

Н. І. Волощук, А. В. Юхимчук

## Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова  
Міністерства охорони здоров'я України

*Ключові слова: виживання, гостра холодова травма, статеві відмінності, глюкозаміну гідрохлорид, миші*

Статеві чинники доволі часто відіграють суттєву роль у поширеності та виразності проявів захворювань. В осіб чоловічої статі переважають розлади ліпідного обміну, гіпергомоцистеїнемія, що й зумовлює більшу частоту судинних катастроф у чоловіків старшого віку. Подагра, колоректальні поліпи, рак легень, нирок, сечового міхура та підшлункової залози, захворювання з втратою слуху є в більшій мірі «чоловічими» захворюваннями [1–5]. Проте з жіночою статтю більше асоціюється мігрень (співвідношення до чоловіків становить 3:1), ревматоїдний артрит (у 2–3 рази більше, ніж у чоловіків), системний червоний вовчак (у 9 разів більше порівняно з пацієнтами протилежної статі) [6, 7].

Статеві фактори є суттєвими й у формуванні відповіді на дію лікарських засобів, таких як наркотичні анагетика, нестероїдні протизапальні засоби, зокрема, в осіб жіночої статі сила знеболюючої дії є вищою. Антиангінальна дія метопрололу, імуносупресивна дія кортикостероїдів і циклоспорину в чоловіків проявляється більше, а антитромботична дія аспірину – менше, ніж у жінок [8, 9]. У жінок зареєстровано більш виразну антипсихотичну дію й ток-

сичність нейролептиків [10, 11] та антихолінестеразних препаратів [12].

Важливою проблемою сьогодення є холодова травма, лікування та профілактика якої залишаються одними з найскладніших і актуальних завдань невідкладної медичної допомоги. Ушкодження організму низькими температурами зустрічаються практично в усіх частинах нашої планети [13]. За даними літератури, число госпіталізацій внаслідок холодової травми сягає до 25 %, інвалідизація постраждалих складає понад 30 %, а при глибоких ураженнях – від 70 до 94 % [14]. Наразі ця проблема стосується перш за все військових, туристів, а також осіб, що займаються зимовими видами спорту, тих, хто проживає в помешканнях, що погано прогриваються, безхатків, осіб з психічними розладами, наркота алкозалежних. Натепер залишається багато невивчених чинників, що можуть впливати на стійкість до холоду. До них можна віднести вік, стать і, навіть, національність. Нечисленні дані літератури з цього приводу часто носять контраверсійний характер [15–20]. Це обґрунтовує доцільність поглиблених експериментальних досліджень щодо особливостей перебігу холодової травми в осіб чоловічої та жіночої статі, а також встановлення механізмів, які лежать в їхній основі.

У лікуванні холодової травми використовують різноманітні лікарські

засоби: актопротектори, психостимулятори, ноотропи, гепатопротектори, вітамінні препарати, нестероїдні протизапальні засоби, антиоксиданти, детоксикуючі засоби, біогенні стимулятори, анксиолітики, альфа-адреноблокатори, рослинні комплекси [21]. Згідно з результатами експериментальних досліджень, найбільшу ефективність показав препарат глюкозаміну гідрохлорид [14]. Незважаючи на глибокий аналіз механізмів та особливостей його захисної дії за умов гострої холодової травм, статеві особливості відповіді організму на його фригопротекторну дію є маловивченими.

*Мета дослідження* – експериментально встановити особливості виживання самців і самок мишей за екстремально низьких температур та оцінити статеву детермінацію захисної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострого загального охолодження (ГЗО).

**Матеріали та методи.** Робота виконується в рамках планових НДР Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України: «Пошук та вивчення біологічно активних речовин серед природних сполук та продуктів хімічного синтезу» (№ держреєстрації 0118U001903 (2018–2022)).

Експерименти проведено на 86 статевозрілих мишах обох статей, масою 23–25 г, які були отримані з віварію ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України». Дослідження проводили весною в першій половині дня. Усі етапи досліджень схвалені комісією з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова (протокол від 02.12.2022 № 10) і виконані згідно з міжнародними вимогами про гуманне поводження з тваринами, дотримуючись правил «Європейської кон-

венції щодо захисту хребетних тварин, яких використовують з експериментальною та іншою науковою метою». Під час експериментів тварин утримували в стандартних умовах (12-год режим день/ніч і вільний доступ до води та їжі) і на раціоні віварію Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова згідно з передбаченими нормами.

Відповідно до мети експериментальні тварини були поділені наступним чином: 1 група – самці та самки мишей без змін гормонального статусу, яким було відтворено ГЗО (контроль); 2 група – самці та самки мишей, яким була виконана гонадектомія (тестектомія або оваріектомія відповідно), а через 21 добу – ГЗО; 3 група – статевозрілі тварини обох статей, яким за 60 хв до моделювання ГЗО одноразово внутрішньошлунково (в/ш) вводили глюкозаміну гідрохлорид (50 мг/кг) (Sigma, USA); 4 група – кастровані тварини обох статей, яким профілактично вводили глюкозаміну гідрохлорид у вищезначеному режимі. Контрольні самки та самці мишей замість досліджуваної речовини отримували відповідну кількість розчинника.

Експериментальну модуляцію вмісту статевих гормонів в організмі мишей виконували за допомогою кастрації тварин (оваріектомія та тестектомія самкам і самцям відповідно) під каліпсоловим наркозом (10 мг/кг) хірургічним методом через серединний розтин передньої черевної стінки згідно з загальноприйнятими методиками. Дослідження проводили через 21 день після кастрації. У цій серії дослідів глюкозаміну гідрохлорид вводили в/ш статевозрілим мишам протягом 7 днів. Уміст естрадіолу та тестостерону в гепариновій плазмі крові тварин визначали імуноферментним методом зі стандартними

наборами DRG Estradiol Elisa фірми DRG (USA) та DSLActive Testosterone фірми DSL (USA) відповідно до інструкцій фірм-виробників.

Моделювання гострої холодової травми проводили відповідно до методичних рекомендацій «Холодова травма: доклінічне вивчення лікарських препаратів з фригопротекторними властивостями» [22]. Самців і самок мишей у пластикових прозорих боксах розміром 10 × 15 × 20 см, які не обмежували доступ до повітря та рухливість тварин, вміщували до холодильної камери при – 18 °С і проводили відеореєстрацію поведінки та виживання тварин. Реєстрували кількість загиблих мишей і час загибелі в кожній групі. Статистичну обробку проводили в програмі «STATISTICA 6.0» за допомогою стандартних методів біометрії. Вірогідними вважали відмінності за  $p < 0,05$ .

**Результати та їх обговорення.** Отримані дані продемонстрували наявність виражених статевих відмінностей чутливості організму тва-

рин різної статі до дії екстремально низьких температур. Самки мишей виявились більш витривалими, ніж самці (табл. 1). Так, показано, що за умов експериментального ГЗО тривалість життя самок переважала такий показник тварин протилежної статі на 38,1 % ( $p < 0,05$ ). В умовах охолодження тварини жіночої статі були більш активними, швидко рухались, більш тривало зберігали свідомість. Натомість самці мишей були малорухливими, млявими, їхня загибель наставала швидше.

Попереднє введення глюкозаміну гідрохлориду збільшувало тривалість життя тварин обох статей, однак його дія була неоднаковою щодо самців і самок мишей: показник тривалості життя в умовах ГЗО у самців статистично вірогідно збільшувався на 38,6 %, тоді як у самок – лише близько 10 % порівняно з тваринами з групи «ГЗО без корекції». Водночас ступінь виразності статевого диморфізму зменшилась у 2,6 разу, і хоча тривалість життя самок була дещо

Таблиця 1

*Тривалість життя самців і самок мишей за моделювання гострого загального охолодження та введення глюкозаміну гідрохлориду ( $M \pm m, n = 7$ )*

Експериментальна група	Самці		Самки	
	Тривалість життя, хв	Відсоток змін до показника контролю	Тривалість життя, хв	Відсоток змін до показника контролю
<i>Гостре загальне охолодження без корекції</i>				
Статевозрілі тварини (контроль)	46,17 ± 0,95	–	63,76 ± 2,97*	–
Кастровані тварини (контроль)	58,86 ± 2,88#	+ 27,5	57,10 ± 2,41#	– 10,45
<i>Гостре загальне охолодження + глюкозаміну гідрохлорид, 50 мг/кг</i>				
Статевозрілі тварини	63,98 ± 2,05#	+ 38,6	70,0 ± 2,56	+ 9,78
Кастровані тварини	71,89 ± 3,70#,* <sup>£</sup>	+ 22,12	73,96 ± 3,86#,* <sup>£</sup>	+ 29,53

Примітка. \*Відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) між самцями і самками,

#відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем у тварин відповідної статі,

£відмінності статистично значущі ( $p < 0,05$ ) порівняно з контролем у кастрованих тварин відповідної статі (без корекції).

більшою за самців, ця різниця не сягала статистично вірогідних значень. Ці результати співставляються з даними, згідно з якими саме тварини жіночої статі виявились більш витривалими в умовах впливу низьких температур [23].

На нашу думку, статеві відмінності відповіді організму на вплив низьких температур є наслідком дії статевих гормонів. Для перевірки цього припущення на наступному етапі порівняли зміни тривалості життя за експериментального ГЗО у тварин, яким було проведено оваріектомію та тастектомію (табл. 1). Встановлено, що кастрація самців сприяла більшій витривалості за даних умов експерименту: час життя вірогідно подовжувався на 27,5 %, натомість у самок цей показник – навпаки, зменшувався (на 10,45 %) порівняно з некастрованими тваринами. Статеві відмінності виживання за ГЗО у кастрованих тварин нівелювались: середні показники тривалості життя самців і самок мишей були практично однаковими.

Профілактичне введення глюкозаміну гідрохлориду практично в рівній мірі подовжувало витривалість щодо екстремально низьких температур у кастрованих тварин: у самців показник тривалості життя подовжувався на 22,12 %, у самок – на 29,53 %. Відмінності абсолютного показника за цих умов експерименту між самця-

ми та самками не перевершували значень статистичної похибки.

Отримані результати свідчать про те, що витривалість організму до дії холоду значною мірою залежить від впливу статевих гормонів. Естрадіол захищає організм самок від обмороження, тоді як тестостерон таких властивостей не має. Відповідно до результатів, наведених у таблиці 2, гонадектомія в самок викликала різке зниження вмісту естрадіолу (у 9,06 разу), що супроводжувалось зменшенням тривалості життя за ГЗО, тоді як гонадектомія в самців, яка викликала падіння вмісту тестостерону в 15,2 разу, навпаки, асоціювалась зі збільшенням тривалості життя в умовах експерименту.

Введення глюкозаміну гідрохлориду не сприяє суттєвим коливанням умісту гонадальних гормонів ні у самців, ні у самок. Так, після його 7-денного введення самкам рівень естрадіолу в сироватці крові зростає невірогідно (на 8,96 %) відносно контрольних тварин. Введення цього препарату самцям практично не змінювало рівень тестостерону (табл. 2).

Отримані дані демонструють, що тип і рівень насиченості організму мишей статевими гормонами створюють певний метаболічний фон, на якому реалізуються статеві відмінності чутливості організму на екстремально низькі температури. Так,

Таблиця 2

*Уміст статевих гормонів у плазмі крові самців і самок мишей ( $M \pm m$ ,  $n = 5$ )*

Група тварин	Самці	Самки
	Тестостерон, нмоль/л	Естрадіол, нмоль/л
1. Статевозрілі тварини (контроль)	9,75 ± 0,84	0,145 ± 0,015
2. Кастровані тварини	0,640 ± 0,042*	0,016 ± 0,002*
3. Статевозрілі тварини + глюкозаміну гідрохлорид	9,64 ± 0,77	0,158 ± 0,014

Примітка. \* $p < 0,05$  порівняно з показниками контролю.

естрогени мають потужні антиоксидантні та ендотеліопротекторні властивості. Статеві гормони контролюють також продукцію вазоактивних молекул (ейкозаноїдів, оксиду азоту, ангіотензину, активних форм кисню та інших), оскільки експресія циклооксигенази-2, синтази оксиду азоту, НАДФН-оксидази є секс-специфічною [24]. Зокрема, естрогени посилюють продукцію вазодилаторних чинників й ослаблюють утворення вазоконстрикторних молекул, а тестостерон діє протилежним чином. Такі позитивні властивості естрогенів співставляються з патогенезом холодової травми, що й зумовлює більшу стійкість жіночого організму до дії холоду. Наразі чітко визначених даних з цього приводу практично нема, хоча в деяких роботах відзначається захисна дія естрогенів за умов штучного охолодження при трансплантації [25].

Глюкозамін характеризується широким спектром захисних властивостей, що доведені як в експериментальних, так і в клінічних умовах: протизапальні, аналгетичні, мембраностабілізуючі, гепато-, нефро-, кардіо-, гастро-, гравідо-, хондропротекторні, противиразкові, антиоксидантні, фригопротекторні властивості тощо [26]. Механізми дії цієї сполуки також вивчені досить ґрунтовно. Серед них особливо виділяють його антиоксидантну, протизапальну дію, мембраностабілізуючу, антигіпоксичну, антиішемічну, анаболічну актив-

ність, здатність стимулювати фіброгенез. Саме ці механізми залучені до його фригопротекторних властивостей як у самців, так і у самок піддослідних тварин. З'ясування питання щодо підвищеної чутливості самців тварин до захисної дії глюкозаміну за умов ГЗО потребує подальших поглиблених досліджень.

## Висновки

Таким чином, проведене дослідження продемонструвало наявність статевих відмінностей чутливості організму особин різної статі до дії низьких температур. Самки мишей виявились витривалішими за умов експерименту, ніж самці. Провідна роль у цьому належить статевим гормонам, оскільки тестектомія збільшувала, а овариєктомія – навпаки, зменшувала тривалість життя за умов ГЗО. Глюкозаміну гідрохлорид проявляв фригопротекторні властивості в тварин обох статей, однак його захисна дія була більш виразною в самців. На тлі дії глюкозаміну гідрохлориду статеві відмінності виживання тварин за ГЗО нівелювались.

Отримані результати зумовлюють необхідність подальших поглиблених досліджень механізмів статевого диморфізму за холодової травми, а також детермінованих статтю особливостей відповіді організму на захисну дію глюкозаміну гідрохлориду, що дозволить проводити ефективну та якісну персоналізовану фармакотерапію холодової травми.

1. A review of sex-related differences in colorectal cancer incidence, screening uptake, routes to diagnosis, cancer stage and survival in the UK. BMC. A. White, L. Ironmonger, R. J. C. Steele et al. *Cancer*. 2018. V. 18 (1). P. 906.
2. Sex differences in the clinical profile among patients with gout: cross-sectional analyses of an observational study. R. Te Kampe, M. Janssen, C. van Durme et al. *J. Rheumatol*. 2021. V. 48 (2). P. 286–292.
3. Stapelfeld C., Dammann C., Maser E. Sex-specificity in lung cancer risk. *Int. J. Cancer*. 2020. V. 146 (9). P. 2376–2382.
4. Sex-based differences in hearing loss: perspectives from non-clinical research to clinical outcomes. D. F. Villavisanis, E. R. Berson, A. M. Lauer et al. *Otol. Neurotol*. 2020. V. 41 (3). P. 290–298.
5. Sex differences in solid pseudopapillary neoplasm of the pancreas: a population-based study. J. Wu, Y. Mao, Y. Jiang et al. *Cancer Med*. 2020. V. 9 (16). P. 6030–6041.

6. LeGates T. A., Kvarta M. D., Thompson S. M. Sex differences in antidepressant efficacy. *Neuropsychopharmacology*. 2019. V. 44 (1). P. 140–154.
7. Sex differences in systemic lupus erythematosus: epidemiology, clinical considerations, and disease pathogenesis. J. S. Nusbaum, I. Mirza, J. Shum et al. *Mayo Clin. Proc.* 2020. V. 95 (2). P. 384–394.
8. Davis W. M., Pharm B. S. Impact of gender on drug responses. *Drug topics*. 1998. P. 91–101.
9. Cocco G., Chu D. The anti-ischemic effect of metoprolol in patients with chronic angina pectoris is gender-specific. *Cardiology*. 2006. V. 106 (3). P. 147–153.
10. Sevy S., Sher L., Aust N. Z. Gender differences in the dosing of antipsychotic medications. *J. Psychiatry*. 2016. V. 50 (2). P. 185–186.
11. Gorman J. M. Gender differences in depression and response to psychotropic medication. *Gen. Med.* 2006. V. 3 (2). P. 93–109.
12. Wang R. H., Bejar C., Weinstock M. Gender differences in the effect of rivastigmine on brain cholinesterase activity and cognitive function in rats. *Neuropharmacology*. 2000. V. 39 (3). P. 497–506.
13. Shakirov B. M. Frostbite injuries and our experience treatment in the Samarkand area Uzbekistan. *Int. J. Burns Trauma*. 2020. V. 10 (4). P. 56–161.
14. Бондарев Є. В. Експериментальне обґрунтування оптимізації профілактики та лікування холодової травми засобами метаболітоутворюючої та протизапальної дії: дис. докт. фарм. наук. Національний фармацевтичний університет. Харків, 2020.
15. Nygaard R. M., Wendorf F. Frostbite vs burns: increased cost of care and use of hospital resources. *J. Burn Care Res.* 2018. V. 39 (5). P. 676–679.
16. Sex and gender differences in travel-associated disease. P. Schlagenhauf, L. H. Chen, M. E. Wilson et al. *Clin. Infect. Dis.* 2010. V. 50 (6). P. 826–832.
17. Koutsavlis A. T., Kosatsky T. Environmental-temperature injury in a Canadian metropolis. *J. Environ. Health*. 2003. V. 66 (5). P. 40–45.
18. Epidemiology of U.S. army cold weather injuries, 1980–1999. D. W. DeGroot, J. W. Castellani, J. O. Williams, P. J. Amoroso. *Aviat. Space Environ. Med.* 2003. V. 74 (5). P. 564–570.
19. Nagarajan S. Update: Cold weather injuries, active and reserve components, U.S. Armed Forces, July 2010-June 2015. *MSMR*. 2018. V. 22 (10). P. 7–12.
20. Neurovascular hand symptoms in relation to cold exposure in northern Sweden: a population based study. A. Stjernbrandt, B. Björ, M. Andersson et al. *Int. Arch. Occup. Environ. Health*. 2017. Published online: 11 April 2017.
21. Бондарев Є. В., Штриголь С. Ю. Фригопротектори. Фармацевтична енциклопедія. 3-тє видання, доповнене. Київ : МОПІОН, 2016. С. 1816–1817.
22. Холодова травма: доклінічне вивчення лікарських препаратів з фригопротекторними властивостями: метод. рекомендації. Є. В. Бондарев та ін. Харків : НФаУ, 2018.
23. Бондарев Є. В. Статеві відмінності чутливості мишей до гострого охолодження. *Фармаком*. 2011. № 1/2. С. 79–81.
24. Miyataka M., Rich K. A., Ingram M. Nitric oxide, anti-inflammatory drugs on renal prostaglandins and cyclooxygenase-2. *Hypertension*. 2002. V. 39 (3). P. 785–789.
25. 17 $\beta$ -Estradiol protects the liver against cold ischemia/reperfusion injury through the Akt kinase pathway. X. Yang, L. Qin, J. Liu et al. *Journal of surgical research*. 2012. V. 178 (2). P. 996–1002.
26. Компендіум 2019 – лікарські препарати. В. М. Коваленко (ред.). Київ : МОПІОН, 2019.

**Н. І. Волощук, А. В. Юхимчук**

### **Статеві особливості виживання тварин за гострої холодової травми та корекції глюкозаміну гідрохлоридом**

Важливою проблемою сьогодення є холодова травма. Наразі вона стосується військових, спортсменів, туристів та ін. Роль статевих чинників у стійкості організму до дії холоду практично не вивчена. У лікуванні холодової травми використовують широке коло препаратів, серед яких найвиразнішу фригопротекторну дію виявив глюкозаміну гідрохлорид.

*Мета дослідження* – експериментально встановити особливості виживання самців і самок мишей за екстремально низьких температур та оцінити статеву детермінацію захисної дії глюкозаміну гідрохлориду за умов гострого загального охолодження (ГЗО).

Досліди проведено на білих нелінійних статевозрілих і кастрованих мишах. Експериментальне ГЗО моделювали в холодильній камері при  $-18^{\circ}\text{C}$ . Глюкозаміну гідрохлорид вводили інтрагастрально в дозі 50 мг/кг за 60 хв до ГЗО. Визначали тривалість життя тварин. Статистичну обробку проводили в програмі «STATISTICA 6.0» за допомогою стандартних методів біометрії. Вірогідними вважали відмінності за  $p < 0,05$ .

Результати показали, що самки мишей є більш стійкими до ГЗО, оскільки середній час життя був на 38,1 % більшим, ніж у самців. Провідна роль у проявах статевого диморфізму належить гонадальним гормонам, оскільки кастрація збільшувала тривалість життя самців і зменшувала таку в самок. Попереднє введення глюкозаміну гідрохлориду подовжувало термін виживання за ГЗО в більшій мірі

---

---

в самців, ніж у самок, нівелюючи статеві відмінності середнього показника тривалості життя тварин. Вплив цієї сполуки на кастрованих мишей виявився практично однаковим.

Таким чином, виявлено статеві відмінності стійкості організму тварин до дії гострої холодової травми, які можуть бути наслідком впливу гонадальних гормонів. Глюкозаміну гідрохлорид проявляє захисну дію в мишей обох статей, однак більшою мірою в самців, при цьому статева різниця показника виживання нівелюється. Підвищена чутливість до захисної дії глюкозаміну за умов ГЗО у самців тварин потребує подальших поглиблених досліджень.

*Ключові слова: виживання, гостра холодова травма, статеві відмінності, глюкозаміну гідрохлорид, миші*

**N. I. Voloshchuk, A. V. Yuhimchuk**

### **Sex peculiarities of survival of animals with acute cold injury and correction with glucosamine hydrochloride**

Cold injury is an important problem today. It currently affects the military, athletes, tourists, etc. The role of sexual factors in the body's resistance to cold is virtually unexplored. A wide range of drugs is used in the treatment of cold injury, among which glucosamine hydrochloride has shown the most pronounced frigoprotective effect.

*The aim of the study* – to determine experimentally the survival characteristics of male and female mice at extremely low temperatures and to assess the sex determination of the protective effect of glucosamine hydrochloride under conditions of acute general cooling (AGC).

The experiments were performed on white nonlinear sexually mature and castrated mice. Experimental AGC was modelled in a refrigerator at  $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ . Glucosamine hydrochloride was administered intragastrically at a dose of 50 mg/kg 60 minutes before the AGC. The life expectancy of animals was determined. Statistical processing was performed in the software «STATISTICA 6.0» using standard biometric methods. Differences at  $p < 0.05$  were considered significant.

The results showed that female mice are more resistant to AGC, as the average life span was 38.1% longer than that of males. The leading role in the manifestations of sex differences belongs to gonadal hormones, since castration increased the life expectancy of males and decreased it in females. Pretreatment with glucosamine hydrochloride prolonged the survival under the AGC to a greater extent in males than in females, levelling out sex differences in the average life expectancy of animals. The effect of this compound on castrated mice was almost the same.

In conclusion, sex differences in the resistance of animals to acute cold injury, which may be due to the influence of gonadal hormones, have been revealed. Glucosamine hydrochloride has a protective effect in mice of both sexes, but to a greater extent in males, with the sex difference in survival being levelled. The increased sensitivity to the protective effect of glucosamine under conditions of AGC in male animals requires further in-depth studies.

*Key words: acute cold injury, survival, sex differences, glucosamine hydrochloride, mice*

**ORCID ID авторів:**

Волощук Н. І. (ORCID ID 0000-0002-0166-9676).

---

Надійшла: 17 липня 2023 р.

Прийнята до друку: 23 серпня 2023 р.

**Контактна особа:** Волощук Наталія Іванівна, доктор медичних наук, професор, кафедра фармакології, Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова, буд. 56, вул. Пирогова, м. Вінниця, 21018. Тел.: + 38 0 67 307 71 34.  
Електронна пошта: voloshchuknatali@gmail.com