

Рекомендована д. біол. наук, проф. Л. С. Фірою

УДК 616.61+547.564.3]-06:615.322+582.681.81

ВПЛИВ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВІ ЕКСТРАКТУ ЛИСТЯ ТОПОЛІ КИТАЙСЬКОЇ НА ПОКАЗНИКИ ФУНКЦІЇ НИРОК ЗА ВВЕДЕННЯ 2,4-ДИНІТРОФЕНОЛУ

©О. В. Геруш¹, А. І. Денис, І. М. Кліщ, Ю. Є. Роговий¹

Тернопільський державний медичний університет імені І. Я. Горбачевського

¹Буковинський державний медичний університет, Чернівці

Резюме: у дослідах на білих нелінійних щурах-самцях масою 0,16–0,20 кг при гіпонатрієвому раціоні харчування через 2 години моделювання тканинної гіпоксії за введення 2,4-динітрофенолу показано зниження діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, відносної реабсорбції води, проксимальної і дистальної реабсорбції іонів натрію, зростання екскреції білка та втрат іонів натрію з сечею. Встановлено захистний вплив таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на досліджувані процеси функції нирок.

Ключові слова: 2,4-динітрофенол, таблетки на основі екстракту листя тополі китайської, показники функції нирок.

Вступ. Незважаючи на значний арсенал лікарських препаратів, профілактика та лікування захворювань органів сечовидільної системи є однією з найактуальніших проблем сучасної нефрології та урології. Це пов'язано з високим рівнем поширення даних патологій, схильністю до рецидивів і розвитку ускладнень, що призводять до втрати працевздатності.

Відомо, що введення 2,4 - динітрофенолу спричиняє розвиток гострої тканинної гіпоксії [1, 2] через розщеплення процесів окиснення і фосфорилування, що може привести до розладів функції нирок та супроводжуватися порушенням головного енергозалежного процесу – реабсорбції іонів натрію [3, 4]. Такі зміни на початкових етапах ушкодження можуть супроводжуватися утворенням вільних радикалів й активацією вільнорадикального окислення біомолекул (білків, ліпідів, нуклеїнових кислот, тощо) [5]. Запобігати розвитку даних реакцій ушкодження можуть засоби з протизапальною, антиоксидантною та діуретичною активністю, серед яких з успіхом застосовують рослинні препарати. Цінність фітотерапії в нефрології полягає в широті терапевтичної дії лікарських рослин, зумовленої їх значним хімічним складом. Okрім того, лікарські засоби на рослинній основі, як правило, можна комбінувати як між собою, так і з хіміопрепаратами [6].

Маркетинговий аналіз вітчизняного ринку рослинних препаратів, які застосовують для лікування та профілактики гострої ниркової недостатності, показав необхідність розширення їх асортименту за рахунок твердих лікарських форм [7].

Перспективною рослиною для створення лікарських засобів є тополя китайська (*Populus*

simonii Carr.). Результати фітохімічного вивчення листя тополі китайської показали наявність широкого спектра біологічно активних речовин [8], які зумовлюють протизапальну, діуретичну та аналгетичну активності [9]. На кафедрі управління та економіки фармації Тернопільського державного медичного університету імені І. Я. Горбачевського, під керівництвом проф. Т. А. Грошового розроблено склад та технологію таблеток на основі сухого екстракту листя тополі китайської [10].

Мета дослідження – з'ясувати захисну роль таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на показники функції нирок у щурів за умов гіпонатрієвого раціону харчування при гострій тканинній гіпоксії, зумовленій введенням 2,4-динітрофенолу.

Методи дослідження. Експерименти проведено на 21 самцях білих нелінійних щурів масою 0,16–0,20 кг, в яких моделювали гостру тканинну гіпоксію шляхом введення внутрішньочеревинно 0,1% розчину 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг одноразово [11]. Стійкість щурів до гострої гіпоксії оцінювали за часом втрати пози на «висотному плато» гострої гіпобаричної гіпоксії і часом загального перебування тварин від моменту досягнення «висоти» 12000 м до появи другого агонального вдиху (час життя або резервний час), а також за часом відновлення пози з моменту початку спуску. Виділяли 3 групи тварин: високо-, середньо- і низькостійкі [12]. Усі подальші дослідження проводили на середньостійких щурах.

Вплив таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на функцію нирок вивчали за умов одноразового введення. Дослідним тва-

ринам за моделювання гострої ниркової недостатності (введення 2, 4-динітрофенолу) внутрішньоочеревинно одноразово вводили 1% крохмальну суспензію з таблеток на основі екстракту листя тополі китайської у дозі 400 мг/кг (вміст сухого екстракту в 1 таблетці становив 100 мг). За 3 дні до початку експерименту тварин переводили на стандартний гіпонатрієвий режим харчування (зерно пшеници) без обмеження доступу до води. Функції нирок вивчали на тлі змодельованої гіпергідратації організму (ентральне водне навантаження об'ємом 5% від маси тіла), показники оцінювали за 2-годинним інтервалом. Після збору сечі проводили евтаназію тварин шляхом декапітації під анестезією, кров відбирали в охолодженні пробірки, використовуючи як стабілізатор гепарин, центрифугували 20 хв при 3000 об./хв, відбирали плазму для визначення концентрації електролітів та креатиніну. Концентрацію креатиніну у плазмі крові визначали за методом Поппера у модифікації А. К. Мерзона [12], у сечі – за методом Фоліна [12]. Концентрацію іонів натрію та калію в сечі оцінювали методом фотометрії полум'я на «ФПЛ-1»; білка в сечі – сульфосаліциловим методом [13]. Показники діяльності нирок розраховували за формулами [13]. Утримання та евтаназію дослідних і контрольних тварин здійснювали відповідно до Законодавства України

згідно з методичними рекомендаціями та правил Європейської конвенції щодо захисту хребетних тварин, які використовують в експериментальних дослідженнях та інших наукових цілях (Страсбург, 1986). Статистичну обробку результатів проводили за параметричним методом варіаційної статистики. При цьому використовували пакети комп'ютерних програм «Excel-7» та «Statgraphics» (США). Вірогідність різниці оцінювали за критерієм Стьюдента при рівні $p < 0,05$.

Результати й обговорення. За умов введення 2,4-динітрофенолу величина сечовиділення, відносний діурез, швидкість клубочкової фільтрації, відносна реабсорбція води, концентраційний індекс ендогенного креатиніну знижувалися, концентрація іонів калію в сечі та його екскреція змін не зазнавали, зростали концентрації креатиніну в сечі та плазмі крові, концентрація та екскреція білка в сечі стандартизована за швидкістю клубочкової фільтрації. Введення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської за даних умов призводило до збільшення сечовиділення, відносного діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, знижувалися концентрація іонів калію в сечі, концентрація креатиніну сечі та у плазмі крові, концентрація та екскреція білка в сечі порівняно з групою тварин за введення 2,4-динітрофенолу (табл. 1).

Таблиця 1. Вплив одноразового введення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на показники екскреторної функції нирок у щурів за умов водного навантаження на фоні гострої ниркової недостатності (ГНН), викликаної 2,4-динітрофенолом ($x \pm Sx$)

Показники	Контроль (n = 7)	ГНН (n = 7)	ГНН + екстр. тополі (n = 7)
Діурез, мл/2 год • 100 г	4,12 ± 0,18	3,35 ± 0,25 p<0,05	4,04 ± 0,10 p ₁ <0,05
Відносний діурез, %	82,50 ± 3,62	67,01 ± 5,11 p<0,05	80,73 ± 2,07 p ₁ <0,05
Концентрація іонів калію в сечі, ммоль/л	10,93 ± 0,69	11,00 ± 0,83	7,79 ± 0,46 p<0,01; p ₁ <0,02
Екскреція іонів калію, мкмоль/2 год • 100 г	45,17 ± 3,52	36,20 ± 3,08	31,45 ± 2,04 p<0,02
Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л	0,68 ± 0,02	1,00 ± 0,06 p<0,01	0,83 ± 0,03 p<0,01; p ₁ <0,05
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	46,82 ± 2,88	98,34 ± 1,18 p<0,001	80,05 ± 1,85 p<0,001; p ₁ <0,001
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв • 100 г	504,63 ± 15,06	279,63 ± 21,78 p<0,001	351,18 ± 20,02 p<0,001; p ₁ <0,05
Реабсорбція води, %	93,16 ± 0,33	89,93 ± 0,65 p<0,01	90,28 ± 0,46 p<0,01
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну, од.	14,83 ± 0,74	10,20 ± 0,69 p<0,01	10,44 ± 0,53 p<0,01
Концентрація білка в сечі, мг/мл	0,041 ± 0,003	0,056 ± 0,004 p<0,02	0,034 ± 0,002 p ₁ <0,01
Екскреція білка, мг/2 год • 100 г	0,17 ± 0,011	0,19 ± 0,018	0,14 ± 0,009 p ₁ <0,05
Екскреція білка, мг/100 мкл клубочкового фільтрату	0,034 ± 0,003	0,066 ± 0,003 p<0,001	0,040 ± 0,003 p ₁ <0,001

Примітки: 1) p – достовірні зміни порівняно з контролем,

2) p₁ - достовірні зміни порівняно із тваринами з ГНН, 3) n – кількість щурів.

Оцінка транспорту іонів натрію за умов введення 2,4-динітрофенолу вказувала на зростання концентраційного індексу, концентрації та екскреції іонів натрію сечі стандартизованої за швидкістю клубочкового фільтрату. Фільтраційна фракція, абсолютна, відносна, проксимальна та дистальна реабсорбції іонів натрію назначали гальмування. Введення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської за даних умов призводило до збільшення фільтраційної фракції, абсолютної, відносної, проксимальної та дистальної реабсорбції іонів натрію та зниження концентрації і екскреції іонів натрію сечі порівняно з групою тварин за введення 2,4-динітрофенолу (табл. 2).

Оцінка кислоторегулююальної функції нирок за умов введення 2,4-динітрофенолу вказувала на зниження pH сечі, зростання екскреції кислот, що

титруються, та аміаку, стандартизованих за швидкістю клубочкового фільтрату. Введення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської за даних умов покращувало стан кислоторегулююальної функції нирок порівняно з групою тварин за введення 2,4-динітрофенолу (табл. 3).

Уведення 2,4-динітрофенолу зумовлювало зниження рівня АТФ у ниркових канальцях у середньому у 2 рази [14] за рахунок розщеплення окиснення і фосфорилування. Дефіцит АТФ викликав активацію перекисного окиснення ліпідів та білків, що призводило до порушення головного енергозалежного процесу ниркових канальців – реабсорбції іонів натрію [11]. Ушкодження бар'єрів кишечника та печінки на фоні енергодефіциту призводило до транслокації ендотоксину з просвіту кишечника в кров, який зумовлював додаткові реакції ушкодження нир-

Таблиця 2. Вплив одноразового введення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на показники іонорегулююальної функції нирок у щурів за умов водного навантаження на фоні ГНН, викликаної 2,4- динітрофенолом ($x \pm Sx$)

Показники	Контроль (n = 7)	ГНН (n = 7)	ГНН + екстракт тополі (n = 7)
Концентрація іонів натрію в сечі, ммол/л	0,53 ± 0,03	0,68 ± 0,03; p<0,01	0,29 ± 0,02 p<0,001; p ₁ <0,001
Екскреція іонів натрію, мкмоль/2 год • 100 г	2,17 ± 0,13	2,27 ± 0,19	1,18 ± 0,09 p<0,001; p ₁ <0,01
Концентрація іонів натрію у плазмі крові, ммол/л	130,36 ± 2,07	122,86 ± 4,21	128,21 ± 2,87
Фільтраційний заряд іонів натрію, мкмоль/хв•100 г	65,79 ± 2,30	34,04 ± 2,26; p<0,001	44,82 ± 2,02 p<0,001; p ₁ <0,01
Абсолютна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв•100 г	65,77 ± 2,30	34,02 ± 2,26; p<0,001	44,81 ± 2,02 p<0,001; p ₁ <0,01
Відносна реабсорбція іонів натрію, %	99,97 ± 0,009	99,94 ± 0,008; p<0,05	99,98 ± 0,004 p ₁ <0,01
Коефіцієнт співвідношення концентрацій Na ⁺ і K ⁺ в сечі, од.	0,049 ± 0,004	0,064 ± 0,005	0,038 ± 0,003; p ₁ <0,01
Концентраційний індекс іонів натрію, од.	0,004 ± 0,0003	0,006 ± 0,0002; p<0,001	0,002 ± 0,0002 p<0,001; p ₁ <0,001
Кліренс іонів натрію, мл/2 год • 100 г	0,017 ± 0,0010	0,019 ± 0,0015	0,009 ± 0,0008; p<0,001; p ₁ <0,001
Кліренс безнатрієвої води, мл/2 год • 100 г	4,11 ± 0,18	3,33 ± 0,25; p<0,05	4,03 ± 0,10 p ₁ <0,05
Екскреція іонів натрію, мкмоль / 100 мкл клубочкового фільтрату	0,43 ± 0,036	0,82 ± 0,066 p<0,01	0,34 ± 0,033 p ₁ <0,001
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль /2 год•100г	7,36 ± 0,26	3,67 ± 0,25; p<0,001	4,86 ± 0,24 p<0,001; p ₁ <0,02
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/2 год•100г	537,28 ± 30,71	409,29 ± 34,89; p<0,05	515,55 ± 13,29 p ₁ <0,05
Проксимальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв•100мкл клубочкового фільтрату	12,14 ± 0,17	11,04 ± 0,34; p<0,05	11,57 ± 0,24
Дистальна реабсорбція іонів натрію, мкмоль/хв•100 мкл клубочкового фільтрату	0,89 ± 0,05	1,24 ± 0,11; p<0,05	1,25 ± 0,07; p<0,01

Примітки: 1) р – достовірні зміни порівняно з контролем,

2) p₁ – достовірні зміни порівняно із тваринами з ГНН, 3) n – кількість щурів.

Таблиця 3. Вплив одноразового введення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на показники кислоторегулювальної функції нирок у щурів за умов водного навантаження на фоні ГНН, викликаної 2,4-динітрофенолом ($x \pm Sx$)

Показники	Контроль (n = 7)	ГНН (n = 7)	ГНН +екстрактом тополі (n = 7)
pH сечі, од.	$7,17 \pm 0,13$	$6,55 \pm 0,11; p < 0,01$	$7,42 \pm 0,09; p_1 < 0,001$
Екскреція кислот, що титруються мкмоль/ 2 год•100 г	$25,86 \pm 1,52$	$22,53 \pm 1,96$	$17,10 \pm 0,98$ $p < 0,01; p_1 < 0,05$
Екскреція аміаку, мкмоль/2год•100 г	$15,13 \pm 0,96$	$14,23 \pm 1,32$	$9,67 \pm 0,62; p < 0,01; p_1 < 0,02$
Амонійний коефіцієнт, од.	$0,59 \pm 0,02$	$0,63 \pm 0,02$	$0,57 \pm 0,03$
Екскреція кислот, що титруються мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$5,15 \pm 0,32$	$8,10 \pm 0,62; p < 0,01$	$4,89 \pm 0,20; p_1 < 0,01$
Екскреція аміаку, мкмоль/100 мкл клубочкового фільтрату	$3,02 \pm 0,21$	$5,11 \pm 0,39; p < 0,01$	$2,77 \pm 0,15; p_1 < 0,001$

Примітки: 1) p – достовірні зміни порівняно з контролем,
2) p_1 – достовірні зміни порівняно із тваринами з ГНН, 3) n – кількість щурів.

кових каналців. Ушкодження проксимального відділу нефрона супроводжувалось зростанням втрати іонів натрію та білка з сечею. Збільшення постачання іонів натрію до macula densa дистального відділу нефрона призводило до активації механізму тубуло-гломеруллярного зворотного зв'язку з участю вазоконстрикторного впливу ангіотензину II на приносну артеріолу нирок [12, 15]. Останнє призводило до зниження фільтраційної фракції іонів натрію, клубочкової фільтрації та діурезу. Енергодефіцит та реакції ушкодження ниркових каналців за рахунок активації перекисного окиснення ліпідів та білків зумовлювали ряд порушень кислоторегулювальної функції нирок через розлади каналцевого відділу нефрона.

Встановлено позитивний вплив таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на дос-

ліджувані процеси функції нирок можна пояснити за рахунок діуретичної та протизапальної дії застосу, що вивчався. Враховуючи істотний захисний вплив досліджуваного засобу на ряд показників функції нирок, можна зробити висновок про наявність у нього нефропротекторних властивостей.

Висновки. 1. У дослідах на білих нелінійних щурах-самцях при гіпонатрієвому раціоні харчування через 2 год моделювання тканинної гіпоксії за введення 2,4-динітрофенолу показано зниження діурезу, швидкості клубочкової фільтрації, відносної реабсорбції води, проксимальної і дистальної реабсорбції іонів натрію, зростання екскреції білка та втрат іонів натрію з сечею. 2. Встановлено захисний вплив таблеток на основі екстракту листя тополі китайської на досліджувані процеси функції нирок за рахунок нефропротекторної дії.

Література

1. Функція нирок і фактор некрозу пухлин-альфа за умов введення 2,4-динітрофенолу / В. В. Белявський, Ю. Є. Роговий, М. В. Дікал [та ін.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т. IX, № 4 (34). – С. 5–9.
2. Белявський В. В. Стан клубочково-канальцевого та канальцево-канальцевого балансу за умов введення 2,4-динітрофенолу / В. В. Белявський // Галицький лікарський вісник. – 2011. – Т.18, № 1. – С. 8–11.
3. Гоженко А. І. "Приховане" ушкодження проксимального відділу нефрому / А. І. Гоженко, Ю. Є. Роговий, О. С. Федорук // Одеський медичний журнал. – 2001. – № 5. – С. 16–19.
4. Вплив мелатоніну на функцію нирок та цитокіні крові за умов введення 2,4-динітрофенолу / Т. М. Бойчук, Ю. Є. Роговий, В. В. Белявський [та ін.] // Вісник наукових досліджень. – 2011. – № 2. – С. 122–125.
5. Роговий Ю. Є. Окисномодифіковані білки у нирках та печінці при інтоксикації 2,4-динітрофенолом та дії мелатоніну в експерименті / Ю. Є. Роговий, В. В. Белявський, М. В. Дікал // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т. 10, № 3. – С. 18–21.
6. Пасечніков С. П. Фітопрепарати в лікуванні урологічних та нефрологічних захворювань / С. П. Пасечніков, В. О. Попов // Клінічні дослідження. Природна медицина. – 2012. – № 2(10). – С. 76–81.
7. Денис А. І. Маркетингові дослідження ринку рослинних лікарських засобів, які проявляють діуретичну і протизапальну дії / А. І. Денис, М. Б. Демчук // Фармацевтичний часопис. – 2012. – № 1. – С. 83–86.
8. Денис А. І. Перспективи використання тополі китайської в медицині та фармації // А. І. Денис, Т. А. Грошовий, А. М. Рудник // Фармацевтичний часопис. – 2011. – № 4. – С. 127–132.
9. Патент № 56038 Україна, МПК А 61 К 36 / 76, А 61 К 127 / 00. Способ одержання засобу з протизапаль-

- ною, анальгетичною та діуретичною активністю / Рудник А. М., Кравченко В. М., Ковальов В. М., Бородіна Н. В., Денис А. І., Грошовий Т. А.; патентовласник Нац. фармац. ун-т. – № и 201006280; заявл. 25.05.2010; опубл. 27.12.2010, Бюл. № 24.
10. Денис А. І. Обґрунтування вибору допоміжних речовин для створення таблеток на основі екстракту листя тополі китайської / А. І. Денис, Т. А. Грошовий // Актуальні питання фармацевтичної і медичної науки та практики. – 2012. – №1 (8). – С. 58–62.
11. Роль інтерлейкіну-6 у розвитку синдрому втрати іонів натрію за умов введення 2,4-динітрофенолу / В. В. Белявський, Ю. Є. Роговий, М. В. Дікал [та ін.] // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2011. – № 15(1). – С. 24–28.
12. Бойчук Т. М. Патофізіологія гепаторенального синдрому при гемічній гіпоксії / Т. М. Бойчук, Ю. Є. Роговий, Г. Б. Попович // Чернівці: Медичний університет, 2012. – 192 с.
13. Роговий Ю. Є. Патофізіологія гепаторенального синдрому на поліуричній стадії сулемової нефропатії / Ю. Є. Роговий, О. В. Злотар, Л. О. Філіпова // Чернівці: Медичний університет, 2012. – 200 с.
14. Гістоензимохімічні та гістологічні особливості печінки та нирок при введенні 2,4-динітрофенолу / Ю. Є. Роговий, М. В. Дікал, В. В. Белявський [та ін.] // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2012. – Т.11. – № 3. – С. 32–35.
15. Basic Pathology / [Robbins, Kumar, Abbas, Fausto, Mitchell]. – [8th ed.]. –Philadelphia, London, Toronto, Montreal, Sydney, Tokyo: Elsevier Inc. – 2007. – 902 p.

ВЛИЯНИЕ ТАБЛЕТОК НА ОСНОВЕ ЭКСТРАКТА ЛИСТЬЕВ ТОПОЛЯ КИТАЙСКОГО НА ПОКАЗАТЕЛИ ФУНКЦИИ ПОЧЕК ПРИ ВВЕДЕНИИ 2,4-ДИНИТРОФЕНОЛА

О. В. Геруш¹, А. И. Денис, И. Н. Клиш, Ю. Е. Роговый¹

Тернопольский государственный медицинский университет имени И. Я. Горбачевского

¹Буковинский государственный медицинский университет

Резюме: в исследованиях на белых нелинейных крысах-самцах массой 0,16–0,20 кг при гипонатриевом рационе питания через 2 ч моделирования тканевой гипоксии при введении 2,4-динитрофенола показано снижение диуреза, скорости клубочковой фильтрации, относительной реабсорбции воды, проксимальной и дистальной реабсорбции ионов натрия, увеличение экскреции белка и потери ионов натрия с мочой. Установлено защитное влияние таблеток на основе экстракта листьев тополя китайского на исследуемые процессы функции почек.

Ключевые слова: 2,4-динитрофенол, таблетки на основе экстракта листьев тополя китайского, показатели функции почек.

INFLUENCE OF TABLETS ON THE BASIS OF EXTRACT FROM SIMON'S POPLAR LEAVES ON INDICES OF THE KIDNEYS FUNCTION AFTER THE INTRODUCTION OF 2,4-DINITROPHENOL

О. В. Геруш¹, А. И. Денис, И. М. Клишч, Ю. Е. Роговий¹

Ternopil State Medical University by I. Ya. Horbachevsky

¹Bukovynian State Medical University, Chernivtsi

Summary: in the experiments on nonlinear white male rats weighing 0,16-0,20 kg at hyposodium diet after 2 hours of modeling tissue hypoxia by introducing of 2,4-dinitrophenol there was shown the reduction of urine output, glomerular filtration rate, relative water reabsorption, proximal and distal reabsorption of sodium ions, increased urinary protein and loss of sodium in the urine. It was set the protective effect of tablets of extract from Simon's Poplar leaves on the studied processes of renal function.

Key words: 2,4-dinitrophenol, tablets on the basis of Simon's Poplar leaves extract, indicators of kidneys function.