

УДК: 615.453.2:582.681.71:616.61-008.6-092.9:576.31  
 © Монатко К.В., Подплетня О.А., Циганков К.В., 2012

## ВПЛИВ ЛІОФІЛЬНОГО ПОРОШКУ КАВУНА НА МОРФОФУНКЦІОНАЛЬНІ ЗМІНИ НИРОК БІЛИХ ЩУРІВ В УМОВАХ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ

Монатко К.В., Подплетня О.А., Циганков К.В.

ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України»

**Вступ.** Терапія захворювань сечостатевої системи має багато невирішених завдань. Серед засобів, що призначаються лікарем, більше 60% нефротоксичні. Для усунення токсичної дії на нирки та корекції побічних ефектів в терапію захворювань необхідно включати лікарські засоби, що захищають нирки від пошкоджень – нефропротектори. Доцільно використовувати відносно безпечні навіть при тривалому застосуванні препарати на основі рослинної сировини. Але асортимент фітопрепаратів з нефропротекторною дією досить обмежений. Перспективним є пошук нових лікарських засобів на основі рослинної сировини з нефропротекторними властивостями.

Попередніми дослідженнями доведено наявність у ліофільному порошку кавуна (ЛПК) цитопротекторної, мембраностабілізуючої та антиоксидантної дії [1], що має значення в корекції гострої ниркової недостатності [4]. Антиоксидантні властивості *Citrullus lanatus* (кавуна звичайного) зумовлені присутністю у хімічному складі поліфенолів (флавоноїдів, танінів), фенольних сполук, великої кількості лікопіну, β-каротину, аскорбінової кислоти [8].

**Метою** даної роботи стало дослідження виживаності тварин на моделі етиленгліколевої гострої ниркової недостатності (ЕГНН), а також підтвердження захисного впливу ЛПК на функцію нирок при ЕГНН результатами морфологічного дослідження.

**Методи дослідження.** Експериментальні дослідження проводились на 25 білих мишах-самцях масою 25-30 г (в середньому – 23,8±0,1 г) та 30 білих нелінійних щурах-самцях масою 200-260 г (в середньому – 228,0±3,7 г). Тварин утримували на стандартному раціоні віварію, було забезпечено фізіологічний рівень споживання NaCl. Для дослідження протекторної дії ЛПК використовували модель токсичної ЕГНН, яку

викликали підшкірним введенням мишам етиленгліколю кваліфікації «х.ч.» в дозі 10 мл/кг [5] (досліджували виживаність тварин протягом семи днів), щурам етиленгліколю вводили в дозі 6 мл/кг [5]. ЛПК в дозі 150 мг/кг та препарат порівняння Канефрон Н в дозі 27 мг/кг [7] із доведеною нефропротекторною активністю [3] вводили *per os* за 40 хвилин до моделювання ЕГНН. Стан ВФН оцінювали до початку введення препаратів та після відтворення ГНН. За годину після введення етиленгліколю виконували тест із водним навантаженням (3% від маси тіла у шлунок), сечу збирали впродовж двох годин та вимірювали діурез [2]. Після чого тварин виводили із експерименту шляхом передозування тіопенталового наркозу, одержували проби крові, вилучали нирки. В плазмі крові та сечі визначали вміст креатиніну [6] за допомогою стандартного набору НВП «Філісіт-Діагностика» (Україна). Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) оцінювали за ендogenousним креатиніном [2].

Визначали масові коефіцієнти нирок та вивчали їх гістоструктуру, досліджували та фотографували зрізи під мікроскопом Zeiss “Primo Star”, фотокамерою DCM 500.

При статистичній обробці дані представляли у вигляді середня ± стандартна помилка середньої (M±m); статистичну значущість міжгрупових відмінностей оцінювали за критерієм Даннета (Dunnnett test), виживаність – за кутовим (φ) перетворенням Фішера. Зміни вважали достовірними при p<0,05.

**Результати й обговорення.** Етиленгліколю викликає ураження нирок у мишей з 82-100% летальністю [5]. Модель ЕГНН використовували для скринінгових досліджень, де інтегральним критерієм нефропротекторного ефекту була виживаність тварин за 7 днів, що дозволило надійно верифікувати захисну дію (табл. 1) [5].

**Таблиця 1.** Виживаність мишей за умов етиленгліколевої гострої ниркової недостатності після введення ліофільного порошку кавуна

Група	n	1-а доба		2 доба	3 доба	4 доба	5, 6, 7 доба
		0-12 год	12-24 год				
Контроль	9	0/9 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)	0/9 (0)
ЛПК	8	3/5 (37,5)*	2/6 (25)*	1/7 (12,5)	1/7 (12,5)	1/7 (12,5)	1/7 (12,5)
Канефрон Н	8	4/4 (50)*	3/5 (37,5)*	1/7 (12,5)	1/7 (12,5)	1/7 (12,5)	1/7 (12,5)

**Примітка.** У числівнику – кількість мишей, що вижили, у знаменнику – загинилих, у дужках – виживаність (%), \* - вірогідні відмінності по відношенню до контролю (p<0,05 за кутовим перетворенням Фішера).

З наведених даних видно, що захисна дія ЛПК та Канефрону Н проявляється не однаково. В перші 12-ть годин досліду при введенні ЛПК вижило 3 із 8 тварин, Канефрону Н – 4 із 8, на першу добу виживаність мишей становила 25% і

37,5% відповідно (в усіх випадках p<0,05 відносно контролю). З 2-ї по 7-му добу виживаність тварин склала 12,5% для ЛПК та Канефрону Н (p=0,158 за кутовим перетворенням Фішера). Використання ЛПК та Канефрону Н зменшує

загрозу летальності при ЕГНН та подовжує тривалість життя тварин.

Захисну дію ЛПК та Канефрону Н було досліджено в шоківій стадії ЕГНН на щурах та підтверджено морфологічними дослідженнями. Характерні для розвитку патологічного процесу зміни показників спостерігали в групі модельної

патології (табл. 2). В умовах водного навантаження в шоківій стадії ЕГНН спостерігалось зниження діурезу та ШКФ у порівнянні з інтактним контролем на 46,5% та 38,2% відповідно ( $p < 0,001$ ). Екскреція креатиніну групи модельної патології перевищила рівень інтактних щурів майже в 3 рази ( $p < 0,001$ ).

**Таблиця 2.** Ренальні ефекти ліофільного порошку кавуна у щурів з етиленгліколевою гострою нирковою недостатністю

Група	Показники		
	Діурез, мл/100/2	ШКФ, мл/100/хв	Екскреція креатиніну, мкмоль/ на 100 г/ за 2 год
Вихідний стан (n=6)	1,83 ± 0,01	0,34 ± 0,01	0,83 ± 0,04
МП (n=8)	0,98 ± 0,04	0,21 ± 0,01	2,38 ± 0,13
% змін до вихідного стану	- 46,5 $p_1 < 0,001$	- 38,2 $p_1 < 0,001$	+ 186,8 $p_1 < 0,001$
МП + ЛПК (n=8)	1,86 ± 0,04	0,40 ± 0,01	3,72 ± 0,10
% змін до вихідного стану	+ 1,6	+ 17,7 $p_1 < 0,01$	+ 348,2 $p_1 < 0,001$
% змін до модельної патології	+ 89,8 $p_2 < 0,001$	+ 90,5 $p_2 < 0,001$	+ 56,3 $p_2 < 0,001$
МП + Канефрон Н (n=8)	2,57 ± 0,11	0,28 ± 0,01	1,50 ± 0,03
% змін до вихідного стану	+ 40,4 $p_1 < 0,001$	- 17,7 $p_1 < 0,01$	+ 80,7 $p_1 < 0,001$
% змін до модельної патології	+ 162,2 $p_2 < 0,001$	+ 33,3 $p_2 < 0,001$	- 37,0 $p_2 < 0,001$

**Примітка.** МП – модельна патологія; ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації;  $p_1$  – достовірні зміни відносно вихідного стану;  $p_2$  – достовірні зміни відносно модельної патології.

На відміну від Канефрону Н, який на фоні змодельованої патології стимулював діурез на 40,4% у порівнянні з рівнем інтактних щурів, введення ЛПК нормалізувало його (+1,6% відносно вихідного стану;  $p = 0,980$  за критерієм Даннета). Достовірні відмінності діурезу ( $p < 0,001$ ) фіксували у порівнянні з нелікованими щурами – його показники при введенні ЛПК зросли на 89,8%, препарату порівняння – на 162,2%. Більш виражених позитивних змін зазнала клубочкова фільтрація під впливом ЛПК. Її швидкість збільшилась на 17,7% по відношенню до вихідного стану ( $p < 0,01$ ), на 90,5% – до модельної патології ( $p < 0,001$ ). Водночас, Канефрон Н демонстрував достовірне зниження показника на 17,7% відносно здорових тварин та його підвищення на 33,3% відносно нелікованих. Екскреція креатиніну відносно інтактного контролю для ЛПК та препарату порівняння становила 348,2% та 80,7% відповідно. Відмінності з модельною патологією є істотними ( $p < 0,001$ ), але різноспрямованими: під впливом ЛПК відзначалось збільшення на 56,3%, під дією Канефрону Н – зменшення на 37,0%. Підсумовуючи вищенаведені дані,

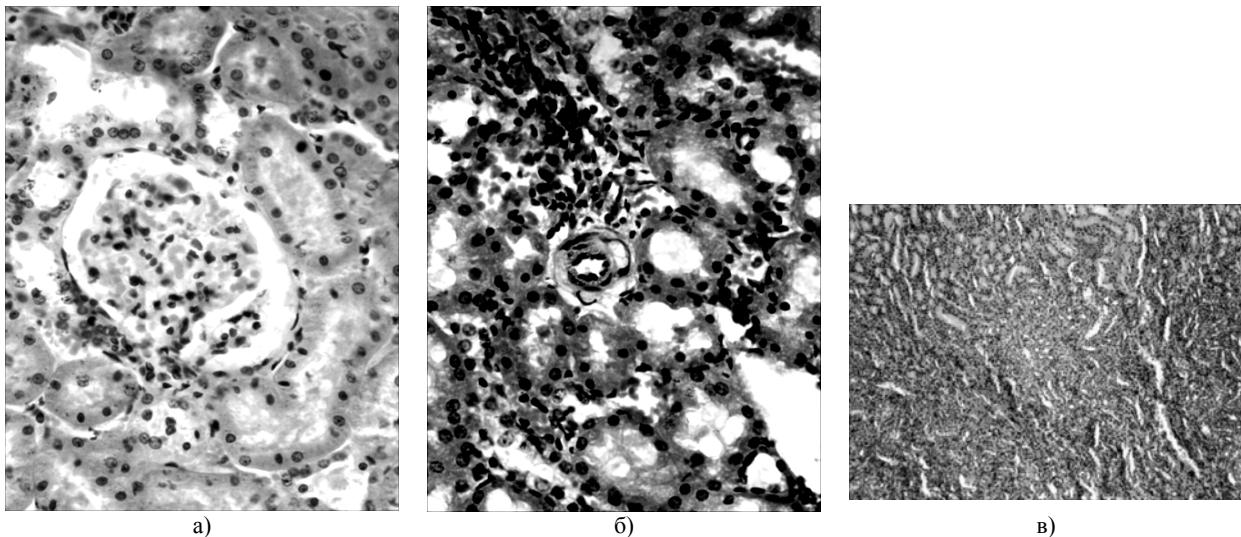
можна зробити висновок, що при введенні Канефрону Н спостерігались порушення видільної функції нирок. Зниження ШКФ та екскреції креатиніну свідчили про пошкодження каналців, погіршення роботи фільтруючого апарату нирки. На відміну від препарату порівняння ЛПК в шоківій стадії ЕГНН виявляв більш виражені протективні властивості, зберігав видільну функцію нирок, покращуючи перебіг патологічного стану. Ймовірно, захисна дія відбувається завдяки цитопротекторному, мембраностабілізуючому та антиоксидантному ефекту ЛПК [1], що має значення в корекції гострої ниркової недостатності [4].

На тлі введення ЛПК та Канефрону Н фіксували зміни відносної маси нирок тварин (табл. 3). В першу добу ЕГНН в групі модельної патології масовий коефіцієнт нирок збільшився в 1,2 рази ( $p < 0,001$ ), що свідчить про набряк органу. На тлі введення ЛПК та Канефрону Н показники майже не відрізнялись за масою від інтактного контролю ( $p = 0,391$  і  $p = 0,949$  відповідно за критерієм Даннета). Отже, ЛПК та Канефрон Н в шоківій стадії ЕГНН здатні зменшувати набряк нирок.

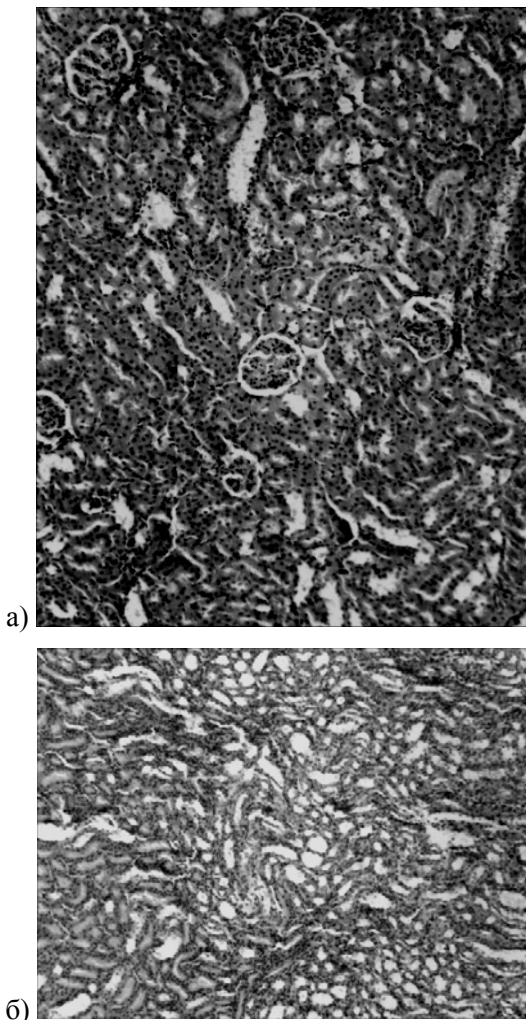
**Таблиця 3.** Порівняльний вплив ліофільного порошку кавуна та Канефрону Н на масові коефіцієнти нирок в першу добу розвитку етиленгліколевої гострої ниркової недостатності

Орган	Статистичний показник	Масовий коефіцієнт нирок, % від маси тіла			
		Інтактний контроль, n=6	МП (n=8)	МП + ЛПК (n=8)	МП + Канефрон Н (n=8)
Нирки	M±m	0,52±0,01	0,62±0,01	0,55±0,01	0,53±0,02
	$p_1$		< 0,001	-	-
	$p_2$		-	< 0,01	< 0,001

МП – модельна патологія;  $p_1$  – достовірні зміни відносно вихідного стану;  $p_2$  – достовірні зміни відносно модельної патології



**Рис. 1.** Препарат нирки щура в шоківій стадії ЕГНН. Забарвлення гематоксилін і еозин. а) Тромби в капілярах клубочка.  $\times 400$ . б) Спазмована артеріола.  $\times 400$ . в) Вогнища крововиливів на межі мозкового і коркового шарів.  $\times 100$ .



**Рис. 2.** Препарат нирки щура в шоківій стадії ЕГНН за умов введення ЛПК в дозі 150 мг/кг. Забарвлення гематоксилін і еозин. а) Переважання зернистої дистрофії епітелію канальців.  $\times 100$ . б) Помірне повнокров'я на межі мозкового і коркового шарів. Дистальні канальці з нерівномірним розширенням просвіту.  $\times 100$ .

При гістологічному дослідженні, у нирках щурів групи модельної патології (рис. 1а) наявні тромби в капілярах клубочків, зерниста і гідропічна, наблизена до балонної дистрофія епітелію канальців, переважно проксимальних відділів нефрона, спостерігалась канальцева обструкція різного ступеня вираженості білково-клітинним детритом. Мали місце виражені розлади мікроциркуляції у вигляді стазу з наявністю картин «сладж-феномена», ознаки спазмування дрібних артерій та артеріол у вигляді потовщення їх стінок і складчастості базальної мембрани ендотелію (рис. 1б), вогнища крововиливів на межі мозкового і коркового шарів (рис. 1в).

В нирках щурів, які отримували ЛПК в дозі 150 мг/кг, виявлені несуттєві патологічні зміни у вигляді зернистої дистрофії епітелію проксимальних канальців (рис. 2), наявності білка в просвіті деяких канальців. На межі мозкового і коркового шарів крововиливів не виявлялося, зазначалося помірне повнокров'я.

У щурів, на тлі прийому Канефрону Н, у порівнянні зі щурами, які отримували ЛПК в дозі 150 мг/кг, в кірковому шарі нирок виявлена подібна гістологічна картина. На деяких ділянках в просвіті канальців було виявлено невелику кількість білка, місцями набряклий епітелій з наявністю невеликої кількості білково-клітинного детриту в просвіті (рис. 3а). Однак, в мозковому шарі нирок, на рівні дистальних відділів нефрону мали місце більш важкі дистрофічні зміни у вигляді зернистої і гідропічної, аж до балонної дистрофії епітелію канальців, спостерігалась різного ступеня вираженості канальцева обструкція білково-клітинним детритом (рис. 3б, в), відкладення кристалів оксалату.

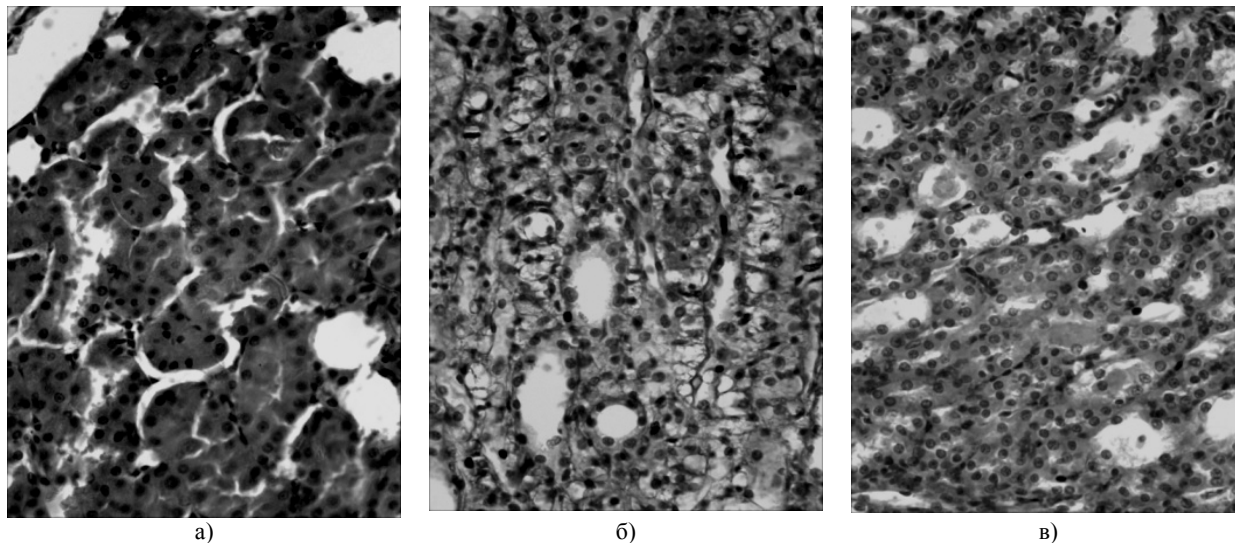
#### Висновки:

1. ЛПК та препарат порівняння Канефрон Н подовжують тривалість життя тварин, збільшують їх виживаність (12,5% для ЛПК та Канефрону Н ( $p=0,158$  за кутовим перетворенням Фішера)) при ЕГНН.

2. Універсальна нефропротекторна дія ЛПК підтверджена гістологічними, біохімічними та

фізіологічними методами аналізу в умовах змодельованої патології. При цьому досліджуваний препарат ЛПК продемонстрував ряд переваг в порівнянні з Канефроном Н.

3. Отримані результати дають підстави до проведення подальшого поглибленого вивчення ЛПК на різних моделях ГНН.



**Рис. 3.** Препарат нирки щура в шоківій стадії ЕГНН за умов введення Канефрону Н в дозі 27 мг/кг. Забарвлення гематоксилін і еозин. а) Набухання епітелію каналців з наявністю невеликої кількості білково-клітинного детриту в просвіті.  $\times 400$ . б) Балона дистрофія епітелію каналців.  $\times 400$ . в) Обструкція деяких каналців білково-клітинним детритом.  $\times 400$ .

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Антиейджинг: фітотерапія проти старіння: Монографія / Л.В. Соколова, О.І. Павх, О.М. Шаповал, О.В. Лукієнко, С.О. Тихонова, О.М. Барна та ін.; За ред. доц. **Л.В. Соколової**. – Тернопіль: Крок, 2011 – 190с.
2. **Берхин Е.Б.** Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е.Б. Берхин, Ю.И. Иванов. – Барнаул: Алтайское книжн. изд-во, 1972. – 199 с.
3. **Борисов В.В., Гордовская Н.Б., Шилев Е.М.** Фитотерапия препаратом Канефрон Н в нефрологической практике: настоящее и перспективы (клиническая лекция) // Клиническая нефрология. – 2010. - №6. – с 39-42.
4. **Горошко О.М., Заморський І.І., Геруш О.В.** Продовження тривалості життя та профілактика морфологічних змін у нирках при моделюванні гострої ниркової недостатності за допомогою препаратів кверцетину. // Буковинський медичний вісник. – 2009. – Т.13. – №4. – с. 80-84.
5. **Штриголь С.Ю.** Методи експериментального моделювання ураження нирок для фармакологічних досліджень: [метод. рекомендації] / [С.Ю. Штриголь, В.М. Лісовий, І.А. Зупанець, С.К. Шебеко та ін.] – К., 2009. – 47 с.
6. Энциклопедия клинических лабораторных тестов / Под ред. Н.У.Тица, перевод с англ. под ред. **В.В. Меньшикова**. – М.: «Лабинформ». – 1997. – 948 с.
7. **Яковлева Л.В., Чорна Н.С.** Анагетична активність густого екстракту з листя берези бородавчастої / Л.В. Яковлева, Н.С. Чорна // Фармація України. Погляд у майбутнє: матеріали VII Нац. з'їзду фармацевтів України, Харків, 15-17 верес. 2010 р. у 2-х т.: М-во охорони здоров'я України; Нац. фармац. ун-т; – Харків, 2010. – Т. 2. – С. 159.
8. **Jamuna KS, Ramesh CK, Srinivasa TR, Raghu KL.** In vitro antioxidant studies in some common fruits. International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences. - 2011. - Vol 3. - Issue 1. - P. 60-63.

**Монатко К.В., Подплетня О.А., Цыганков К.В.** Вплив ліофільного порошку кавуна на морфофункціональні зміни нирок білих щурів в умовах експериментальної гострої ниркової недостатності // Український медичний альманах. – 2012. – Том 15, № 5 (додаток). – С. 248-251.

В експерименті на білих мишах та щурах вивчено захисний вплив ліофільного порошку кавуна (ЛПК) на функції нирок при експериментальній гострій нирковій недостатності, викликаній етиленгліколом. Доведено, що ЛПК проявляє захисну дію на організм, подовжує тривалість життя тварин та запобігає морфологічним змінам у нирках.

**Ключові слова:** ліофільний порошок кавуна, токсична гостра ниркова недостатність, етиленгліколь

**Монатко Е.В., Подплетня Е.А., Цыганков К.В.** Влияние лиофильного порошка арбуза на морфофункциональные изменения почек белых крыс в условиях экспериментальной острой почечной недостаточности // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 5 (додаток). – С. 248-251.

В эксперименте на белых мышах и крысах изучено защитное влияние лиофильного порошка арбуза (ЛПА) на функции почек при экспериментальной острой почечной недостаточности вызванной этиленгликолом. Доказано, что ЛПА проявляет защитное действие на организм, продлевает продолжительность жизни животных и предотвращает морфологические изменения в почках.

**Ключевые слова:** лиофильный порошок арбуза, токсическая острая почечная недостаточность, этиленгликоль

**Monatko C.V., Podpletnyaya E.A., Tsyganov K.V.** Effect of lyophilic powder of watermelon on morphological changes and renal function of white rats in experimental acute renal failure // Украинский медицинский альманах. – 2012. – Том 15, № 5 (додаток). – С. 248-251.

In the experiment on white mice and rats studied the protective effect of lyophilic powder of watermelon on renal function in experimental acute renal failure induced by ethyleneglycol. Proved that the timber shows a protective effect on the body, prolongs the life of animals and prevents the morphological changes in the kidneys.

**Key words:** watermelon lyophilic powder, toxic acute renal failure, ethyleneglycol.