

## **ВПЛИВ ФРІГОПРОТЕКТОРІВ НА СТАН ВИДІЛЬНОЇ ФУНКЦІЇ НИРОК МИШЕЙ ПІСЛЯ ГОСТРОГО ЗАГАЛЬНОГО ОХОЛОДЖЕННЯ**

**Ключові слова:** холодова травма, фрігопротектори, видільна функція нирок

Температура тіла є важливою фізіологічною константою, і підтримка її в певному діапазоні є необхідною умовою нормального функціонування всіх органів і систем. Навіть невеликі відхилення температури тіла від норми можуть призвести до серйозних змін метаболізму та розвитку теплової або холодової хвороби. Тяжкі форми теплової та холодової хвороби являють загрозу для життя, що визначає важливість їх своєчасного розпізнавання та лікування в практиці невідкладної допомоги [1, 13].

Щорічно гіпотермія стає причиною близько 100 випадків смерті в Канаді, 300 – у Великобританії, 700 – у США [4]. Випадки гіпотермії зустрічаються у міській та сільській місцевостях, але частіше – у містах, де гіпотермія зазвичай спостерігається в осіб, що не мають адекватного вкриття через хворобу або інші обставини. Гіпотермія може настати в будь-який час року.

Первинна гіпотермія зазвичай вражає молодих чоловіків і дітей. Ризик вторинної гіпотермії вище в осіб літнього віку, безхатніх, що страждають на психічні розлади, самотніх, що мешкають у приміщеннях, які недостатньо обігріваються [14]. В цілому проблема гіпотермії більш актуальна для літніх осіб: в одному з спостережень 85% пацієнтів з гіпотермією мали вік понад 60 років [16].

При охолодженні організму порушується діяльність усіх органів і систем, у тому числі серцево-судинної, дихальної, нервової; спостерігаються значні зміни в енергетичному забезпеченні тканин, стані рідинного балансу, кислотно-лужній рівновазі, коагуляційній системі крові [11, 15]. Спочатку розвивається адаптивна реакція на холод у вигляді тахікардії, збільшення діурезу. Якщо охолодження тіла триває, ця відповідь змінюється брадикардією, пригніченням свідомості та дихання, погіршенням функції нирок. Таким чином, гіпотермія є прогресуючим патологічним станом, який за відсутності допомоги загрожує життю.

Першою реакцією на вплив холоду з боку нирок є посилення видільної функції. Це зумовлене збільшенням ниркового кровотоку в умовах периферичної вазоконстрикції та відносної центральної гіперволемії. При помірній гіпотермії нирковий кровобіг і швидкість клубочкової фільтрації знижуються, остання – при температурі тіла 27–30°C зменшується на 50 %. Тяжка гіпотермія веде до розвитку ниркової недостатності, яка розвивається майже в 40 % випадків [16]. Гіперкаліємія також є маркером ацидозу, клітинної смерті та вважається поганою прогностичною ознакою.

Існуючий арсенал фрігопротекторних засобів, тобто препаратів, що збільшують опірність до холодового впливу, недостатній. Тому актуальним є пошук нових препаратів такої дії [5, 6, 7]. Фармакологічний скринінг виявив виражену фрігопротекторну дію глюкозаміну гідрохлориду (ГГ) та ліпіну [2, 8, 9].

Метою роботи стало визначення впливу ліпіну та глюкозаміну на стан видільної функції нирок у мишей після гострого загального охолодження в порівнянні з відомими фрігопротекторами – ацетилсаліциловою кислотою (АСК) та бемітилом [5, 6].

## Матеріали та методи дослідження

Стан видільної функції нирок в умовах водного діурезу після гострого загального охолодження [10] вивчали на білих мишах-самцях масою тіла 16–27 г. Тварин розподілили на 6 груп: група 1 – інтактний контроль; група 2 – контрольна патологія (вводили 0,9% розчин хлориду натрію); групі 3 вводили ліпін у дозі 734 мг/кг [2, 9]; групі 4 – ГГ у дозі 25 мг/кг [8]; групі 5 – препарат порівняння АСК [5] у дозі 25 мг/кг; групі 6 – препарат порівняння бемітил у дозі 50 мг/кг [3]. Всі препарати вводили одноразово внутрішньоочередивно у профілактичному режимі (за 30 хв до охолодження). Потім тварин вміщували до морозильної камери на 30 хв при  $-18^{\circ}\text{C}$  в індивідуальних пластикових контейнерах. Ця тривалість охолодження, як встановлено в попередніх дослідях, не є летальною, але значно погіршує стан мишей. До початку досліду та після охолодження тварини перебували при температурі  $21-22^{\circ}\text{C}$ .

Через 30 хв після холодового впливу визначали стан видільної функції нирок в умовах водного навантаження (5 % від маси тіла у шлунок). Вимірювали діурез за 2 год, концентрацію в сечі та екскрецію креатиніну, білка, глюкози та сечовини. Концентрацію креатиніну визначали фотокolorиметрично за реакцією Яффе, білка – за реакцією з сульфосаліциловою кислотою, глюкози – глюкозооксидазним методом. Екскрецію креатиніну, білка, глюкози та сечовини розраховували за формулою:

$$E_i = K_i \times V,$$

де  $E_i$  – екскреція відповідної речовини,  $K_i$  – її концентрація в сечі в розрахунку на 1 мл,  $V$  – діурез, мл на 10 г маси тіла тварини.

Статистичну вірогідність відмінностей розраховували за критеріями Стьюдента та Уайта. Функціональний зв'язок між показниками обчислювали за ранговим кореляційним аналізом Спірмена.

## Результати дослідження та їх обговорення

Охолодження протягом 30 хв не спричинило вірогідних змін основних показників видільної функції нирок тварин групи контрольної патології (табл. 1–4). Порівняно з інтактними тваринами вірогідно знизився вміст білка в сечі, проте його екскреція не відрізнялась у зв'язку зі збільшенням діурезу (рис. 1.), а також підвищилась екскреція сечовини (табл. 4).

### Т а б л и ц я 1

*Діурез та виведення водного навантаження у мишей після гострого загального охолодження*

Групи тварин	Показник	
	Діурез, мл/10 г за 2 год	Виведення водного навантаження, %
Інтактні миші, n=9	0,28±0,04	55,4±7,25
Контрольна патологія, n=11	0,36±0,04	72,0±7,06
ГГ, 25 мг/кг, n=7	0,29±0,06	58,5±11,90
Ліпін, 734 мг/кг, n=7	0,27±0,03*	53,7±6,15
АСК, 25 мг/кг, n=8	0,30±0,05	60,6±9,01
Бемітил, 50 мг/кг, n=7	0,34±0,05	67,0±9,81

\* – вірогідні відмінності з групою контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

Діурез мишей усіх дослідних груп вірогідно не змінився порівняно з інтактними тваринами, проте є слабка тенденція до його підвищення в тварин групи контрольної патології та в тварин, що отримували бемітил (табл. 1).

Концентрація та екскреція креатиніну після гострого загального охолодження достовірно не змінилася в тварин жодної з груп порівняно з інтактними, ці показники дещо підвищились у мишей, яким вводили ГГ (табл. 2).

Вміст білка в сечі після охолодження вірогідно зменшився лише в групі контрольної патології та має тенденцію до збільшення в мишей, яким вводили бемітил, порівняно з інтактними тваринами, але екскреція вірогідно не відрізнялася (див. рис. 1).

Т а б л и ц я 2

Концентрація креатиніну в сечі мишей та його екскреція після гострого загального охолодження

Групи тварин	Показник	
	Концентрація креатиніну, мкМ/л	Екскреція креатиніну мкМ/10 г за 2 год
Інтактні миші, n=9	1,17±0,17	0,30±0,04
Контрольна патологія, n=11	0,98±0,10	0,34±0,03
ГГ, 25 мг/кг, n=7	1,82±0,51	0,38±0,04
Ліпін, 734 мг/кг, n=7	1,31±0,31	0,32±0,05
АСК, 25 мг/кг, n=8	1,30±0,32	0,32±0,05
Бемітил, 50 мг/кг, n=7	1,12±0,11	0,36±0,05

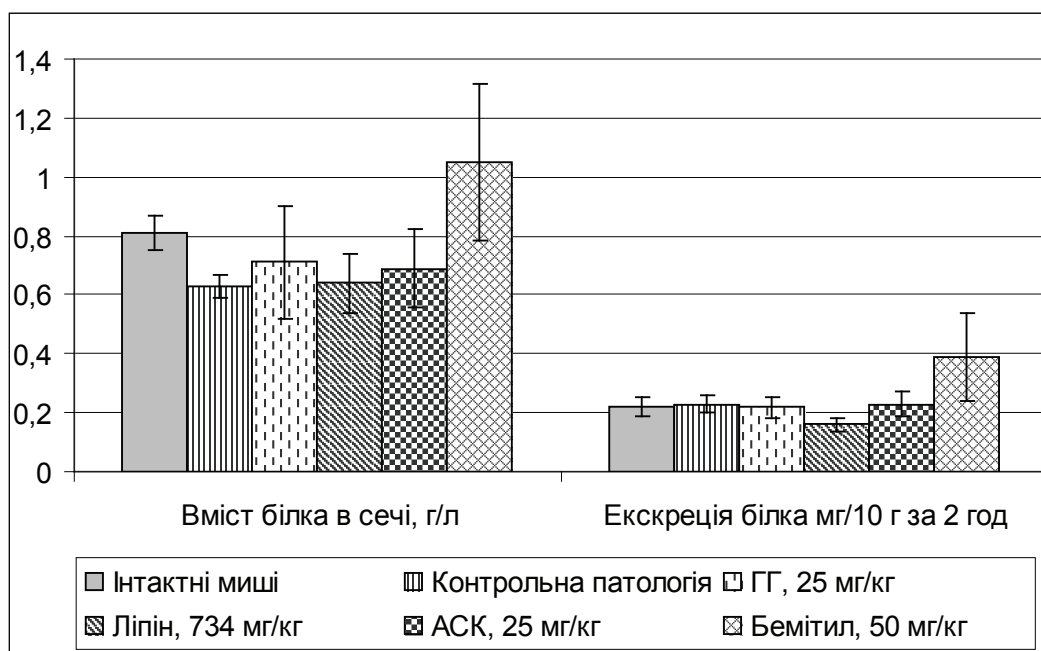


Рис. 1. Концентрація білка в сечі мишей та його екскреція після гострого загального охолодження.

\* – вірогідні відмінності з групою інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ )

Тварини, що отримали АСК, характеризуються вірогідно меншою концентрацією глюкози, а ті, що отримували ліпін, мають тенденцію до зменшення цього показника порівняно з інтактними, про що свідчать і дані екскреції. Крім цього, екскреція глюкози в тварин, що отримували ліпін або АСК, вірогідно менша порівняно з групою контрольної патології (табл. 3). Миші, яким вводили ГГ та бемітил, мають дещо вищі показники концентрації глюкози і її екскреції порівняно з інтактними та контрольними. Концентрація сечовини вірогідно не відрізняється у груп дослідних тварин порівняно з інтактною групою та контрольною патологією, проте вона дещо вища у тварин, яким вводили ГГ.

Т а б л и ц я 3

Концентрація глюкози в сечі мишей та її екскреція після гострого загального охолодження

Групи тварин	Показник	
	Концентрація глюкози, мкМ/л	Екскреція глюкози, мкМ/10 г за 2 год
Інтактні миші, n=8	0,40±0,10	0,11±0,03
Контрольна патологія, n=11	0,36±0,11	0,13±0,04
ГГ, 25 мг/кг, n=7	0,78±0,41	0,20±0,13
Ліпін, 734 мг/кг, n=7	0,16±0,05	0,04±0,01 <sup>#</sup>
АСК, 25 мг/кг, n=8	0,15±0,05 <sup>*</sup>	0,04±0,01 <sup>#</sup>
Бемітил, 50 мг/кг, n=7	0,75±0,33	0,31±0,17

\* – вірогідні відмінності з групою інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ );

# – з групою контрольної патології ( $p \leq 0,05$ ).

Екскреція сечовини вірогідно збільшилася відносно інтактних тварин лише в групі мишей контрольної патології та в тих, які отримали ГГ (табл. 4). Підвищення цього показника може свідчити про посилення катаболічних процесів із використанням азотистих сполук під час охолодження.

Т а б л и ц я 4

Концентрація сечовини в сечі дослідних тварин та її екскреція після гострого загального охолодження

Групи тварин	Показник	
	Концентрація сечовини, мМ/л	Екскреція сечовини мМ/100 г за 2 год
Інтактні миші, n=9	101,6±16,80	24,8±2,33
Контрольна патологія, n=11	100,5±9,39	36,1±4,31 <sup>*</sup>
ГГ, 25 мг/кг, n=7	202,2±60,20	40,8±5,10 <sup>*</sup>
Ліпін, 734 мг/кг, n=7	128,0±34,60	31,0±5,11
АСК, 25 мг/кг, n=8	132,4±33,10	32,3±4,80
Бемітил, 50 мг/кг, n=7	99,1±16,93	32,8±6,71

\* - вірогідні відмінності з групою інтактного контролю ( $p \leq 0,05$ ).

Після охолодження порушилась концентраційна функція нирок. Про це свідчить інверсія або суттєва зміна коефіцієнтів кореляції між об'ємом сечі та вмістом у ній досліджуваних речовин (див. рис. 2). У інтактних тварин спостерігається типовий від'ємний зв'язок [12] між об'ємом сечі та концентрацією в ній креатиніну ( $\rho = -0,4$ ) та особливо сечовини ( $\rho = -0,8$ ). Після гострого охолодження від'ємний зв'язок між діурезом і вмістом креатиніну значно слабшає в групі мишей контрольної патології, а між діурезом і вмістом сечовини стає аномально додатним (див. рис. 2.)

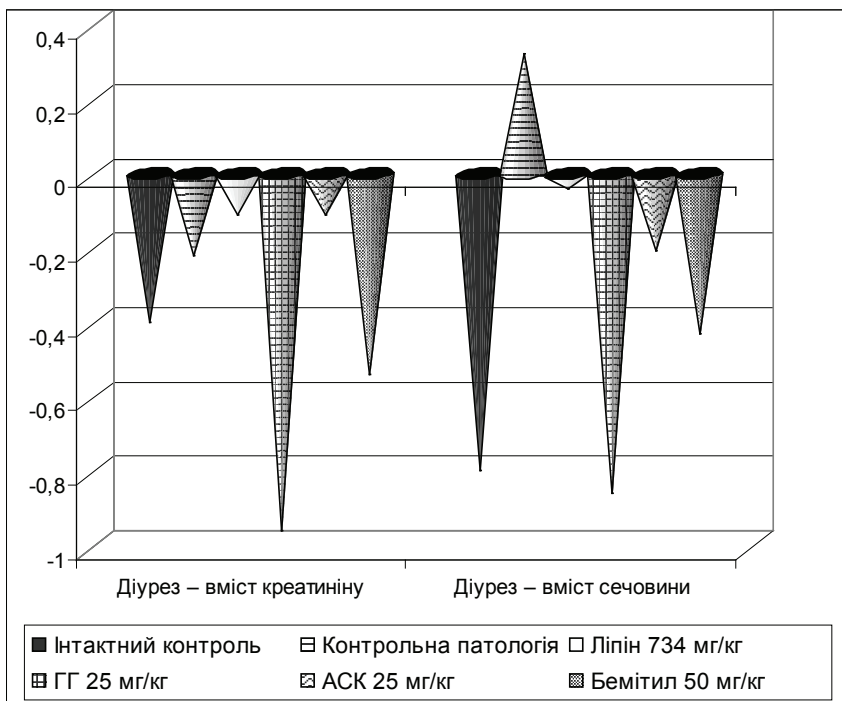


Рис. 2. Стан концентраційної функції нирок і вплив на неї фрігопротекторів у ранньому відновлювальному періоді після гострого загального охолодження за даними кореляційного аналізу

Застосування ГГ та бемітилу найсуттєвіше відновлює від'ємну кореляцію між об'ємом сечі та вмістом у ній креатиніну та сечовини: коефіцієнти кореляції наближаються або перевищують такі в інтактних тварин. При введенні тваринам ліпіну та АСК спостерігається тенденція до відновлення даних показників. Це свідчить про поліпшення функціонального стану нирок на тлі використання досліджуваних препаратів, особливо ГГ. На відміну від АСК (25 мг/кг) та ліпіну (734 мг/кг) ГГ в дозі 25 мг/кг не зменшує інтенсивність катаболічних перетворень азотистих сполук та екскрецію глюкози, що, можливо, пояснюється підвищеним тонусом симпато-адреналової системи та посиленням проявів стрес-реакції, спрямованої на мобілізацію адаптивних можливостей організму в умовах холодового впливу. Одночасно ГГ чинив найвиразніший нормалізуючий вплив на функціональний стан нирок. Отримані результати потребують подальших досліджень для поглиблення знань щодо механізмів впливу препаратів на функцію нирок при холодовій травмі.

### В и с н о в к и

1. У відновлювальний період після гострого загального охолодження спостерігається тенденція до збільшення діурезу та суттєво порушується концентраційна функція нирок.

2. Одноразове профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду в дозі 25 мг/мг або бемітилу в дозі 50 мг/кг на відміну від ацетилсаліцилової кислоти (25 мг/кг) значно поліпшує концентраційну функцію нирок мишей після гострого загального охолодження.

3. При застосуванні ліпіну в дозі 734 мг/кг є тенденція до відновлення функціонального стану нирок порівняно з тваринами групи контрольної патології.

1. Бігуняк В.В. Термічні ураження / В.В.Бігуняк, М.Ю.Повстяний. – Тернопіль: Укрмедкнига, 2004. – 196 с.
2. Домар Н.А. Експериментальне обґрунтування використання ліпосомального препарату ліпіну як фригопротектора / Н.А.Домар, С.Ю.Штриголь // Український журнал клінічної та лабораторної медицини. – 2010. – Т. 5, № 3. – С. 78–81.
3. Квітчатка Г.І. Вестибулопротекторна активність і механізм дії бемітилу і етоксібемітилу: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05 «Фармакологія» / Г.І. Квітчатка. – К., 2001. – 23 с.
4. Мищук Н.Е. Холодовая болезнь (гипотермия) / Н.Е.Мищук // Медицина неотложных состояний. – 2006. – №4(5). – С. 42–47.
5. Назаренко Н.А. Эффективность нестероидных противовоспалительных средств для профилактики и лечения холодовой травмы: автореф. дис. на соискание науч. степени д. мед. наук: спец. 05.26.02 «Безопасность в чрезвычайных ситуациях», 14.00.25 «Фармакология, клиническая фармакология» / Н.А.Назаренко. – Архангельск, 2001. – 38 с.
6. Новиков В.С. Фармакологическая коррекция гипертермии и гипотермии / В.С.Новиков, Е.Б.Шустов, В.В.Горанчук // ЦЭМПИНФОРМ. – 2001. – №4 (46). – С. 15–16.
7. Пат. 2336896, Российская Федерация, МПК<sup>7</sup> А61К36/38, А61К36/738, А61К36/185, А61К36/704, А61К36/484, А61К36/28, А61К36/02. Сбор лекарственных растений «Фитоморозко», обладающий фригопротекторным действием / Назаренко Н.А., Киселева Т.Л., Алиева А.А., Назаренко М.Ю., Карпеев А.А.; заявитель и патентообладатель «ГОУ ВПО СГМУ Росздрава» (РФ). – №2006142403/15; заявл. 30.11.06; опубл. 27.10.08.
8. Пат. 52370 на корисну модель, Україна, МПК<sup>2</sup> А61К 31/726, А61Р 43/00 (2009). Застосування глюкозаміну гідрохлориду як засобу фригопротекторної дії / Домар Н.А., Штриголь С.Ю., Пімінов О.Ф., Бондарев Є.В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u201001802; заявл. 19.02.2010; опубл. 25.08.2010. – Бюл. № 16.
9. Пат. 52379 на корисну модель, Україна, МПК<sup>2</sup> А61К 36/00, А61Р 17/02 (2006.01). Застосування ліпіну як засобу фригопротекторної дії / Домар Н.А., Штриголь С.Ю., Пімінов О.Ф., Бондарев Є.В.; заявник та патентовласник Національний фармацевтичний університет. – № u201001836; заявл. 19.02.2010; опубл. 25.08.2010. – Бюл. № 16.
10. Увеличение продолжительности жизни мышей при остром охлаждении под воздействием препарата, выделенного из *Laminaria sacchara* / Дрозд Ю.В., Бондаренко С.В., Яснецов В.В. и др. // Биол. эксперим. биол. и мед. – 1991. – Т. 111, № 4. – С. 383–384.
11. Шаповалов К.Г. Холодовая травма как причина стойкого изменения состояния микроциркуляторного русла / К.Г.Шаповалов, В.А.Сизоненко // Хирургия. – 2009. – №2, С. 28–31.
12. Штриголь С.Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах. – Харьков: Авеста-ВЛТ, 2007. – 360 с.
13. Ambiances termiques: travailler au froid / Ganem Y., Pomian J., Laborde L. et al. // Documents pour le Medecin du Travail. – 2006. – Vol. 107, № 3. – P. 279–295.
14. Atkinson R.T., Turner G.B., Herity N.A. Electrocardiographic abnormalities in an elderly woman // Postgrad. Med.J. – 1999. – Vol. 75. – P. 505–507.
15. Jia J., Pollock M., Jia J. Cold injury to nerves is not due to ischaemia alone // Brain. – 1998. – Vol. 121, № 1. – P. 989–1001.
16. Mallet M.L. Pathophysiology of accidental hypothermia // Q.J. Med. – 2002. – Vol. 95, № 1. – P. 775–785.

Надійшла до редакції 31.10.2011.

*Н.А.Домар, Е.В.Бондарев, С.Ю.Штрыголь, А.Ф.Пиминов*

## ВЛИЯНИЕ ФРИГОПРОТЕКТОРОВ НА СОСТОЯНИЕ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ ФУНКЦИИ ПОЧЕК МЫШЕЙ ПОСЛЕ ОСТРОГО ОБЩЕГО ОХЛАЖДЕНИЯ

**Ключевые слова:** холодная болезнь, фригопротекторы, выделительная функция почек

Установлено, что в восстановительный период после острого общего охлаждения у мышей наблюдается тенденция к увеличению диуреза и нарушается концентрационная функция почек. Наиболее существенное влияние на функциональное состояние почек оказывали глюкозамина гидрохлорид в дозе 25 мг/кг и бемитил в дозе 50 мг/кг в отличие от ацетилсалициловой кислоты (25 мг/кг). При использовании липина в дозе 734 мг/кг наблюдается тенденция к восстановлению концентрационной функции почек в сравнении с животными группы контрольной патологии.

*N.A.Domar, E.V.Bondarev, S.Yu.Shtrygol, A.F.Piminov*

## INFLUENCE OF FRIGOPROTEKTORS ON THE RENAL EXCRETORY FUNCTION OF MICE AFTER ACUTE TOTAL COOLING

**Key words:** cold disease, frigoprotektors, renal excretory function

### SUMMARY

It is established that in the regenerative period after acute total cooling at mice have a tendency to the increase of diuresis and renal function is disturbed concentration. The most significant influence on a renal function had a glucosamine hydrochloride in a dose 25 mg/kg and bemitil in a dose 50 mg/kg in contrast to acetylsalicylic acid 25 mg/kg. At the use of lipin in a dose 734 mg/kg tended to nrestore of concentration of renal function compared with animal of the control diseases.