

DOI 10.29254/2077-4214-2019-4-2-154-251-254

УДК 612.46-02:616.137.8-005.4/-007.271-085]-092.9

¹Шацький В. В., ¹Гудима А. А., ²Шепітько К. В.

КОНЦЕНТРАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ НИРОК ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ КРОВОВТРАТИ, УСКЛАДНЕНОЇ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРFUZІЄЮ КІНЦІВКИ, ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ

¹Тернопільський національний медичний університет

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України (м. Тернопіль)

²Українська медична стоматологічна академія (м. Полтава)

viktor@tdmu.edu.ua

Зв'язок публікації з плановими науково-дослідними роботами. Робота є фрагментом науково-дослідної роботи «Системні та органні порушення за дії надзвичайних факторів на організм, механізми їх розвитку та патогенетична корекція (2016-2020 рр./керівник проф. А.А. Гудима)», № державної реєстрації: 016U003390.

Вступ. Масивна зовнішня кровотеча з кінцівок належить до основних причин смертності організму за умов травматичних уражень в цивільних і бойових умовах [1]. Єдиним засобом, який визнаний ефективнішим за цих умов є накладання джгута, який повністю припиняє артеріальний кровоток з максимальним терміном до двох годин за будь-якої пори року [2].

Як показали наші попередні дослідження [3] після гострої крововтрати, ускладненої двогодинним накладанням джгута, у щурів вже через 3 год. відмічали зниження діурезу та швидкості клубочкової фільтрації, які були суттєво меншими протягом 7 діб порівняно з тваринами з гострою крововтратою без ішемії-реперфузії кінцівки. За даними інших авторів на моделі поєднаної травми живота та гострої крововтрати встановлено, що додаткова двогодинна ішемія обох кінцівок в реперфузійному періоді супроводжується істотним порушенням функціонального стану нирок, встановленого методом індукованого діурезу [4].

За умов гострої крововтрати завдяки зниженню перфузії нирок насамперед розвивається преренальна форма ниркової дисфункції, яка супроводжується зниженням діурезу та швидкості клубочкової фільтрації [5]. Тому щоб встановити внесок ішемії-реперфузії кінцівки в патогенезі посилення порушення функціонального стану нирок за умов крововтрати важливо визначити ступінь первинного порушення функції каналців, епітелій яких забезпечує осмотичне концентрування сечі [6]. Чутливим показником, який відображає здатність нирок концентрувати сечу є кліренс безнатрієвої води (КБВ) – частина об'єму кінцевої сечі, з якої нефрони видалили всі розчинені в ній речовини. Визначення КБВ рекомендовано як критерій ранньої діагностики гострого ураження нирок та диференціювання ренальних і неренальних чинників розвитку дисфункції нирок [7].

Мета роботи: з'ясувати концентраційну здатність нирок за величиною КБВ після моделювання гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки, та встановити ефективність карбацетаму в корекції виявлених порушень в експерименті.

Об'єкт і методи дослідження. Експерименти виконано на 108 нелінійних щурах-самцях масою 160-180 г з дотриманням вимог гуманного ставлення до піддослідних тварин, регламентованих Законом

України «Про захист тварин від жорстокого поводження» (№ 3447-IV від 21.02.2006 р.) та Європейською конвенцією про захист хребетних тварин, які використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 18.03.1986 р.).

Усіх тварин поділили на п'ять груп: контрольну та чотири дослідних (по 6 щурів у групі). До першої дослідної групи увійшли тварини, яким моделювали ішемію-реперфузію кінцівки. Під тіопенталонатрієвим знечуженням (40 мг·кг⁻¹ маси тіла) тваринам проксимально на ліву лапку накладали джгут на 120 хв. Застосовували смужку еластичного джгута «SWAT-T» (США) шириною 10 мм, що відповідає ширині джгута при накладанні на стегно дорослій людині. Джгут затягували відповідно до нанесеного на ньому індикатора ефективного тиску, який припиняє кровоток, що додатково було підтверджено реографічним методом. У другій дослідній групі в умовах знечуження тваринам моделювали гостру крововтрату шляхом пересікання стегнової вени. Після досягнення обсягу крововтрати 20-22 % об'єму циркулюючої крові тваринам забезпечували гемостаз. У третій дослідній групі ці ушкодження поєднували. У четвертій дослідній групі тваринами з гострою крововтратою, ускладненою ішемією-реперфузією кінцівок, з метою корекції внутрішньоочередово вводили карбацетам (Інститут фізико-органічної хімії та вуглехімії НАН України, Донецьк) в дозі 5 мг на кілограм маси тварини [8].

В контрольній групі тварин вводили в наркоз, застосовуючи еквівалентну дозу тіопенталу натрію, накладали джгут на 2 год. без припинення кровотоку і в подальшому брали для досліджень через 1 год.

Через 1 і 2 години, а також через 1, 7 і 14 діб у піддослідних тварин визначали функціональний стан нирок методом водного навантаження [9]. Через металевий зонд у шлунок вводили підігріту до 30 °С водогінну воду в об'ємі 5 % від маси тіла тварини. Сечу збирали протягом 2 год. і визначали діурез. Після забору сечі під тіопентало-натрієвим знеболенням щурів виводили з експерименту методом тотального кровопускання із серця, що у ранній період експерименту відповідало 3 і 4 год реперфузії. У сечі і сироватці крові визначали концентрацію натрію уніфікованим методом для аналізатора біохімічного «Humalazer 2000», на основі яких розраховували величину КБВ [9].

Вірогідність відмінностей між контрольною і дослідними групами оцінювали з використанням непараметричного критерію Манна-Уїтні. Відмінності вважали істинними при вірогідності нульової гіпотези менше 5 % (p<0,05).

Результати досліджень та їх обговорення. Як видно з таблиці під впливом двогодинної ішемії у

Таблиця – Кліренс безнатрієвої води (мл·2 год⁻¹·100 г⁻¹) після гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки (Ме (LQ;UQ)) – медіана (нижній і верхній квартилі)

Дослідна група	Термін реперфузійного періоду				
	3 год.	4 год.	1 доба	7 доба	14 доба
Контроль = 4,39 (4,34; 4,47) (n=6)					
Група 1 Ішемія-реперфузія	4,20 (4,11; 4,43) (n=6)	4,11* (3,93; 4,29) (n=6)	3,71* (3,67; 3,75) (n=6)	4,03* (3,87; 4,26) (n=6)	4,52 (4,47; 4,56) (n=6)
Група 2 Крововтрата	2,92* (2,84; 3,17) (n=6)	2,74* (2,71; 2,81) (n=6)	2,46* (2,43; 2,51) (n=6)	3,14* (3,02; 3,19) (n=6)	3,72* (3,64; 3,81) (n=6)
Група 3 Ішемія-реперфузія+ крововтрата	2,58* (2,49; 2,72) (n=6)	2,44* (2,35; 2,54) (n=6)	1,94* (1,88; 2,22) (n=6)	2,36* (2,24; 2,54) (n=6)	3,17* (3,09; 3,21) (n=6)
p ₁₋₂	<	<	<	<	<
p ₁₋₃	<	<	<	<	<
p ₂₋₃	<	<	<	<	<

Примітки: 1. * – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні (p<0,05); 2. p₁₋₂ – вірогідність відмінностей між дослідними групами 1 і 2; 3. p₁₋₃ – вірогідність відмінностей між дослідними групами 1 і 3; 4. p₂₋₃ – вірогідність відмінностей між дослідними групами 2 і 3.

тварин без масивної зовнішньої крововтрати порівняно з контролем відмічали зниження величини КБВ, яка виявилася статистично вірогідною через 4 год, і 1 та 7 доби реперфузійного періоду (p<0,05). Показник досягав мінімальної величини через 1 добу (рис. 1) й був на 15,5 % меншим, ніж у контролі (p<0,05), проте до 14 доби нормалізувався (p>0,05) й суттєво перевищував результат 4 год., 1 та 7 днів (p<0,05).

За умом гострої крововтрати величина КБВ виявилася істотно меншою порівняно з контролем в усі терміни спостереження: через 3 год. – на 33,5 %, через 4 год. – на 37,6%, через 1 добу – на 43,9 %, через 7 днів – на 28,4 %, через 14 днів – на 15,2 % (p<0,05). У динаміці показник досягав мінімального рівня через 1 добу, до 14 доби зростав і в цей термін статистично вірогідно перевищував усі попередні терміни спостереження (p<0,05).

Ускладнення гострої крововтрати ішемією-реперфузією кінцівки зумовило більше зниження величини КБВ порівняно з тваринами, яким моделювали саму гостру крововтрату. Показник в усі терміни ре-

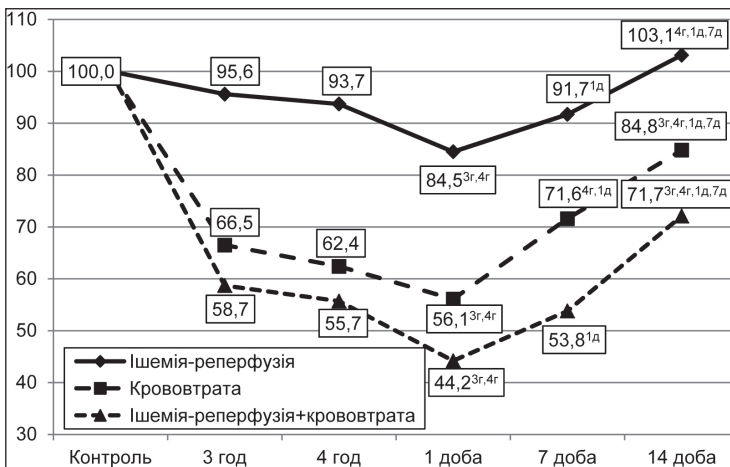


Рисунок 1 – Динаміка кліренсу безнатрієвої води (у відсотках до рівня контролю) після гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки.

Примітка: 3r,4r,1d,7d – відмінності стосовно відповідно 3 і 4 год., а також 1 і 7 днів експерименту статистично вірогідні (p<0,05).

перфузійного періоду був статистично вірогідно меншим: через 3 год. – на 11,6 %, через 4 год. – на 10,9 %, через 1 добу – на 21,1 %, через 7 днів – на 24,8 %, через 14 днів – на 14,8 % (p₂₋₃<0,05).

Отримані результати свідчать проте, що реперфузія кінцівки після двогодинної ішемії супроводжується пригніченням транспорту натрію в дистальному відділі нефрону через 4 год., 1 і 7 днів реперфузійного періоду. Як відомо, розвиток гострої ниркової недостатності більш ніж в 90% випадків обумовлений первинним порушенням функції каналців [7]. Це зумовлено тим, що натрій – найактивніший учасник осмотичного розведення та концентрування сечі, а його реабсорбція – найбільш значний за об'ємом та енергетичними затратами процес, який поглинає близько 80% енергії, яка виробляється у клітинах

нирки. Тому можна припустити, що токсини, які надходять в системний кровоток з ішемізованої протягом двох годин кінцівки, здатні негативно впливати на механізми реабсорбції натрію. Насамперед це стосується продуктів окисної деградації ліпідів і білків клітинних мембран мембран'яких тканин кінцівки, прозапальних цитокінів [10]. Реваскуляризація ішемізованої кінцівки зумовлює ряд системних проблем, які характеризуються метаболічним ацидозом, гіперкаліємією та міоглобінемією, що негативно впливає на функціональний стан нирок [11]. За цих умов констатують вірогідне зростання в гомогенатах м'язів, внутрішніх органів та плазми крові супероксид-радикалу [12], мієлопероксидази [13], зниження загального антиоксидантного захисту [14].

Зазначені механізми поглиблюють ішемічне ураження нирки за умов гострої крововтрати, в основ якого лежить гіперперфузія органа. Все це, очевидно, лежить в основі постреперфузійного ураження каналцевого апарату нирки після моделювання гострої крововтрати та її ускладнення ішемією-реперфузією кінцівки, що призводить до переходу преренальної форми гострого ураження нирок у реальну.

Застосування з метою корекції карбацетаму у тварин з гострою крововтратою, ускладненою ішемією-реперфузією кінцівки (рис. 2) вже через 7 днів супроводжувалося статистично вірогідним зростанням КБВ порівняно з тваринами з крововтратою без ішемії-реперфузії (на 21,6 %, p<0,05). Позитивний ефект спостерігався й через 14 днів застосування препарату.

Отже, за умов гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки карбацетам здійснює нефропротекторну дію, зменшуючи негативний вплив системних патогенних чинників реперфузованої кінцівки. Отримані нами дані підтверджують існуюче положення про те, що карбацетаму характерні антиоксидантні, імуномодулюючі, детоксикуючі, мембрано-

стабілізуючі і тканинопротекторні властивості [8]. Все це вказує на його перспективність з метою попередження поліорганної недостатності в модельованих умовах, що вимагає свого подальшого вивчення.

Висновки

1. Реперфузія кінцівки після двогодинної ішемії супроводжується пригніченням транспорту натрію в дистальному відділі нефрону, свідченням чого є зниження величини КБВ порівняно з контрольною групою, що статистично вірогідно через 4 год., 1 і 7 доби реперфузійного періоду.

2. За умов гострої кровотечі порушення реабсорбції натрію в дистальному каналці поглиблюється, величина КБВ знижується у всі терміни реперфузійного періоду, що статистично вірогідно як порівняно з контрольною групою, так і тваринами з ішемією-реперфузією кінцівки.

3. Ускладнення гострої крововтрати ішемією-реперфузією кінцівки супроводжується більшим ураженням епітелію дистальних каналців, що проявляється вірогідно нижчим КБВ у всі терміни реперфузійного періоду порівняно з тваринами з гострою крововтратою. Застосування на цьому тлі карбацетаму вже через 7 діб застосування супроводжується істотним зростанням величини

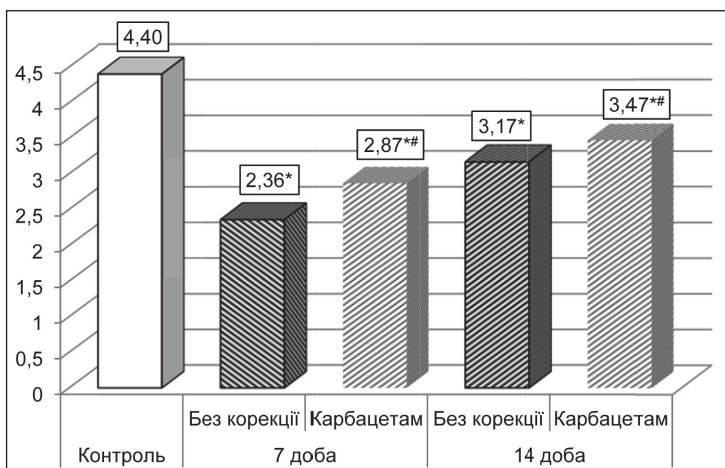


Рисунок 2 – Вплив карбацетаму на кліренс без натрієвої води (ммоль·хв⁻¹·100 г⁻¹) після гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки.

Примітки: * – відмінності стосовно контрольної групи статистично вірогідні, $p < 0,05$; # – відмінності стосовно групи без корекції статистично вірогідні, $p < 0,05$.

КБВ, що вказує на нефропротекторну активність препарату.

Перспективи подальших досліджень. В перспективі доцільно поглибити вивчення патогенних механізмів системного впливу гострої крововтрати, ускладненої ішемією-реперфузією кінцівки.

Література

- Elster EA, Frank KB, Todd ER. Implications of Combat Casualty Care for Mass Casualty Events. JAMA. 2013;310(5):475-6.
- Efficacy of Prehospital Application of Tourniquets and Hemostatic Dressings To Control Traumatic External Hemorrhage. Available from: <https://www.ems.gov/pdf/research/Studies-and-Reports.pdf>
- Kolesnikova TI. Osmoticheskiy gomeostaz u bolnykh v kriticheskikh sostoyaniyakh razlichnogo geneza. Pytannya eksperymentalnoi ta klinichnoi medytsyny. 2008;12(2):22-5. [in Russian].
- Tsybaliuk HYu. Zminy funktsionalnogo stanu nyrok u modeli poiednanoi travmy, hipovolemichnoho shoku ta ishemichno-reperfuziynoho syndromu kintsivky. Hostroi ta nevidkladni stany u praktytsi likaria: materialy desiatoho brytano-ukrainskoho sympoziumu z anesteziologii ta intensyvnoi terapii, m. Kyiv, 18–21 kvitnia 2018 r. Kyiv, 2018. s. 101-2. [in Ukrainian].
- Sheiman DA. Patofyziologiya pochky. SPb.: Bynom; 2017. 208 s. [in Russian].
- Shatskiy VV, Stakhiv OV, Maksymiv RV, Strelbytska IV. Dynamika funktsionalnogo stanu nyrok za umov ishemii-reperfuzii kintsivky, hostroi krovovtraty ta yikh korektsii. Ekstrena medychna dopomoha v nadzvychainykh umovakh: vseukr. nuak.-prakt. konf., 20-24 liutoho 2019 r. Ternopil: Ukrmedknyha; 2019. s. 40-1. [in Ukrainian].
- Cherniy VI, Kolesnikova TI, Gorodnik GA. Klirens svobodnoy vodyi kak kriteriy ranney diagnostiki porazheniya vyidelitelnoy funktsii pochek u neyroreanimatsionnykh bolnykh s ugrozoy razvitiya ostroy pochechnoy nedostatochnosti. Ukrainskiy zhurnal ekstremalnoi medytsyny imeni H. O. Mozhaieva. 2008;4:31-5. [in Russian].
- Kozak DV. Vplyv karbatsetamu na antyoksydantnyi-prooksydantnyi balans tkanyny sertsia, lehen i pechinky v dynamitsi politravmy. Shpytalna khirurgiia. 2014;1(65):40-2. [in Ukrainian].
- Rohoviy YuYe. Patofiziologiya hepatorenalnogo syndromu na poliurynchnii stadii sulemovoi nefropatii. Chernivtsi: «Misto»; 2012. 200 s. [in Ukrainian].
- Blaisdell FW. The pathophysiology of skeletal muscle ischemia and the reperfusion syndrome: a review. Cardiovasc Surg. 2002;10(6):620-30.
- Morse H, Aslam M, Standfield N. Patients with critical ischemia of the lower limb are at risk of developing kidney dysfunction. Am J Surg. 2003;185:360-3.
- Stoffels F, Lohöfener F, Beisenhirtz M. Concentration decrease nitric oxide in the post ischemic muscle is not only caused by degeneration of O₂-. Microsurgery. 2007;27(6):565-8.
- Lu S, Wang X, Wen L. Effect of super oxide dismutase on adhesion molecules expression in skeletal muscle ischemia/reperfusion injury in rats. Zhonghua Yi Xue Za Zhi. 2002;82(12):840-3.
- Su QS, Zhang JG, Dong R. Comparison of changes in markers of muscle damage induced by eccentric exercise and ischemia/reperfusion. Scand J Med Sci Sports. 2010;20(5):748-56.

КОНЦЕНТРАЦІЙНА ЗДАТНІСТЬ НИРОК ЗА УМОВ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ КРОВОТРАТИ, УСКЛАДНЕНОЇ ІШЕМІЄЮ-РЕПЕРFUZІЄЮ КІНЦІВКИ, ТА ЇЇ КОРЕКЦІЯ

Шацький В. В., Гудима А. А., Шепітько К. В.

Резюме. Ускладнення гострої крововтрати ішемією-реперфузією кінцівки супроводжується більшим ураженням епітелію дистальних каналців, що проявляється вірогідно нижчим кліренсом безнатрієвої води у всі терміни реперфузійного періоду порівняно з тваринами з гострою крововтратою. Застосування карбацетаму вже через 7 діб зумовлює зменшення ураження епітелію дистального відділу нефрону, що проявляється істотним збільшенням кліренсу безнатрієвої води.

Ключові слова: крововтрата, ішемія-реперфузія кінцівки, нирка, кліренс безнатрієвої води.

КОНЦЕНТРАЦИОННАЯ СПОСОБНОСТЬ ПОЧЕК В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ОСТРОЙ КРОВОПОТЕРИ, ОСЛОЖНЕННОЙ ИШЕМИЕЙ-РЕПЕРФУЗИЕЙ КОНЕЧНОСТИ, И ЕЕ КОРРЕКЦИЯ

Шацкий В. В., Гудыма А. А., Шепитько К. В.

Резюме. Осложнения острой кровопотери ишемией-реперфузией конечности сопровождается большим поражением эпителия дистальных канальцев, проявляется достоверно ниже клиренсом безнатриевой воды во все сроки реперфузионного периода по сравнению с животными с острой кровопотерей. Применение карбацетама уже через 7 суток приводит к уменьшению поражения эпителия дистального отдела нефрона, что проявляется существенным увеличением клиренса безнатриевой воды.

Ключевые слова: кровопотеря, ишемия-реперфузия конечности, почка, клиренс безнатриевой воды.

CONCENTRATIVE ABILITY OF THE KIDNEY UNDER EXPERIMENTAL ACUTE BLEEDING, COMPLICABLE ISCHEMIA-EXTRACTION OF THE LIMB AND ITS CORRECTION

Shatskiy V. V., Hudyma A. A., Shepitko K. V.

Abstract. In the case of massive external bleeding, an effective means of saving life is the imposition of a hemostatic harness of up to two hours. There is evidence that limb reperfusion after two hours of ischemia is capable of stimulating the development of multiple organ dysfunction. A sensitive marker of kidney dysfunction is the clearance of sodium free water.

Purpose. To find out the concentration of the kidneys by the amount of clearance of sodium-free water after modeling of acute blood loss complicated by ischemia-reperfusion of the limb, and to establish the effectiveness of carbacetam in the correction of the detected disorders in the experiment.

Object and methods. The experiments were performed on 108 non-linear male rats weighing 160-180 g. All animals were divided into five groups: control and four experimental (6 rats in each group). The first experimental group included animals that under thiopentalosodium anesthesia modeled a two-hour limb ischemia followed by reperfusion. In the second experimental group, animals were treated with acute blood loss in the amount of 20-22% by volume of circulating blood by intersection of the femoral vein in conditions of indigestion. In the third experimental group, these injuries were combined. In the fourth experimental group animals with acute blood loss, complicated by limb ischemia-reperfusion, were intraperitoneally administered carbacetam at a dose of 5 mg per kilogram of animal weight. In the control group, the animals were anesthetized using an equivalent dose of sodium thiopental, administered a bundle for 2 h without stopping the blood flow, and subsequently taken for research after 1 h.

After 1 and 2 hours, as well as after 1, 7 and 14 days in experimental animals, the functional state of the kidneys was determined by the method of water loading. Urine was collected for 2 h and urine output was determined. After urine sampling under thiopental-sodium anesthesia, rats were removed from the experiment by total bloodletting from the heart. The concentration of sodium ions was determined in the urine and serum. The clearance of sodium water was calculated.

Results and discussion. Limb reperfusion after two hours of ischemia is accompanied by inhibition of sodium transport in the distal nephron, which is a significant decrease in clearance of sodium-free water compared with control after 4 h, 1 and 7 days of the reperfusion period. The admission of toxins from the ischemic limb after its reperfusion deepens the ischemic injury of the kidney under conditions of acute blood loss in all terms of the reperfusion period, which leads to the transition of the prerenal form of acute renal injury to the real one.

Introduction to animals with acute blood loss complicated by ischemia-reperfusion of the limb of carbacetam after 7 days is accompanied by a statistically significant increase in clearance of sodium-free water compared with animals with blood loss without ischemia-reperfusion. Positive effect is observed after 14 days of the drug.

Conclusion. The complication of acute ischemia-reperfusion of the limb is accompanied by greater damage to the distal epithelium, which is manifested by a significantly lower clearance of sodium water at all times of the reperfusion period compared with animals with acute blood loss. The use of carbacetam after 7 days causes a decrease in the damage of the epithelium of the distal nephron, which is manifested by a significant increase in clearance of sodium water.

Key words: blood loss, limb ischemia-reperfusion, kidney, clearance of sodium-free water.

Рецензент – проф. Дудченко М. О.

Стаття надійшла 03.12.2019 року