

**INSULIN INFLUENCE ON THE DILATATORY REACTION OF SEGMENTS OF THE PULMONARY ARTERY OF ADULT AND OLD RATS DURING EARLY AND LATER TERMS AFTER IRRADIATION WITH <sup>60</sup>COBALT***E.N.Gorban, N.V.Topolnikova, A.V.Parshykov, E.V.Pupysheva*

**Abstract.** Endothelium-dependent dilatatory reactions of the pulmonary artery were inhibited in adult animals in contrast to old ones, both during early stages (in 9 days) and later terms (30 days) after a single  $\gamma$ -irradiation exposure from a <sup>60</sup>Co source in a sublethal dose of 5 Gy. During early terms following  $\gamma$ -irradiation under the influence of insulin the sensitivity of the segments of the pulmonary artery of adult animals to the action of the vasodilator increased, whereas in old ones – decreased, i.e. an inversion of the reaction of the pulmonary artery to insulin was observed.

**Key words:** insulin, pulmonary artery, dilatatory reaction, aging, irradiation

SE Institute of Gerontology of Ukraine's AMS (Kyiv)

Рецензент – доц. Р.Є.Булик

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol. 13, № 4. – P.76-80

Надійшла до редакції 13.08.2009 року

© С.М.Горбань, Н.В.Топольнікова, О.В.Паршиков, О.В.Пупишева, 2009

УДК 616.61-008.64-085.22

*О.М.Горошко, І.І.Заморський, О.В.Геруш***ПОДОВЖЕННЯ ТРИВАЛОСТІ ЖИТТЯ ТА ПРОФІЛАКТИКА МОРФОЛОГІЧНИХ ЗМІН У НИРКАХ ПРИ МОДЕЛЮВАННІ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ НЕДОСТАТНОСТІ ЗА ДОПОМОГОЮ ПРЕПАРАТІВ КВЕРЦЕТИНУ**Кафедра фармакології (зав. – проф. І.І.Заморський)  
Буковинського державного медичного університету, м. Чернівці

**Резюме.** В експерименті на білих щурах та мишах вивчено захисний вплив препаратів кверцетину – водорозчинного корвітину та ліпосомального ліпофлавану – на функції нирок при різних моделях гострої ниркової недостатності. Препарати вводили одноразово внутрішньоочеревинно в дозі 8 мг/кг через 40 хв після моделювання патології нирок. Доведено, що препарати кверце-

тину проявляють захисну дію на організм щурів при різних моделях гострої ниркової недостатності, подовжуючи тривалість життя тварин та запобігаючи морфологічних змін у нирках.

**Ключові слова:** гостра ниркова недостатність, корвітин, ліпофлаван, етиленгліколь, гентаміцин.

**Вступ.** За даними літератури [3], одним із способів корекції гострої ниркової недостатності (ГНН) є застосування антиоксидантів. Сучасним препаратом, який здатний активувати антиоксидантну систему в ішемізованому організмі, є кверцетин [12]. Згідно з даними літератури, кверцетин має деякий позитивний вплив на функції нирок при ГНН [11].

Попередніми дослідженнями доведено, що вітчизняні препарати, створені на основі кверцетину – ліпофлаван та корвітин, мають захисний вплив на функцію нирок при експериментальній ГНН [1, 2].

**Мета дослідження.** Дослідити виживаність тварин при різних моделях ГНН, а також підтвердити нефропротекторну дію препаратів результатами морфологічного дослідження.

**Матеріал і методи.** Експериментальні дослідження проводилися на 56 нелінійних білих щурах масою 120-180 г та 19 білих мишах-самцях масою 15-20 г.

Для дослідження препаратів використовували такі моделі патології нирок, що характеризувалися відмінностями патогенезу:

Міоглобінурічну ГНН, яку спричиняли внутрішньом'язовим уведенням щурам 50 % водного розчину гліцеролу (у співвідношенні 1:1) у дозі 8 мл/кг [9], який вводили в м'яз задньої лапки.

Токсичну етиленгліколову ГНН, яку викликали підшкірним уведенням мишам етиленгліколу в дозі 10 мл/кг [8] (за допомогою цієї моделі досліджували виживаність тварин протягом п'яти днів).

Гентаміцинову нефропатію викликали внутрішньом'язовим уведенням щурам гентаміцину сульфату (корпорація "Артеріум" АТ "Галичфарм", Україна) у дозі 80 мг/кг один раз на добу протягом шести днів [10].

Досліджені в роботі препарати є вітчизняними препаратами антиоксиданта рослинного походження кверцетину, в яких ця речовина знаходиться у водорозчинній (препарат корвітин) та ліпосомальній (препарат ліпофлаван) формах. Препарати вводили внутрішньоочеревинно в дозі 8 мг/кг через 40 хв після моделювання ГНН. Дозу цього лікарського засобу обрали виходячи із даних літератури [4, 5].

Морфологічні дослідження виконували на базі кафедри патоморфології та судової медицини Буковинського державного медичного університету під керівництвом д.мед.н., проф. Давиденка І.С. Для гістологічного дослідження матеріали нирок фіксували в 10 % розчині нейтрального забуференого формаліну протягом 48 год, зневоднювали у спиртах висхідної концентрації, заливали в парафін при температурі 64<sup>0</sup>С з подальшим отриманням гістологічних зрізів 5 мкм завтовшки. Для об'єктивізації та з метою підвищення відтворюваності результатів кількісних досліджень проводили комп'ютерну морфометрію об'єктів у гістологічних препаратах. Для цього за допомогою цифрової фотокамери Olympus (модель С740UZ) та мікроскопа ЛЮ-МАМ-Р8 отримували цифрові копії оптичного зображення ділянок мікроскопічних препаратів із створенням банку цифрових мікрофотографій, а в подальшому їх аналізували в середовищі комп'ютерної програми "Видеотест – Размер 5.0" (ТОВ «Видеотест», Росія).

Достовірність отриманих результатів визначали, використовуючи критерій t Стьюдента, виживаність – за кутовим перетворенням Фішера. Зміни вважали достовірними при  $p < 0,05$ . Для статистичних розрахунків використовували комп'ютерні програми "Statgraf" та "Statistica 5".

**Результати досліджень та їх обговорення.** Оскільки міоглобінурічна ГНН не є високотоксичною, то виживаність контрольних тварин при цій моделі становила 89,3 %, при корекції патології

препаратами кверцетину виживаність була 100 %. Не було смертності тварин при гентаміциновій нефропатії як при патології, так і при корекції цього стану препаратами кверцетину (табл. 1).

Етиленгліколь викликає фатальне ураження нирок із фактично 100 % летальністю (табл. 2) [7]. Модель етиленгліколевої інтоксикації ми використали для скринінгового дослідження, в якому інтегральним критерієм нефропротекторного ефекту є виживаність тварин, що дозволяє верифікувати захисну дію препаратів [8]. При використанні препаратів кверцетину за 40 хв до моделювання етиленгліколевої нефропатії захисна дія проявлялася не однаково. Так, на першу добу уведення препарату корвітину вижило 2 із 6 тварин, та при використанні ліпофлаону – 5 із 7, на 2-у добу виживаність становила 28,6 %. Отже, використання препаратів корвітину зменшує загрозу летальності при цьому гострому стані тяжкої патології та дає можливість збільшити час для вирішування подальшого медикаментозного лікування патології нирок. Оскільки ліпофлаон проявляє більш тривалий ефект у перші дві доби експерименту, то можна вважати, що ліпосомальна форма препарату є більш ефективна, ніж водорозчинна за рахунок можливості ліпосом захищати субстанцію кверцетину від ендогенної деградації, створення депо препарату, спрямованої органотропної дії, а також за рахунок лікувальних властивостей самих ліпосом [6].

Нефропротекторна дія препаратів кверцетину за умов міоглобінурічної ГНН підтверджена

Таблиця 1

**Виживаність щурів за умов гострої ниркової недостатності після уведення корвітину та ліпофлаону (n=7)**

Показник	Інтактні тварини	Моделна патологія	Корвітин	Ліпофлаон
Міоглобінурічна гостра ниркова недостатність				
Виживаність за 7 днів, %	100	89,3 $p_1 < 0,01$	100 $p_2 < 0,01$	100 $p_2 < 0,01$
Гентаміцинова нефропатія				
Виживаність за 6 днів, %	100	100	100	100

Примітки.  $p_1$  – показник вірогідності різниці з даними контролю;  $p_2$  – показник вірогідності різниці з даними за гострої ниркової недостатності без уведення препаратів

Таблиця 2

**Виживаність мишей за умов етиленгліколевої гострої ниркової недостатності після уведення корвітину та ліпофлаону**

Група	n	1-а доба		2-а доба	3-я доба	4-а доба	5-а доба і далі
		0-12 год	12-24 год				
Контроль	6	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)	0/6 (0)
Корвітин	6	2/4 (33,3)*	1/5 (16,7)	1/5 (16,7)	1/5 (16,7)	1/5 (16,7)	1/5 (16,7)
Ліпофлаон	7	5/2 (71,4)*	2/5 (28,6)*	1/6 (14,3)	1/6 (14,3)	1/6 (14,3)	1/6 (14,3)

Примітка. У числелнику – кількість мишей, що вижили, у знаменнику – загинилих, у дужках – % тих, що вижили щодо загинилих; \* – вірогідні відмінності з контролем ( $p < 0,05$  за кутовим перетворенням Фішера)

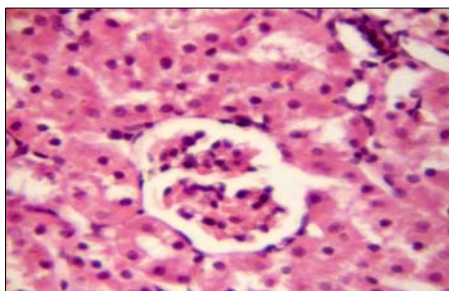


Рис. 1. Кіркова речовина нирки інтактного щура. У центрі зображення нирковий клубочок, який оточений звивистими каналцями. Просвіт каналців вільний, звичайних розмірів. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

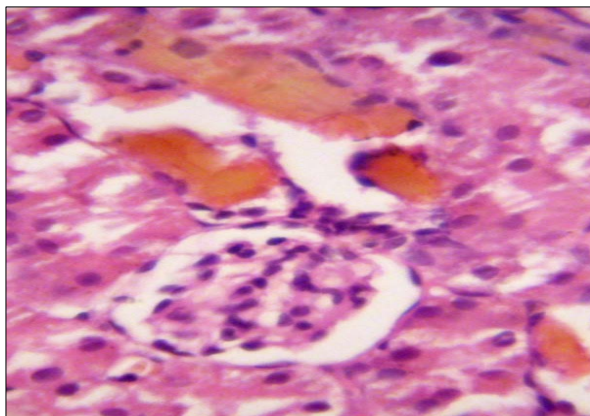


Рис. 2. Кіркова речовина нирки щура при гліцероловій гострій нирковій недостатності на 24 год експерименту. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

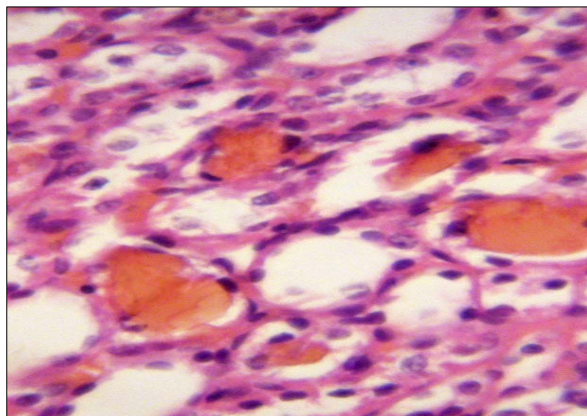


Рис. 3. Мозкова речовина нирки щура при гліцероловій гострій нирковій недостатності на 24 год експерименту. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

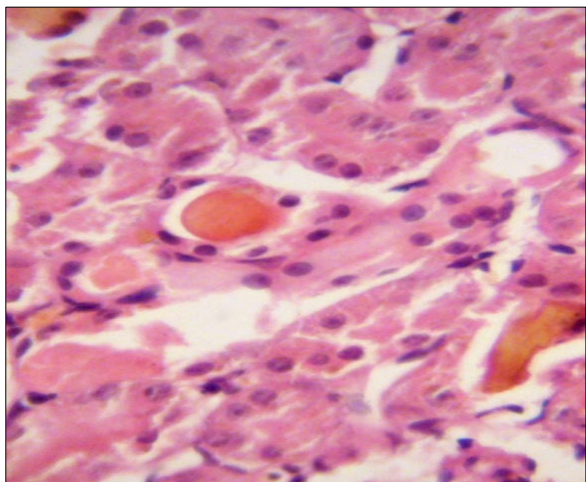


Рис. 4. Юкстамедулярна зона кіркової речовини (ліворуч) та мозкова речовина (праворуч) нирки щура за умов гліцероловій гострій нирковій недостатності після уведення корвітину на 24 год експерименту. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

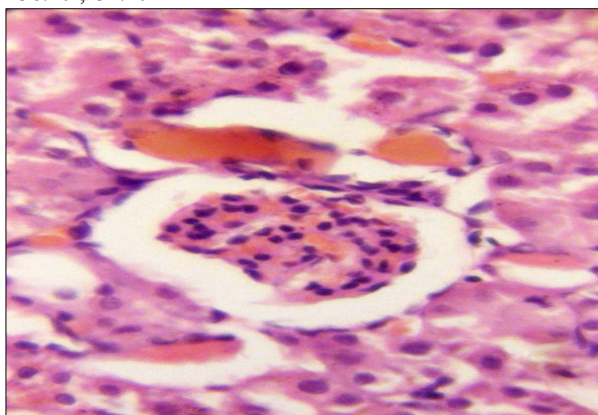
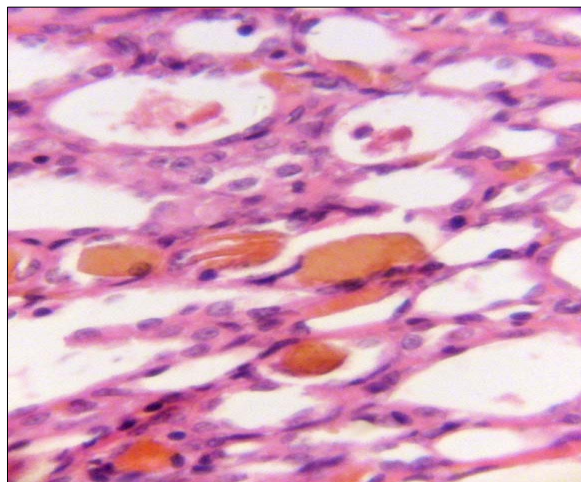
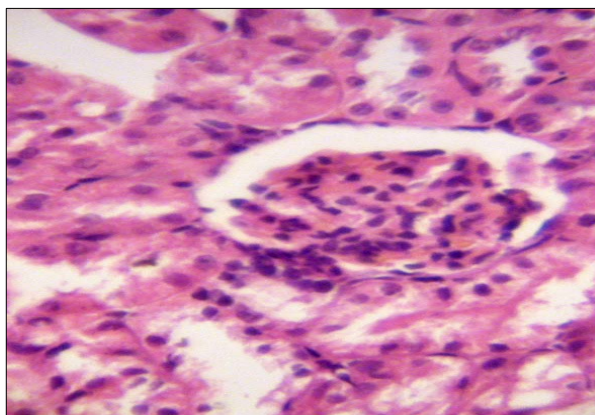


Рис. 5. Кіркова речовина нирки щура за умов гострої ниркової недостатності після уведення ліпофлавоу на 24 год експерименту. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>



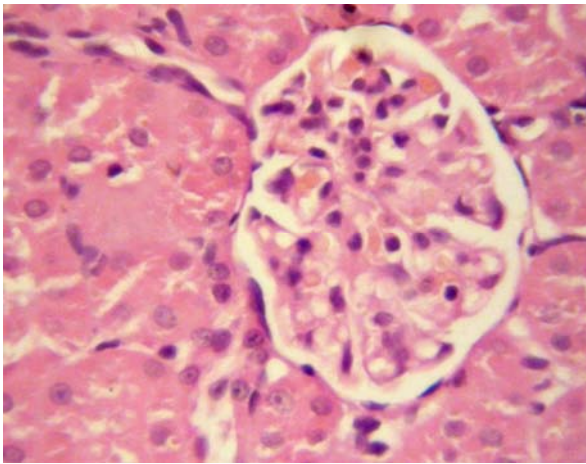


Рис. 6. Препарат нирки щура з гентаміциновою нефропатією на 6-й день експерименту, без атрофії клубочків, та з атрофією клубочків (праворуч). Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

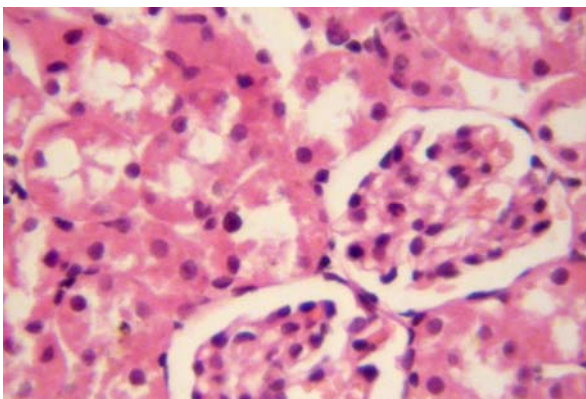
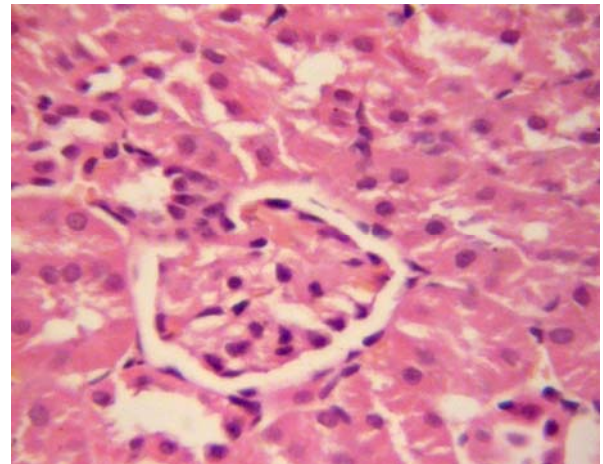


Рис. 7. Препарат нирки щура при корекції гентаміциновою нефропатією корвітином на 6-й день експерименту. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

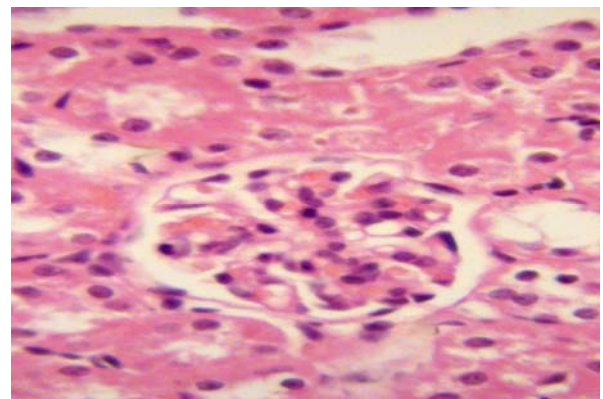


Рис. 8. Препарат нирки щура при корекції гентаміциновою нефропатією ліпофлавоном на 6-й день експерименту. Гематоксилін і еозин. Об.40<sup>x</sup>, Ок.10<sup>x</sup>

морфологічними дослідженням. На відміну від інтактних тварин (рис. 1) на 24 год експерименту при гліцероловій ГНН спостерігалася закупорювання міоглобінними циліндрами просвітів  $28 \pm 0,8$  % звивистих каналців кіркової речовини (рис.2) та  $61 \pm 1,2$  % вивідних трубочок мозкової речовини (рис 3). Міоглобінні циліндри в більшості сильно розширювали діаметри каналців у місцях своєї локалізації. У звивистих каналцях  $94 \pm 1,0$  % епітеліоцитів мали ознаки зернистої та гідропічної дистрофії, а  $2 \pm 0,1$  % епітеліоцитів знаходились у стані коагуляційного некрозу, що проявлялося ущільненням цитоплазми та каріопікнозом. На тлі використання корвітину закупорення міоглобінними циліндрами просвіту звивистих каналців нерегулярне (рис. 4) і в середньому охоплювало лише  $11 \pm 0,6$  % всіх каналців (порівняно з  $28 \pm 0,8$  % у тварин без уведення корвітину). Дистрофічний процес носив менш виражений характер, оскільки замість гідропічної розвивалася лише зерниста дистрофія, поширеність якої становила  $32 \pm 1,1$  %. При використанні ліпофлавоно (рис. 5) імбібування міоглобінними циліндрами просвіту звивистих каналців носила нерегулярний характер та в середньому охоплювало лише  $8 \pm 0,5$  % всіх каналців. Циліндри при цьому різних розмірів, але переважали невеликі. Дистрофічний процес охоплював  $82 \pm 1,3$  %, а некроз –  $1 \pm 0,1$  % епітеліоцитів.

На відміну від інтактних тварин (рис. 6) на 6-й день експерименту в нирках тварин групи з гентаміциновою патологією спостерігалася зерниста дистрофія епітелію каналців  $84 \pm 1,4$  % та дрібні ділянки некрозу каналцевого епітелію в  $3,4 \pm 0,15$  %. В окремих випадках клубочки виглядали атрофованими. При корекції корвітином (рис. 7) та ліпофлавоном (рис.8) дистрофія епітелію звивистих каналців знизилася до  $58 \pm 1,2$  %, атрофованих клубочків не спостерігали, ознаки некрозу відмічали тільки в поодиноких епітеліальних каналців.

### Висновки

1. Обидва препарати кверцетину (корвітин і ліпофлавоно) подовжують тривалість життя тварин, збільшують їх виживаність при різних моделях гострої ниркової недостатності, змодельованої уведенням гліцеролу (міоглобінурична) форма гострої ниркової недостатності і етиленгліколю (токсична) форма гострої ниркової недостатності.

2. Препарати кверцетину – корвітин і ліпофлавоно – проявляють високу нефропротекторну ефективність за умов різних моделей гострої ниркової недостатності, що підтверджується нормалізацією мікроскопічної картини нирок.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати дають підстави рекомендувати проведення подальших клінічних досліджень.

джен з метою застосування препаратів кверцетину як нефро- і геропротекторів.

### Література

1. Горошко О.М. Антиоксидантні властивості препарату "Ліпофлавіон" при експериментальній гострій нирковій недостатності / О.М.Горошко, І.І.Заморський // Мед. хімія. – 2008. – Т. 10, №3. – С. 83-87.
2. Горошко О.М. Вплив антиоксидантних властивостей корвітину на перебіг гострої експериментальної ниркової недостатності / О.М.Горошко, М.Н.Гарас // Бук. мед. вісник. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 119-122.
3. Доказательная медицина. Ежегодный справочник. Ч. 1 / Под общ. ред. С.Е.Башинского. – М.: Медиа Сфера, 2005. – 730 с.
4. Зупанець І.А. Дослідження гострої токсичності та середньо ефективних доз кверцетину при парантеральному уведенні в умовах розвитку ниркової недостатності у щурів / І.А.Зупанець, С.К.Шебеко, Д.С.Харченко // Фармакол. та лікар. токсикол. – 2009. – № 1 (8). – С. 28-32.
5. Зупанець І.А. Дослідження ефективності корвітину при нирковій недостатності у щурів / І.А.Зупанець, С.К.Шебеко, Д.С.Харченко // Клін. фармація в Україні: матер. VII Всеукр. наук.-практ. конф. з міжнар. участю, Харків, 15-16 листоп. 2007 р.: М-во охорони здоров'я України; Нац. фарм. ун-т. – Харків, 2007. – С. 148-149.
6. Кушніренко С. Властивості ліпосом і їх застосування у клінічній медицині / С.Кушніренко // Ліки України. – 2003. – № 1. – С. 18-20.
7. Клінічний випадок масового отруєння сурогатом алкоголю (монометиловий ефір етиленгліколю) / О.В.Іваненко, В.М.Падалка, С.М.Недашківський [та ін.]: тези доповідей Міжнар. медико-фармацевтичного конгресу "Ліки та життя", м. Київ, 21-24 лютого 2006 р. – Київ, 2006. – С. 78.
8. Штрыголь С.Ю. Сравнительное изучение противоотечной эффективности новой сользаменяющей смеси при экспериментальной недостаточности кровообращения: дис... канд. мед. наук (14.00.25 – фармакология) / С.Ю.Штрыголь. – Иваново, 1990. – 165 с.
9. Chander V. Reversal of Experimental Myoglobinuria Acute Renal Failure in Rats by Quercetin, a Bioflavonoid / V.Chander, D.Singh, K.Chopra // Phamakologi. – 2004. – Vol. 2773, № 1. – P. 49-56.
10. Curcumin has a palliative action on gentamicin-induced nephrotoxicity in rats / B.H.Ali, N.Al-Wabel, O.Mahmoud [et al.] // Fund. Clin. Pharmacol. – 2005. – № 4. – P. 473-477.
11. Protective effects of some flavonoids on the renal cellular membrane / T.Yokozawa, E.Dong, Y.Kawai [et al.] // Exp. Toxicol. Pathol. – 1999. – Vol. 51, № 1. – P. 9-14.
12. Satyanarayana P.S. Quercetin, a bioflavonoid, protects against oxidative stress-related renal dysfunction by cyclosporine in rats / P.S.Satyanarayana, D.Singh, K.Chopra // Methods Find. Exp. Clin. Pharmacol. – 2001. – Vol. 23, № 4. – P. 175-181.

## УВЕЛИЧЕНИЕ ДЛИТЕЛЬНОСТИ ЖИЗНИ И ПРОФИЛАКТИКА МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ИЗМЕНЕНИЙ В ПОЧКАХ ПРИ МОДЕЛИРОВАНИИ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТИ С ПОМОЩЬЮ ПРЕПАРАТОВ КВЕРЦЕТИНА

*А.М.Горошко, И.И.Заморский, О.В.Геруш*

**Резюме.** При проведении эксперимента на белых крысах и мышах изучено защитное влияние препаратов кверцетина – водорастворимого корвитина и липосомального липофлавона – на функции почек при разных моделях острой почечной недостаточности. Препараты вводили однократно внутривентриально в дозе 8 мг/кг через 40 мин после моделирования патологии почек. Доказано, что препараты кверцетина проявляют защитное действие на организм крыс при разных моделях острой почечной недостаточности, увеличивая длительность жизни животных и предотвращая морфологические изменения в почках.

**Ключевые слова:** острая почечная недостаточность, корвитин, липофлаван, этиленгликоль, гентамицин.

## INCREASE OF LONGEVITY AND PREVENTION OF MORPHOLOGICAL CHANGES IN THE KIDNEYS WHILE SIMULATING ACUTE RENAL FAILURE UNDER WITH THE HELP OF QUERCETIN PREPARATIONS

*A.M.Goroshko, I.I.Zamorsky, O.V.Gerush*

**Abstract.** While carrying out an experiment on albino rats and mice the protective effect of quercetin preparations was studied – water soluble corvutin and liposomal lipoflavon on the function of the kidneys with different models of acute renal failure. The agents were injected intraperitoneally in a singledose of 8 mg/kg in 40 minutes following a simulation of renal pathology. It has been corroborated that quercetin preparations exert a protective influence on the rat organism with different models of acute renal failure, prolonging the animals' life span and preventing morphological changes in the kidneys.

**Key words:** acute renal failure, corvutin, lipoflavon, ethylenglicol, gentamycin.

Bukovinian State Medical University (Chernivtsi)

Рецензент – доц. Н.В.Черновська

Buk. Med. Herald. – 2009. – Vol. 13, № 4. – P.80-84

Надійшла до редакції 3.07.2009 року