

УДК 615.21/26.015.44:616.61

Н. Д. Філіпець<sup>1</sup>, В. М. Сірман, А. І. Гоженко<sup>1</sup> Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці<sup>2</sup> ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту», м. Одеса

## ПОРІВНЯЛЬНИЙ АНАЛІЗ ТУБУЛОПРОТЕКТИВНИХ ВПЛИВІВ ПРЕДСТАВНИКІВ РІЗНИХ КЛАСІВ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ ХРОНІЗАЦІЇ ТОКСИЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

*В експериментах на лабораторних білих щурах досліджені зміни показників функцій нирок за умов 5 % водного індукованого діурезу після внутрішньошлункового введення суспензії флокаліну та дилтіазему (по 5 мг/кг, впродовж 7 днів) з 30-ї доби розвитку сулемової нефропатії (5 мг/кг, підшкірно, одноразово). Показано, що під впливом активатора аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліну підвищувалась екскреція креатиніну, зменшувався натрійурез, збільшувалась проксимальна реабсорбція іонів натрію. Після введення блокатора кальцієвих каналів дилтіазему підвищувався діурез, знижувалась швидкість клубочкової фільтрації, зменшувались відносна реабсорбція води та іонів натрію, знижувався проксимальний транспорт іонів натрію. Співставлення показників функцій нирок після застосування модуляторів іонних каналів дозволяє припустити, що тубулопротективний компонент є важливим патогенетичним механізмом захисних впливів активатора  $K_{ATP}$  каналів за умов хронізації сулемової нефропатії.*

**Ключові слова:** модулятори іонних каналів; флокалін; дилтіазем; токсична нефропатія

### ВСТУП

Особливості ренальної гемодинаміки, а також участь багатьох локальних ферментативно-транспортних систем у процесах елімінації ксенобіотиків та/чи їх метаболітів зумовлюють найбільшу вразливість нирок при дії нефротоксичних агентів. Порушення стосуються переважно проксимального відділу нефрону, де відбуваються основні процеси реабсорбції профільтрованих клубочками токсичних речовин, білків, більшої частини води, електролітів тощо. Первинне uszkodження епітелію проксимальних каналців з подальшим розповсюдженням тубуло-інтерстиційної дезінтеграції на кіркову, мозкову речовину і сосочки нирки є головною ланкою хронізації нефропатій зі зниженням концентраційної здатності нирок [2]. Прямий зв'язок між ступенем дисфункції каналцевого апарату та швидкістю прогресування ниркової патології обґрунтовує пошук лікарських засобів з тубулярним компонентом нефропротективної дії. В аспекті медикаментозного захисту нирок становлять інтерес фармакологічні модулятори іонної проникності клітинних мембран. Передумовою раціонального застосування у нефрології класів активаторів калієвих і блокаторів кальцієвих каналів (БКК) є взаємозалежна участь обох ти-

пів каналів у механізмах ендogenous захисту при гіпоксії та ішемії тканин. У результаті наших попередніх експериментальних досліджень було встановлено, що активатор аденозинтрифосфатзалежних калієвих ( $K_{ATP}$ ) каналів флокалін і БКК дилтіазем чинять неоднозначні ренопротективні впливи на початкових стадіях розвитку експериментальної ниркової недостатності [4, 9]. Метою даної роботи було порівняльне вивчення змін показників діяльності нирок з оцінкою функціонального стану каналцевого відділу нефрону після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації нефропатії токсичного генезу з переважним тубулярним ураженням.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ

Експерименти проводили на 24 лабораторних нелінійних білих щурах масою 0,15-0,17 кг, яких утримували на гіпонатрієвому раціоні харчування з вільним доступом до водогінної відстояної води. Токсичне uszkodження нирок моделювали разовим підшкірним введенням 0,1 % розчину сулеми в дозі 5 мг/кг. На 30-ту добу сулемової нефропатії розпочинали внутрішньошлункове введення суспензії флокаліну (5 мг/кг) та дилтіазему (Sanofi, Франція, 5 мг/кг) на 1 % крохмальному слизу в об'ємі 5 мл/кг. Контрольній групі (щури з сулемовою нефропатією) вводили аналогічну кількість розчинника. Через 30 хв після

останнього введення (7 днів) здійснювали 5 % водне навантаження і вміщували щурів до обмінних кліток на дві години для збору сечі. Евтаназію виконували відповідно до вимог Європейської конвенції із захисту експериментальних тварин (86/609/ЄЕС). У сечі та в плазмі крові визначали концентрацію іонів натрію та калію фотометричним методом. Концентрацію креатиніну в сечі – за методом Фоліна, в плазмі крові – за методом Паппера [1]. Білок у сечі визначали за реакцією з сульфосаліциловою кислотою [6]. Показники функцій нирок розраховували за формулами [7]. Статистичний аналіз проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statgrafics» з використанням t-критерію Стюдента.

### РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Після введення впродовж семи днів флокаліну у щурів із сулемовою нефропатією сечовиділення знижувалося на 43,6 % ( $p < 0,01$ ). Показник швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) суттєво не відрізнявся від значення у нелікованих щурів. За умов незмінного об'єму фільтрації діурез зменшувався внаслідок збільшення проникності канальцевої стінки для води. Відносна реабсорбція води зростала на 5,3 % ( $p < 0,001$ ), на 43,5 % ( $p < 0,01$ ) зменшувався кліренс вільної від іонів натрію води. Екскреторна функція нирок під впливом флокаліну характеризувалась підвищенням на 73,4 % ( $p < 0,001$ ) концентраційного індексу та на 11,7 % ( $p = 0,05$ ) екскреції ендogenous креатиніну. Активація  $K_{ATP}$  каналів клітинних мембран віддзеркалювалась посиленням секреторної здатності епітеліоцитів ниркових канальців. Швидше за все за рахунок збільшення секреції креатиніну в проксимальному відділі нефрону його концентрація в сечі зростала на 103,9 % ( $p < 0,001$ ), а рівень креатинінурії підвищувався.

Оцінка показників іонорегулювальної функції нирок показала, що застосування активатора калієвих каналів (АКК) з 30-ї доби після введення сулеми призводило до зниження на 68,4 % ( $p < 0,05$ ) концентрації іонів натрію в сечі та зменшення у 4,5 рази концентраційного індексу катіону. Натрійурез зменшувався на 82,1 % ( $p < 0,05$ ), відповідно знижувалась екскреторна фракція катіону, кліренс іонів натрію зменшувався на 85,3 % ( $p < 0,05$ ). Збереження іонів натрію було результатом збалансованого впливу флокаліну на процеси канальцевої реабсорбції. Проксимальний транспорт іонів натрію зростав на 17,3 % ( $p < 0,05$ ), реабсорбція катіону в дистальному відділі нефрону зменшувалась на 33,3 % ( $p < 0,05$ ). Аналіз стандартизованих за об'ємом клубочкового фільтрату (КФ) показників трансканальцевого переносу іонів натрію також засвідчив зростання на 22,7 % ( $p < 0,01$ ) проксимальної та зниження на 33,6 % ( $p < 0,01$ ) дистальної реабсорбції електроліту.

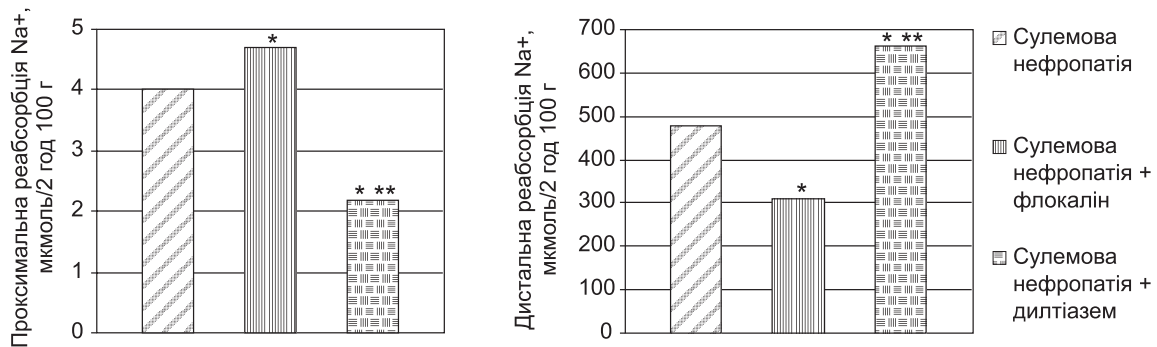
Вплив дилтіазему характеризувався збільшенням сечовиділення на 19,7 % ( $p < 0,01$ ) у щурів з су-

лемовим ушкодженням нирок. Зниження на 45,5 % ( $p < 0,01$ ) ШКФ виключало провідну участь клубочкового фактора у діуретичному ефекті дилтіазему. Відносна канальцева реабсорбція води зменшувалась на 15,1 % ( $p < 0,01$ ), виділення осмотично вільної води знижувалося на 20,1 % ( $p < 0,01$ ). Спостерігалось зменшення концентрації креатиніну в сечі як у порівнянні з нелікованими щурами на 22,3 % ( $p < 0,05$ ), так і порівняно зі щурами, яким вводили флокалін, на 61,9 % ( $p_1 < 0,001$ ). Показник екскреції креатиніну не відрізнявся від контрольного значення, однак був на 16 % ( $p < 0,05$ ) нижче, ніж після застосування активатора  $K_{ATP}$  каналів.

Після введення дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією на 35,8 % ( $p < 0,01$ ) зменшувалась фільтраційна загрузка іонами натрію, концентрація електроліту в сечі та натрійурез достовірно не відрізнялись від вихідних значень, екскреторна фракція іонів натрію знижувалась на 9,1 % ( $p < 0,05$ ). Зіставлення показників тубулярного транспорту основного осмоактивного катіону між групами з досліджуваними сполуками демонструвало натрійуретичну активність дилтіазему. Порівняно з дією флокаліну фільтраційна загрузка іонами натрію зменшувалась на 42,7 % ( $p_1 < 0,01$ ). Однак концентрація катіону в сечі збільшувалась на 134,3 % ( $p_1 < 0,001$ ), концентраційний індекс іонів натрію зростав у 2,5 рази ( $p_1 < 0,01$ ), кліренс іонів натрію та натрійурез були вище у 5 разів ( $p_1 < 0,001$ ). У відповідності до динаміки змін фільтраційного заряду падав рівень абсолютної реабсорбції іонів натрію та суттєво знижувалась відносна реабсорбція.

Подальші дослідження канальцевих процесів показали, що під впливом дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією зменшувалась проксимальна реабсорбція на 45 % ( $p < 0,01$ ) та на 164,8 % ( $p < 0,01$ ) збільшувалась дистальна реабсорбція іонів натрію. При порівнянні значень з показниками в групі лікованих флокаліном щурів (рис.) було виявлено, що проксимальний транспорт зменшувався на 53,2 % ( $p_1 < 0,001$ ), дистальний транспорт зростав на 114,3 % ( $p_1 < 0,001$ ). Аналогічна тенденція зберігалась при перерахунку показників на 100 мкл КФ. Стандартизоване значення екскреції іонів натрію було в 9,6 рази ( $p_1 < 0,001$ ) більше, а проксимальної канальцевої реабсорбції – на 18,7 % ( $p_1 < 0,01$ ) менше, ніж у щурів, яким вводили флокалін. Дистальна реабсорбція іонів натрію збільшувалась як у порівнянні з вихідними даними на 264,8 % ( $p < 0,01$ ), так і з показником після введення флокаліну – на 298,8 % ( $p_1 < 0,001$ ).

Аналіз результатів досліджень засвідчив нерівнозначні реакції функцій нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії. Найбільш вірогідним механізмом ренальної дії флокаліну є виражені зміни тубулярних процесів. Одна з причин таких зрушень – значне пригнічення реабсорбції іонів натрію, що пов'язане з бло-



**Рис.** Вплив флокаліну та дилтіазему (по 5 мг/кг, 7 днів) на каналцеву реабсорбцію іонів натрію за умов хронізації сулемової нефропатії.

Примітка: \* – достовірність різниць порівняно з сулемовою нефропатією, \*\* – достовірність різниць між групами пролікованих щурів ( $p < 0,05$ ).

кадою сулемою енергетичного забезпечення транспорту іонів натрію в проксимальних каналцях. Відкриття  $K_{ATP}$  каналів забезпечувало окиснювальний метаболізм у нирковому епітелії, потреби енергії та кисню, підвищувало витривалість ниркової тканини до гіпоксії. Не виключено, що в тубулопротективному ефекті флокаліну певну роль відігравали зміни гемодинаміки, які були спричинені притаманною всім АКК і особливо вираженою у фторовмісних представників вазодилатацією [8]. Відновлення реабсорбції іонів натрію у проксимальному відділі нефрону відбивалось на каналцево-каналцевих взаємозв'язках зниженням дистальної натрієвої реабсорбції, але, перш за все, забезпечувало позитивний натрієвий баланс. Підтверджували тубулопротективні впливи флокаліну стандартизовані показники транслюбарного транспорту іонів натрію. Підвищення розрахованого за КФ показника проксимальної реабсорбції іонів натрію свідчить про збільшення функціонально активних нефронів, за рахунок яких активізувалась екскреторна функція нирок після введення активатора  $K_{ATP}$  каналів. Варто відзначити, що момент експериментального дослідження відповідав пізньому періоду поліурічної стадії розвитку сулемової нефропатії та формуванню тубуло-інтерстиційного синдрому. Стимування ШКФ можна вважати захисною реакцією флокаліну на компенсаторну гіперфільтрацію у функціонуючих нефронах, яка одночасно є провідним механізмом прогресування токсичних нефропатій з розвитком ниркової недостатності.

Цитопротективний ефект є однією з додаткових особливостей клінічної ефективності групи БКК. Зменшення кальцієвого току через потенціалзалежні канали протидіє звуженню судин, чинить суттєвий захисний вплив при виснаженні АТФ-залежного видалення іонів кальцію з ушкоджених клітин. Однак результати наших досліджень демонстрували зниження процесів фільтрації та проксимальної реабсорбції, зменшення кліренсу ендогенного креатиніну під впливом дилтіазему. Можливо, що за умов індукованих сулемою структурно-функціональних порушень

після введення дилтіазему активувався пасивний вхід іонів кальцію та/чи вихід катіону з внутрішньоклітинних депо. У зв'язку з цим не реалізовувались притаманні БКК нефропротективні ефекти [10-12]. Факт значного падіння ШКФ і зменшення фільтраційного заряду іонів натрію свідчили про меншу здатність дилтіазему порівняно з флокаліном підтримувати за даних умов один із ниркових механізмів регуляції гомеостазу – функціональний нирковий резерв [3]. У той же час зменшення ШКФ могло бути відповіддю на послаблення ефективності проксимальної реабсорбції іонів натрію та води [7]. Швидше за все сечовидільна реакція на пізньому поліурічному періоді сулемової нефропатії була не результатом активації волюморегулювальної функції нирок, а наслідком зниження реабсорбції еквівалентної кількості осмотично активних електролітів. Пригнічення проксимальної реабсорбції іонів натрію виключало можливість втручання дилтіазему в механізми вторинно-ішемічного ушкодження ангіотензином II проксимального відділу нефрону. Разом з тим зменшення екскреторної фракції іонів натрію та суттєве підвищення дистальної реабсорбції електроліту свідчили про збереженість збалансованості каналцево-каналцевих процесів.

## ВИСНОВКИ

1. Після введення активатора  $K_{ATP}$  каналів флокаліну впродовж 7 днів білим щурам з моделлю хронізації сулемової нефропатії підвищувалась екскреція та концентраційний індекс креатиніну, зменшувався натрійурез, збільшувалась проксимальна реабсорбція іонів натрію.
2. У порівнянні з флокаліном під впливом блокатора кальцієвих каналів дилтіазему пригнічувались каналцеві процеси в проксимальному відділі нефрону, що спричиняло втрати води та іонів натрію нирками.
3. Зіставлення показників функцій нирок після застосування модуляторів іонних каналів флокаліну та дилтіазему дозволяє припустити, що ту-

булопротективний компонент є важливим патогенетичним механізмом захисних впливів активатора  $K_{ATP}$  каналів за умов хронізації сулемової нефропатії.

**ПЕРЕЛІК ВИКОРИСТАНИХ  
ДЖЕРЕЛ ІНФОРМАЦІЇ**

1. Берхин Е. Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е. Б. Берхин, Ю. И. Иванов. – Барнаул, 1972. – 199 с.
2. Гоженко А. И. Патогенез токсических нефропатий / А. И. Гоженко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2006. – Т. 4, № 2. – С. 9-15.
3. Гоженко А. И. Функциональный почечный резерв в физиологии и патологии почек / А. И. Гоженко, Е. А. Гоженко // Буковинський мед. вісник. – 2012. – № 3, ч. 2. – С. 18-25.
4. Гоженко А. И. Нефротропные эффекты при активации аденозинтрифосфатчувствительных калиевых каналов в зависимости от функционального состояния почек крыс / А. И. Гоженко, Н. Д. Филипец // Нефрол. – 2013. – Т. 17, № 2. – С. 87-90.
5. Гоженко А. И. Влияние глутаргина и аргинина на течение индуцированной ифосфамидом экспериментальной почечной недостаточности у белых крыс / А. И. Гоженко, М. В. Трусова // Нефрол. – 2007. – Т. 11, № 3. – С. 82-85.
6. Михеева А. И. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56 / А. И. Михеева, И. А. Богодарова // Лабораторное дело. – 1969. – № 7. – С. 441-442.
7. Рябов С. И. Функциональная нефрология / С. И. Рябов, Ю. В. Наточин. – С.Пб.: Лань, 1997. – 304 с.
8. Струтинский Р. Б. Вазодилаторні ефекти флокаліну – фторовмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Р. Б. Струтинський // Фізіол. журн. – 2010. – Т. 56, № 4. – С. 59-65.
9. Филипец Н. Д. Сравнительное изучение нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении почек / Н. Д. Филипец, А. И. Гоженко // Эксперимент. и клин. фармакол. – 2014. – Т. 77, № 1. – С. 10-12.
10. Burnier M. Renal protection with calcium antagonists: the role of lercanidipine / M. Burnier // Current Med. Res. and Opinion. – 2013. – Vol. 29, № 12. – P. 1727-1735.
11. Mechanistic view of renal protective action of calcium channel blockade / [N. Sugano, K. Hayashi, T. Hosoya, T. Yokoo] // Current Hypertension Reviews. – 2014. – № 9 (3). – P. 187-192.
12. Sepehr-Ara L. Effect of the two new calcium channel blockers mebudipine and dibudipine on vascular flow of isolated kidney of normal and diabetic rats / L. Sepehr-Ara, S. A. Mohajeri, M. Mahmoudian // Pathophysiol. – 2011. – № 18 (3). – P. 175-181.

**УДК 615.21/.26.015.44:616.61****Н. Д. Филипец, В. М. Сирман, А. И. Гоженко****СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ТУБУЛОПРОТЕКТИВНЫХ ВЛИЯНИЙ ПРЕДСТАВИТЕЛЕЙ РАЗЛИЧНЫХ КЛАССОВ МОДУЛЯТОРОВ ИОННЫХ КАНАЛОВ В УСЛОВИЯХ ХРОНИЗАЦИИ ТОКСИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ**

В экспериментах на лабораторных белых крысах исследованы изменения показателей функций почек в условиях 5 % водного индуцированного диуреза после внутривентрикулярного введения суспензии флокалина и дилтиазема (по 5 мг/кг, 7 дней) с 30-х суток развития сулемовой нефропатии (5 мг/кг, подкожно, одноразово). Показано, что под влиянием активатора аденозинтрифосфатзависимых калиевых каналов флокалина повышалась экскреция креатинина, уменьшался натрийурез, увеличивалась проксимальная реабсорбция ионов натрия. После введения блокатора кальциевых каналов дилтиазема повышался диурез, уменьшалась скорость клубочковой фильтрации, снижалась относительная реабсорбция воды и ионов натрия, уменьшался проксимальный транспорт ионов натрия. Сопоставление показателей функций почек после применения модуляторов ионных каналов позволяет допустить, что тубулопротективный компонент является существенным патогенетическим механизмом защитных влияний активатора  $K_{ATP}$  каналов в условиях хронизации сулемовой нефропатии.

**Ключевые слова:** модуляторы ионных каналов; флокалин; дилтиазем; токсическая нефропатия

**UDC 615.21/.26.015.44:616.61****N. D. Filipets, V. M. Sirman, A. I. Gozhenko****A COMPARATIVE ANALYSIS OF TUBULOPROTECTIVE EFFECTS OF THE REPRESENTATIVES OF DIFFERENT CLASSES OF ION CHANNEL MODULATORS UNDER THE CONDITIONS OF CHRONIZATION OF TOXIC NEPHROPATHY**

In experiments on laboratory white rats we have studied the changes of renal functions under the conditions of 5 % water induced diuresis after intraventricular administration of flocalin and diltiazem suspension (5 mg/kg, 7 days) starting from 30<sup>th</sup> day of sublimate nephropathy (5 mg/kg, single subcutaneous injection). It has been shown that administration of adenosine triphosphate-sensitive potassium channels opener flocalin increased creatinine excretion, decreased natriuresis, and elevated proximal sodium reabsorption. The use of calcium channels blocker diltiazem has lead to increase of diuresis, decrease of filtration function as well as relative tubular water reabsorption, and absolute and relative sodium reabsorption. In comparison with flocalin diltiazem inhibited tubular processes in the proximal part of nephron, that caused water and sodium loss by kidneys. After the assessment of kidney functions after administration of ion channel modulators we may presume that tubuloprotective component is an important pathogenetic mechanism of protective effect of  $K_{ATP}$  channel activator flocalin under the conditions of chronization of sublimate nephropathy.

**Key words:** ion channel modulators; flocalin; diltiazem; toxic nephropathy

Адреса для листування:

58002, м. Чернівці, пл. Театральна, 2.

E-mail: natalya.dmi@gmail.com.

Буковинський державний медичний університет

Надійшла до редакції 04.06.2014 р.