Chem Toxicol* 2012; 35(3):251-7.
18. Tripathi YB, Nagwani S, Mishra P i wsp. Protective effect of *Pueraria tuberosa* DC. embedded biscuit on cisplatin-induced nephrotoxicity in mice. *J Nat Med* 2012; 66(1):109-18.
19. Nagwani S, Tripathi YB. Amelioration of cisplatin induced nephrotoxicity by PTY: a herbal preparation. *Food Chem Toxicol* 2010; 48(8-9):2253-8.
20. Bharti R, Chopra BS, Raut S i wsp. *Pueraria tuberosa*: A Review on traditional uses, pharmacology, and phytochemistry. *Front Pharmacol* 2021; 11:582506.
21. Tripathi YB, Shukla R, Pandey N i wsp. An extract of *Pueraria tuberosa* tubers attenuates diabetic nephropathy by upregulating matrix metalloproteinase-9 expression in the kidney of diabetic rats. *J Diabetes* 2017; 9(2):123-32.
22. Joy J, Nair CK. Amelioration of cisplatin induced nephrotoxicity in Swiss albino mice by *Rubia cordifolia* extract. *J Cancer Res Ther* 2008; 4(3):111-5.
23. Rao M, Praveen Rao PN, Kamath R i wsp. Reduction of cisplatin-induced nephrotoxicity by cystone, a polyherbal ayurvedic preparation, in C57BL/6J mice bearing B16F1 melanoma without reducing its antitumor activity. *J Ethnopharmacol* 1999; 68(1-3):77-81.
24. El-Ghiaty MA, Ibrahim OM, Abdou SM i wsp. Evaluation of the protective effect of Cystone against cisplatin-induced nephrotoxicity in cancer patients, and its influence on cisplatin antitumor activity. *Int Urol Nephrol* 2014; 46(7):1367-73.
25. Chinnappan SM, George A, Thaggikuppe P i wsp. Nephroprotective Effect of Herbal Extract *Eurycoma longifolia* on Paracetamol-Induced Nephrotoxicity in Rats. *Evid Based Complement Alternat Med* 2019; 2019:Article ID 4916519.
26. Kumari KK, Setty OH. Protective effect of *Phyllanthus fraternus* against mitochondrial dysfunction induced by co-administration of cisplatin and cyclophosphamide. *J Bioenerg Biomembr* 2012; 44(1):179-88.
27. Pongjit K, Ninsontia C, Chaatham C i wsp. Protective effect of Glycine max and Chrysanthemum indicum extracts against cisplatin-induced renal epithelial cell death. *Hum Exp Toxicol* 2011; 30(12):1931-44.
28. Baykara M, Silici S, Özçelik M i wsp. In vivo nephroprotective efficacy of propolis against contrast-induced nephropathy. *Diagn Interv Radiol* 2015; 21(4):317-21.
29. Sherif IO, Al-Shaalan NH, Sabry D. Ginkgo Biloba extract alleviates methotrexate-induced renal injury: New impact on PI3K/Akt/mTOR signaling and MALAT1 Expression. *Biomolecules* 2019; 9(11):691.
30. Naidu MU, Shifow AA, Kumar KV i wsp. Ginkgo biloba extract ameliorates gentamicin-induced nephrotoxicity in rats. *Phytomed* 2000; 7(3):191-7.
31. Celik I, Cihangiroglu M, Ilhan N i wsp. Protective effects of different antioxidants and amrinone on vancomycin-induced nephrotoxicity. *Basic Clin Pharmacol Toxicol* 2005; 97(5):325-32.
32. Welt K, Weiss J, Martin R i wsp. Ginkgo biloba extract protects rat kidney from diabetic and hypoxic damage. *Phyto-med* 2007; 14(2-3):196-203.
33. Abd-Ellah MF, Mariee AD. Ginkgo biloba leaf extract (EGb 761) diminishes adriamycin-induced hyperlipidaemic nephrotoxicity in rats: association with nitric oxide production. *Biotechnol Appl Biochem* 2007; 46(Pt 1):35-40.

Konflikt interesów**Conflict of interest**

Brak konfliktu interesów
None

Adres/address:

*dr n. farm. Katarzyna Antoniak
e-mail: antoniakkatarzyna@wp.pl

otrzymano/received: 29.01.2023

zaakceptowano/accepted: 15.02.2023