

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА
«ІНСТИТУТ ФАРМАКОЛОГІЇ ТА ТОКСИКОЛОГІЇ НАМН УКРАЇНИ»

Філіпець Наталія Дмитрівна

УДК 616.61-03-085.25

**ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНЕ ВИВЧЕННЯ НЕФРОПРОТЕКТОРНОЇ ДІЇ
МОДУЛЯТОРІВ КАЛІЄВИХ І КАЛЬЦІЄВИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ
ГОСТРОГО І ХРОНІЧНОГО ПОШКОДЖЕННЯ НИРОК**

14.03.05 – фармакологія

Автореферат
дисертації на здобуття наукового ступеня
доктора медичних наук

Київ – 2016

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана на кафедрі фармакології Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України, м. Чернівці.

Науковий консультант: доктор медичних наук, професор,
заслужений діяч науки і техніки України
Гоженко Анатолій Іванович,
ДП «Український науково-дослідний інститут медицини
транспорту МОЗ України», м. Одеса, директор.

Офіційні опоненти: доктор медичних наук, професор
Посохова Катерина Андріївна,
Державний вищий навчальний заклад «Тернопільський
державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського
МОЗ України», м. Тернопіль, професор кафедри
фармакології з клінічною фармакологією;

доктор медичних наук, старший науковий співробітник
Борис Руслан Миколайович,
ПВНЗ «Київський медичний університет УАНМ»
МОЗ України, м. Київ, професор кафедри хірургічних
хвороб;

доктор медичних наук, професор
Багдасарова Інгретта Вартанівна,
ДУ «Інститут нефрології НАМН України», м. Київ,
завідувач відділу дитячої нефрології.

Захист відбудеться 29 червня 2016 року об 11.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01 при Державній установі «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою: 03680, м. Київ, вул. Е. Потьє, 14.

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут фармакології та токсикології НАМН України» за адресою: 03680, м. Київ, вул. Е. Потьє, 14.

Автореферат розісланий 27 травня 2016 р.

Вчений секретар
спеціалізованої вченої ради Д 26.550.01
кандидат біологічних наук



І.В. Данова

ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

Актуальність теми. Необхідність безперервного розвитку медикаментозної нефропротекції зумовлена зростанням в Україні і в усьому світі частоти виникнення загрозливого стану – гострого пошкодження нирок, частка якого серед усіх госпіталізованих пацієнтів становить 5-15%. За останні десять років летальність при гострому пошкодженні нирок у провідних клініках світу не знижується і зберігається на рівні 55-75%. Неухильно прогресуючий перебіг захворювання з поступовою втратою нефронів і розвитком хронічної хвороби нирок (ХХН) на термінальних стадіях потребує замісної ниркової терапії. На ХХН хворіє 10-12% дорослого населення, а серед людей віком понад 65 років на неї страждають близько 30%. Очікується, що кожні 7-10 років кількість хворих з ХХН збільшуватиметься вдвічі, а кількість пацієнтів, які лікуватимуться високозатратними методами замісної ниркової терапії, зростатиме щороку на 7% [Багдасарова І.В., 2015, Гоженко А.І., 2015, Іванов Д.Д., 2016, Колесник М.О. і співавт., 2015, Смирнов А.В. и соавт., 2015, Anand S. et al., 2015, Brück K. et al., 2015]. Отже, існує нагальна потреба в пригніченні темпів прогресування нефропатій до стадії ниркової недостатності термінального ступеня, що значною мірою реалізується розробкою та впровадженням нових засобів медикаментозної нефропротекції.

Серед існуючих ліків є ряд ефективних та безпечних препаратів, які впливають на механізми прогресування і протидіють розвитку ХХН. Відомості про результативність фармакотерапії нефрологічної патології переважно стосуються блокаторів ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС): інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту, блокаторів рецепторів ангіотензину II [Візір В.А. і співавт., 2015, Ермоленко В.М. и соавт., 2014], інгібіторів реніну [Quiroga B. et al., 2015, Zhou G. et al., 2015], антагоністів альдостеронових рецепторів [Ando K. et al., 2014, Lozano-Maneiro L. et al. 2015], а також блокаторів кальцієвих каналів, діуретиків, статинів, антиоксидантів [Зверев Я.Ф., Брюханов В.М., 2014, Зеленюк В.Г., 2015, Зуб Л.О., 2015, Tabur S. et al., 2015, Zeeuw D. et al., 2015]. Вказані фармакологічні класи включені до сьомого випуску Державного формуляра лікарських засобів, розділ «12.3. Нефрологія. Лікарські засоби» (наказ МОЗ України від 31.03.2015 №с183). Однак достатнє забезпечення вітчизняного фармацевтичного ринку засобами ренальної цитопротекції та усунення патогенетичних взаємозв'язків причина-наслідки-органи-мішені ще остаточно не вирішило проблему довготривалого функціонального збереження нирок. Про неослабний інтерес до нефропротекції свідчать сучасні наукові роботи щодо протекторно-регенераторних ефектів стовбурових клітин [Борис Р.М., 2013, Сирман В.М., 2015, Melville N.A., 2015, Ni W. et al., 2015], гломерулярних подоцитів [Pippin J.W. et al., 2014], пептидного комплексу нирок [Щудрова Т.С., 2015, Khavinson V.Kv. et al., 2015], захисних ренальних впливів ксенону [Гоженко А.І. і співавт., 2015], амінокислот [Котенко О.Н., Евстигнеева К.А., 2016, Shah A.P. et al., 2015], лікарських рослин [Штрыголь С.Ю. и соавт., 2014, Sun G. et al., 2016].

Одним з важливих механізмів медикаментозної органопротекції є активація (відкриття) аденозинтрифосфатзалежних калієвих (K_{ATP}) каналів клітинних мембран, функціональний стан яких залежить від внутрішньоклітинного вмісту

АТФ [Розова Е.В. и соавт., 2015, Crecelius A.R., Dinunno F.A., 2015, Szewczyk A. et al., 2015, Wang C. et al., 2015]. Активація K_{ATP} каналів є природним адаптаційно-компенсаторним механізмом за умов пригнічення енергетичного забезпечення життєво важливих процесів. Однак, незважаючи на здатність відтворювати біологічні захисні реакції, потенційну ефективність і безпечність, клінічна роль фармакологічного класу активаторів K_{ATP} каналів у нефропротекції остаточно не визначена. Тому заслуговує на увагу фторвмісний активатор K_{ATP} каналів флокалін, синтезований в Інституті органічної хімії НАН України, який завдяки ґрунтовним експериментальним дослідженням позиціонується як міотропний спазмолітик, коронародилататор і перспективний кардіопротектор [Мойбенко О.О. і співавт., 2014, Мохорт М.А., 2014, Серединська Н.М., 2014, Струтинський Р.Б. і співавт., 2014]. Зважаючи на кардіо-ренальний континуум, а також на відсутність наукових відомостей щодо впливу флокаліну на нирки, уточнення ролі K_{ATP} каналів у нефропротекції шляхом вивчення нефротропної дії флокаліну в порівнянні з нефропротекторними ефектами бензотіазепінового блокатора кальцієвих каналів дилтіазему, враховуючи спільні кальцій-опосередковані механізми, є актуальним для розробки нових напрямів превентивної терапії та лікування захворювань нирок.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконана в рамках науково-дослідної роботи центральної науково-дослідної лабораторії Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет МОЗ України», м. Чернівці, за темою: «Патогенетичне лікування дисфункції проксимального відділу нефрону та синдрому втрати іонів натрію з сечею, попередження розладів клубочково-канальцевого, канальцево-канальцевого балансу та тубуло-гломерулярного зворотного зв'язку за умов впливу екологічно несприятливих чинників», № держреєстрації 0112U003545. Дисертація також є фрагментом науково-дослідної роботи кафедр фізіології ім. Я.Д. Кіршенבלата та фармакології БДМУ: «Дизрегуляторні порушення нейроімуноендокринних взаємовідносин та шляхи їх корекції», № держреєстрації 0114V002469.

Мета дослідження: оптимізація фармакологічної корекції функціонального стану нирок на моделях гострого та хронічного пошкодження шляхом модуляції калієвого та кальцієвого іонного току фторвмісним активатором АТФ-залежних калієвих каналів флокаліном і бензотіазепіновим блокатором кальцієвих каналів дилтіаземом.

Для досягнення поставленої мети були визначені такі завдання:

1. Вивчити функціональний стан нирок під впливом активатора K_{ATP} каналів флокаліну за умов водно-сольових навантажень організму.
2. З'ясувати значення ренін-ангіотензин-альдостеронової системи в ренальній дії флокаліну для експериментальної оцінки доцільності комбінування активатора калієвого току з інгібіторами ангіотензин-перетворювального ферменту.
3. Оцінити вплив флокаліну і дилтіазему на волюмо-, кислото-, іонорегулювальну та екскреторну функції нирок за умов розвитку гострої сулемової та гіпоксичної нефропатії.

4. Встановити зміни гомеостатичної діяльності нирок після введення флокаліну та дилтіазему на моделях хронічного сулемового і гіпоксичного пошкодження нефроцитів.

5. Визначити роль клубочкових і каналцевих процесів у ренальних ефектах флокаліну та дилтіазему залежно від етіопатогенезу експериментальної патології нирок.

6. Охарактеризувати морфологічну картину нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку сулемової та гіпоксичної нефропатії.

7. Встановити зміни протеолітичної активності під впливом флокаліну та дилтіазему на моделях сулемового та гіпоксичного пошкодження нирок.

8. Вивчити стан необмеженого фібринолізу після застосування флокаліну та дилтіазему при формуванні сулемової та гіпоксичної нефропатії.

9. Проаналізувати вплив флокаліну та дилтіазему на енергетичне забезпечення ниркових процесів для уточнення механізмів дії досліджуваних модуляторів калієвого і кальцієвого іонного току.

10. Порівняти нефропротекторну ефективність флокаліну та дилтіазему на тлі розвитку токсичного сулемового та гіпоксичного гістогемічного пошкодження нирок для обґрунтування доцільності клінічної апробації фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів.

Об'єкт дослідження. Фармакологічна корекція функціонального стану нирок при гострому та хронічному патологічному процесі шляхом модуляції АТФ-залежних калієвих і потенціалозалежних кальцієвих каналів.

Предмет дослідження. Нефропротекторні ефекти фторвмісного активатора аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліну в порівняльному аспекті з блокатором кальцієвих каналів бензотіазепінового ряду дилтіаземом, залежно від патогенезу сулемової та гіпоксичної гістогемічної патології нирок.

Методи дослідження. Фармакологічні, фізіологічні, патофізіологічні, біохімічні, морфологічні, статистичні.

Наукова новизна одержаних результатів. У роботі показано, що зміни функціонального стану нирок після введення флокаліну на тлі водно-сольових навантажень визначають регульовальні можливості активатора K_{ATP} каналів на тлі гіпергідратації організму та є реакціями забезпечення водно-осмотичної рівноваги.

Встановлено ефективність флокаліну за умов зниженої активності РААС еналаприлом. Активація клубочкових процесів, збільшення натрійурезу, зменшення калійурезу, нормальний рівень натрій- і каліємії при курсовому поєднаному застосуванні флокаліну та еналаприлу вказують на можливість комбінування фторвмісного активатора K_{ATP} каналів з інгібіторами ангіотензин-перетворювального ферменту.

Виявлено протекторні впливи флокаліну в каналцевому та клубочковому відділах нефрону на моделі сулемової нефропатії, яка відтворює первинне пошкодження проксимального відділу нефрону з подальшим розвитком тубулоінтерстиційного синдрому і порушенням клубочкових процесів.

Розроблено спосіб моделювання поєданого гіпоксичного гемічного і гістотоксичного пошкодження нирок. Встановлено факт переважаючої дії флокаліну відносно дилтіазему за нефропротективною здатністю, в тому числі за ступенем

антипротеїнуричного ефекту, на тлі розвитку істотного енергодефіциту ниркових процесів з дисфункцією проксимального та дистального відділів нефрону.

Визначено механізми нефропротекторної дії флокаліну, що зумовлені покращенням енергетичного обміну і підтверджені підвищенням активності лужної фосфатази (ЛФ) та сукцинатдегідрогенази (СДГ) в тканині нирок незалежно від етіопатогенезу нефропатії. Виявлено переважні регуляторні впливи флокаліну на процеси необмеженого протеолізу, ферментативного фібринолізу, які разом зі збільшеним енергозабезпеченням ниркових процесів у значно більшій мірі, ніж під впливом дилтіазему, стримують деструкцію клітин і характеризуються більш вираженою позитивною структурною перебудовою нефроцитів.

Встановлено, що захисні впливи активатора K_{ATF} каналів на судинно-клубочковому та клітинно-канальцевому рівнях не залежать від стадії розвитку сулемової та гіпоксичної гістогемічної нефропатії, тоді як дилтіазем проявляє нефропротекторну активність переважно за умов гострого пошкодження нирок.

Практичне значення одержаних результатів. Проведені дослідження розкривають нефротропні властивості кардіопротектора і вазодилататора флокаліну, а також доповнюють дані щодо його фармакодинаміки, окреслюючи судинно-клубочкові та клітинно-канальцеві механізми захисту нирок, що значно розширює аспекти експериментального обґрунтування клінічної апробації фторвмісного активатора K_{ATF} каналів флокаліну як перспективного нефропротектора при широкому колі захворювань, у патогенезі яких мають місце порушення ниркового кровотоку та канальцевої реабсорбції.

Нова експериментальна модель комбінованого гіпоксичного гістогемічного пошкодження нирок може бути використана в експериментальній медицині для вивчення спектру адаптаційних, патофізіологічних механізмів, функціонального, біохімічного і морфологічного стану нирок за умов розвитку гіпоксії, а також для дослідження нефропротективних ефектів лікарських засобів при кисневому дефіциті.

Результати досліджень впроваджено в науково-дослідну роботу ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України», (м. Одеса), в науково-педагогічний процес кафедр: фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України», фармакології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет», Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова, Львівського національного медичного університету ім. Д. Галицького, Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (м. Київ), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія» (м. Полтава), фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету, фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України», фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету; кафедр фармакології, патологічної фізіології, фармації Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці).

Особистий внесок здобувача. Дисертаційна робота є самостійною завершеною науковою роботою. Внесок автора є основним і полягає у визначенні мети, завдань, методів дослідження; безпосередній участі у виконанні експериментів; проведенні статистичної обробки, аналізу та узагальнення результатів; написанні дисертаційної роботи; формулюванні висновків, науково-практичного значення. За консультативної допомоги д.мед.н., професора, заслуженого діяча науки і техніки України А.І. Гоженка сплановано етапи виконання досліджень, розроблено модель комбінованого гіпоксичного гемічного і гістотоксичного пошкодження нирок, опубліковано спільні наукові праці.

Апробація результатів дисертації.

Основні положення наукової роботи доповідались та обговорювались на науково-практичних конференціях з міжнародною участю: «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок», присвяченій пам'яті професорів Ю.І. Іванова та Б.А. Пахмурного (Чернівці, 2012), «Фізіологія нейроендокринної системи», присвяченій 100-річчю з дня народження професора Я.Д. Кіршенבלата (Чернівці, 2012), «Коморбідність у клініці внутрішньої медицини: фактори ризику, механізми розвитку та взаємообтяження, особливості фармакотерапії» (Чернівці, 2013); «Up to date: нефрологія та діаліз» (Чернівці, 2015); «Мікроелементи в медицині, ветеринарії, харчуванні: перспективи співпраці і розвитку» (Одеса, 2014); «13, 14-ті читання імені В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2014, 2015); на IV з'їзді нефрологів України (Київ, 2013); на XIX з'їзді Українського фізіологічного товариства імені П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченому 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка (Львів, 2014); на XV конгресі СФУЛТ (Чернівці, 2014); на 95-тій підсумковій науковій конференції «Природничі читання», присвяченій 70-річчю БДМУ (Чернівці, 2014); на науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (Чернівці, 2014); на підсумкових науково-практичних конференціях професорсько-викладацького персоналу БДМУ (Чернівці, 2014, 2015).

Публікації. За матеріалами дисертації опубліковано 48 робіт, з них 21 стаття у наукових фахових виданнях, 5 статей у закордонних виданнях, 22 роботи в матеріалах і тезах доповідей з'їздів, конгресів, науково-практичних конференцій; отримано 2 патенти України на корисну модель, 1 нововведення.

Структура та обсяг дисертації. Дисертація викладена на 337 сторінках машинописного тексту, складається зі вступу, огляду літератури, матеріалів та методів досліджень, 7 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів досліджень, висновків, списку використаних джерел, який включає 530 найменувань, з них 192 – кирилицею та 338 – латиницею. Дисертація ілюстрована 54 таблицями, 24 рисунками.

ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ

Матеріали та методи дослідження. Дослідження проведені на нелінійних білих статевозрілих щурах (n=540) обох статей (масою 0,15-0,17 кг), які знаходились у стандартних умовах віварію на збалансованому раціоні харчування з вільним доступом до відстояної водопровідної води. Дослідження виконували з

дотриманням правил проведення робіт з використанням експериментальних тварин та положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (1986 р.).

Функціональний стан нирок вивчався після внутрішньошлункового введення субстанції флокаліну на 1% крохмальному слизу в об'ємі 0,5 мл/100 г маси тіла тварини. Беручи до уваги наукові відомості про дозозалежність ефектів флокаліну [Ягупольский Л.М., Петко К.И., Тарасова Е.В., 2004, Струтинський Р.Б. і співавт., 2013], в експериментах з індукованим діурезом флокалін вводили в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг (одноразове та щоденне введення протягом 7 днів), у подальших дослідженнях – у дозі 5 мг/кг (0,23% від LD50 [Мойбенко О.О. і співавт., 2009]). Оцінку нефропротекції проводили шляхом співставлення ренальних ефектів флокаліну та блокатора кальцієвих каналів дилтіазему (Sanofi, Франція), який вводили аналогічним шляхом у дозі 5 мг/кг (0,63% від LD50 [Усанова А.А. и соавт., 2009]). Групам порівняння – інтактним і щурам з моделями нефропатій, вводили розчинник. Для оцінки функцій нирок під впливом флокаліну та дилтіазему на тлі пригнічення РААС щурам вводили внутрішньошлунково еналаприл («Здоровье», Харків) протягом 7 днів у дозі 1 мг/кг [Кузьмин О.Б. и соавт., 2012].

В експериментах з водним навантаженням водопровідну воду кімнатної температури вводили зондом у шлунок в об'ємі 5% від маси тіла. Сольове навантаження здійснювали за допомогою введення 0,45% розчину NaCl в об'ємі 3% від маси тіла. Після гідратації щурів поміщали на 2 години в індивідуальні обмінні клітки для збору сечі. Кров збирали після евтаназії під 1% нембуталовим наркозом у дозі 20 мг/кг. Швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) та екскреторну функцію нирок оцінювали за кліренсом ендogenous креатиніну. Концентрацію креатиніну в плазмі крові визначали за методом Поппера в модифікації Мерзона [Мерзон А.К. и соавт., 1970], в сечі – за методом Фоліна на СФ-46 [Берхин Е.Б., Иванов Ю.И., 1972]. Для аналізу іонорегулювальної функції нирок визначали концентрації іонів натрію і калію в плазмі крові та в сечі фотометричним методом на ФПЛ-1. Досліджували концентрацію білка в сечі сульфосаліциловим методом [Михеева А.И. и соавт., 1969]. Для оцінки кислоторегулювальної функції нирок вимірювали рН сечі на мікробіоаналізаторі «Radelkis» (Угорщина), концентрацію титрованих кислот і аміаку в сечі визначали методом титрування.

Токсичну нефропатію моделювали разовим підшкірним введенням 0,1% розчину дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг. Сулемова нефропатія є моделлю пошкодження проксимального відділу нефрону за рахунок блокади сульфгідрильних (SH-) груп епітеліоцитів каналців з розвитком тубуло-інтерстиційного синдрому та розладом клубочкових процесів [Гоженко А.І., 2002]. Гіпоксичну нефропатію моделювали послідовним введенням нітриту натрію в дозі 50 мг/кг маси тіла (підшкірно) та через 30 хвилин – 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг маси тіла (внутрішньоочеревинно). Патогенетичною ланкою інтоксикації нітриту натрію є утворення метгемоглобіну; під впливом 2,4-динітрофенолу виникає розщеплення процесів окиснення і фосфорилування в мітохондріях [Путилина Ф.Е., Ещенко Н.Д., 1971], що разом призводить до формування гістогемічної гіпоксичної нефропатії (ГГГН) з порушенням енергозалежних транспортних процесів у проксимальному та дистальному відділах нефрону. Флокалін і дилтіазем вводили з

першого дня (разове і введення 7 днів) та з 30 доби (введення 7 днів) моделювання нефропатій. Вказані періоди дослідження за функціонально-структурними ознаками відповідають початковій стадії розвитку гострої та хронічної патології нирок [Гоженко А.І. і співавт., 2014, Роговий Ю.Є. і співавт., 2012, 2014]. Перше введення флокаліну та дилтіазему здійснювали через 2 години після застосування сулеми чи перед введенням 2,4-динітрофенолу.

Енергетичний обмін вивчали за допомогою біохімічних методів визначення в нирках активності ферментів ЛФ та СДГ [Гоженко А.І., 1974, Камышников В.С., 2013].

Фібриноліз досліджували за реакцією з азофібрином. Визначали сумарну фібринолітичну активність (СФА), ферментативну (ФФА) та неферментативну фібринолітичну активність (НФА) в кірковій, мозковій речовині та сосочку нирок [Адріанова К.С. і співавт., 2008, Боднар Б.Н. і співавт., 2000]. Необмежений протеоліз у тканинах нирок, плазмі крові та сечі оцінювали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну, азоколагену (НВФ «Simko Ltd.», Львів).

Гістологічне дослідження нирок проводили в лабораторії кафедри патологічної анатомії БДМУ за консультативною допомогою професора І.С. Давиденка. Цифрові копії оптичного зображення аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми «ВидеоТест-Размер 5.0» (ООО Видеотест, Росія).

Статистичний аналіз проводили методами параметричної статистики за допомогою програм «Statgrafics», «Excel 7.0». Перераховані на 100 грам маси тіла і на 100 мкл клубочкового фільтрату (КФ) показники функціонального стану нирок обчислювали за загальновизнаними формулами [Шюк О., 1981]. Оцінку відмінностей між вибірками проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента. Наявність взаємозв'язку між показниками встановлювали за допомогою лінійного коефіцієнту кореляції Пірсона (*r*). Критичний рівень значимості дорівнював $p \leq 0,05$. Силу зв'язку між перемінними оцінювали за шкалою Чеддока.

Результати досліджень та їх обговорення. *Фізіологічний аналіз функціонального стану нирок під впливом флокаліну за умов індукованого діурезу.* Індукований водно-сольовими навантаженнями діурез відтворює природне надходження в організм осмотично активних іонів і води, при цьому спрацьовують спрямовані на підтримку водно-сольового гомеостазу нейрогуморальні загальні та високочутливі ниркові реакції, що дозволяє швидко виявити нефротропну активність досліджуваних сполук, окреслити механізми дії, оцінити стан адаптаційних можливостей та функціональний резерв нирок на тлі гіпергідратації [Боголепова А.Е., Наточин Ю.В., 2005, Гоженко А.І., 2015].

Отримані результати показали, що після разового і тривалого (7 днів) введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов водної та сольової гідратації організму показники функціонального стану нирок щурів мали однакову тенденцію змін, у переважній більшості, без дозозалежних ефектів. Після разового введення активатора K_{ATF} каналів у дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов водного навантаження збільшувався натрійурез і екскреція креатиніну, знижувався калійурез, зменшувався діурез (табл. 1).

Таблиця 1

Функціональний стан нирок щурів після введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов індукованого водного та сольового діурезу ($\bar{x} \pm Sx$, $n=7$)

Показники	Контроль	Флокалін	
		5 мг/кг	10 мг/кг
Разове введення флокаліну за умов 5% водного навантаження			
Діурез, мл/2 год	4,25±0,153	3,80±0,121*	3,66±0,145*
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	606,8±63,63	579,1±50,47	462,1±81,27
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	2,10±0,225	3,13±0,161**	3,12±0,129**
Амонійний коефіцієнт, од	2,67±0,168	3,27±0,120*	3,70±0,030***#
Концентрація K ⁺ в плазмі крові, ммоль/л	5,04±0,187	5,00±0,125	4,70±0,069
Екскреція K ⁺ , мкмоль/2 год	22,1±3,18	14,6±1,18*	14,2±1,67*
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/100мкл КФ	12,3±0,18	12,1±0,24	11,8±0,20
Дистальний транспорт Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,79±0,057	0,72±0,043	0,98±0,162
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,15±0,003	0,16±0,003*	0,25±0,007***##
Введення 7 днів флокаліну за умов 5% водного навантаження			
Діурез, мл/2 год	4,01±0,156	4,46±0,122*	3,98±0,227
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	349,8±2,57	517,0±52,12*	508,5±38,96**
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	2,50±0,093	3,31±0,243**	3,55±0,157**
Амонійний коефіцієнт, од	2,79±0,071	3,44±0,184*	3,15±0,142*
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/100мкл КФ	10,9±0,16	11,2±0,12	11,5±0,14*
Дистальний транспорт Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	1,21±0,119	0,91±0,068*	0,83±0,086*
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,97±0,224	0,28±0,035*	0,30±0,033*
Разове введення флокаліну за умов 3% сольового навантаження 0,45% NaCl			
Діурез, мл/2 год	3,00±0,001	3,00±0,004	3,00±0,004
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	723,1±37,86	572,4 ±67,36	423,0±43,53**
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	4,03±0,131	3,78±0,040	3,26±0,108***##
Амонійний коефіцієнт, од	1,65±0,104	1,90±0,334	2,60±0,412*
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/100мкл КФ	12,34±0,201	12,05±0,189	11,80±0,101*
Дистальний транспорт Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,44±0,021	0,60±0,068*	0,78±0,080**
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,56±0,042	0,20±0,020**	0,28±0,038**
Введення 7 днів флокаліну за умов 3% сольового навантаження 0,45% NaCl			
Діурез, мл/2 год	1,47±0,138	2,11±0,136*	1,59±0,056#
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	317,6±40,22	327,7±44,88	253,1±17,27
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	1,54±0,134	2,02±0,137*	1,47±0,061##
Амонійний коефіцієнт, од	1,52±0,110	1,00±0,001**	2,93±0,102***##
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/100мкл КФ	11,9±0,12	12,0±0,16	12,0±0,14
Дистальний транспорт Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,49±0,024	0,72±0,060**	0,66±0,026**
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/100 мкл КФ	0,20±0,018	0,34±0,013**	0,36±0,027**

Примітки: * – достовірність порівняно з контролем (* – $p<0,05$, ** – $p<0,01$);
– достовірність між групами з флокаліном (# – $p<0,05$, ## – $p<0,01$).

Стабільність проксимального і дистального транспорту іонів натрію вказувала на збалансування каналцевих процесів. Збільшення натрійурезу і зниження калійурезу виключало активацію РААС. Після введення 7 днів флокаліну на тлі водної гідратації зростали ШКФ і екскреція креатиніну. Порівняно з ефектом меншої дози, діурез після введення дози 10 мг/кг не збільшувався. Підвищення амонійного коефіцієнту відображало переваги амоніогенезу над ацидогенезом.

Зниження натрійурезу реалізовувалось клубочково-канальцевим балансом, на що вказували позитивні кореляційні зв'язки ШКФ з проксимальною та абсолютною реабсорбцією іонів натрію під впливом дози 5 мг/кг ($r=0,98$, $p<0,001$; $r=0,979$, $p<0,001$) і 10 мг/кг ($r=0,998$, $p<0,001$; $r=0,998$, $p<0,001$). Зменшення дистального транспорту Na^+ виключало надмірну активацію механізмів РААС.

Більш виражена вазодилатуюча дія флокаліну в дозі 10 мг/кг проявлялась зниженням ШКФ при разовому введенні за умов сольового діурезу. Проксимальний транспорт іонів натрію після введення більшої дози знижувався на 4,4%. Позитивні кореляційні зв'язки ШКФ з проксимальною і абсолютною реабсорбцією іонів Na^+ після введення дози 5 мг/кг ($r=0,995$, $p<0,001$; $r=0,999$, $p<0,001$) і 10 мг/кг ($r=0,999$, $p<0,0001$; $r=0,998$, $p<0,0001$), а також зменшення протеїнурії з $0,06\pm0,007$ мг/2 год до $0,03\pm0,003$ мг/2 год ($p<0,01$) і до $0,01\pm0,002$ мг/2 год ($p<0,001$), відповідно до доз, вказували на збалансованість клубочково-канальцевих процесів. Стабільність діурезу та зменшення натрійурезу були реакціями, спрямованими на збереження водних компартментів організму та характеризують флокалін як засіб підтримки гомеостатичної функції нирок за умов сольового навантаження. На 7 день введення флокаліну в дозі 5 мг/кг на тлі сольової гідратації збільшувались діурез і екскреція креатиніну, що підтверджувало висновок [Струтинський Р.Б. та співавт., 2013] про більшу ефективність менших експериментальних доз. Однак підвищений амонійний коефіцієнт вказував на потенційну ефективність флокаліну в більшій дозі при метаболічному ацидозі. Мала місце пряма кореляційна залежність між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після введення дози 5 мг/кг ($r=0,99$, $p<0,001$) і 10 мг/кг ($r=0,995$, $p<0,001$). Збільшений дистальний транспорт іонів натрію забезпечував необхідний для реабсорбції води градієнт осмотичного тиску.

Ниркові реакції флокаліну за умов функціональних водно-сольових навантажень мали адаптивний характер і забезпечували гомеостатичну діяльність нефрону для збереження водно-осмотичної рівноваги, переважно після введення меншої дози, що обґрунтувало вибір дози 5 мг/кг для подальших досліджень.

Порівняльна оцінка функціонального стану нирок під впливом флокаліну та дилтіазему за умов розвитку сулемової нефропатії. Початковий період гострої сулемової нефропатії характеризувався зниженням діурезу на 42,9% ($p<0,05$), збільшенням креатинінемії на 39,5% ($p<0,001$) і концентрації креатиніну в сечі на 82,5% ($p<0,001$), підвищенням протеїнурії в 4,5 рази ($p<0,01$). Після однократного введення флокаліну діурез зростав з $2,0\pm0,20$ мл/2 год до $3,1\pm0,12$ мл/2 год ($p<0,01$). Регуляторна участь K_{ATF} каналів полягала в безпосередній вазодилатації, зниженні вазоконстрикторних впливів РААС, які активуються після введення сулеми, підвищенні ШКФ з $303,7\pm30,30$ мкл/хв до $602,4\pm56,89$ мкл/хв ($p<0,01$). Збільшувалась з $1,9\pm0,13$ мкмоль/2 год до $2,2\pm0,03$ мкмоль/2 год ($p<0,05$) екскреція креатиніну і знижувалась з $55,7\pm0,33$ мкмоль/л до $43,5\pm2,50$ мкмоль/л креатинінемія ($p<0,01$). Встановлено прямий кореляційний зв'язок між ШКФ і екскрецією креатиніну ($r=0,867$, $p<0,05$). Зниження стандартизованої за КФ екскреції білка до значень контролю вказувало на захисний вплив флокаліну в проксимальному відділі нефрону. Збільшувався з $42,8\pm4,55$ мкмоль/хв до $69,2\pm5,59$ мкмоль/хв фільтраційний заряд Na^+ ($p<0,01$), зростав з $0,4\pm0,06$ мкмоль/2 год до $1,2\pm0,32$ мкмоль/2 год натрійурез ($p<0,05$), мав місце позитивний кореляційний зв'язок концентрації іонів

натрію в сечі з його екскреторною фракцією ($r=0,988$, $p<0,001$). На тлі нормалізації гіпернатріємії підвищення натрійурезу було адекватним для підтримки натрієвого балансу в організмі. Проксимальний каналцевий транспорт іонів натрію зростав з $4,8\pm0,52$ ммоль/2 год до $7,9\pm0,66$ ммоль/2 год ($p<0,01$) і прямо корелював з показниками абсолютної реабсорбції цього катіону ($r=0,935$, $p<0,01$). Підвищувалась з $277,6\pm30,11$ мкмоль/2 год до $368,3\pm27,18$ мкмоль/2 год ($p<0,05$) реабсорбція іонів натрію в дистальному відділі нефрону.

Флокалін не попереджав спричинений сулемою розвиток некрозу нефроцитів (рис. 1), разом з тим, після його застосування з'являлись групи новоутворених епітеліоцитів, що вказувало на початкові явища регенерації (рис. 2, А).

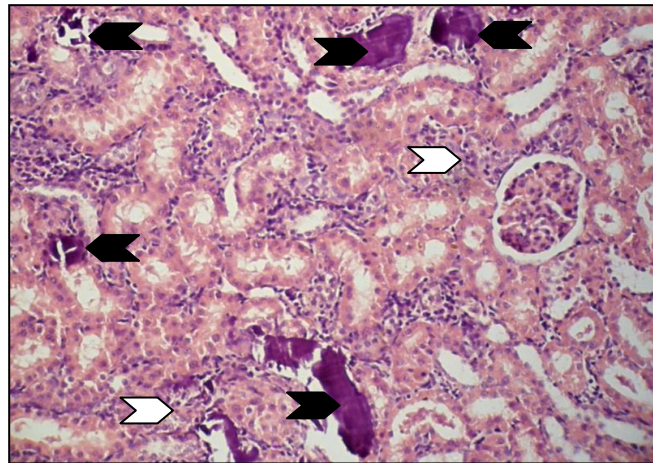
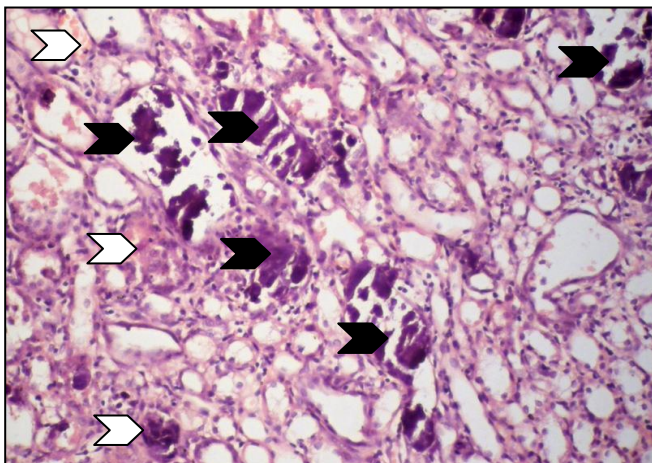
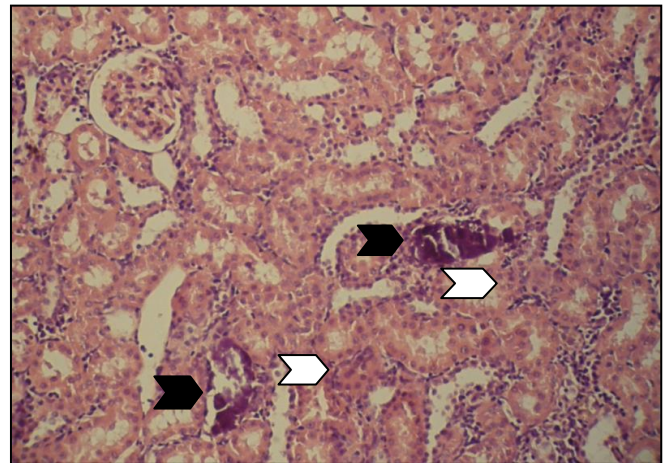


Рис. 1. Модель сулемової нефропатії на першу добу введення дихлориду ртуті. Кіркова речовина нирки щура. Чорними стрілками вказані кальцинати. Білими стрілками вказані осередки некрозу епітелію без кальцинатів. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.



А



Б

Рис. 2. Модель сулемової нефропатії після разового введення флокаліну (А) і дилтіазему (Б). Кіркова речовина нирки щура. Чорними стрілками вказані кальцинати. Білими стрілками вказані дрібні осередки залишкового некрозу епітелію з початковими явищами регенерації. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

У відповідь на збільшення надходження іонів натрію клітини дистальних канальців секретували іони калію і калійурез зростав з $32,7 \pm 3,55$ мкмоль/2 год до $58,5 \pm 3,56$ мкмоль/2 год ($p < 0,01$) без змін каліємії. Зменшення стандартизованого за КФ показника дистальної реабсорбції іонів натрію та відсутність кореляційної залежності між ним та екскрецією іонів калію ($r = -0,534$, $p > 0,05$) вказувало на зниження опосередкованих внутрішньонирковою РААС впливів.

На відміну від флокаліну, дилтіазем не збільшував ШКФ, не змінював діурез і гіперкреатинінемію. Є відомості, що дилтіазем покращує процес фільтрації, однак такі результати отримали [Синяченко О.В. и соавт., 2005] при лікуванні системних захворювань. Блокатор кальцієвого току, як і флокалін, підвищував натрійурез, амонійний коефіцієнт, що вказувало на перевагу амоніогенезу над ацидогенезом та на захисну дію за умов розвитку метаболічного ацидозу після пошкодження нирок. Підвищення калійурезу з $6,7 \pm 1,17$ мкмоль/2 год до $12,2 \pm 1,44$ мкмоль/2 год ($p < 0,05$) після введення дилтіазему супроводжувалось гіпокаліємією до $5,2 \pm 0,12$ ммоль/л проти $6,9 \pm 0,13$ ммоль/л ($p < 0,01$), знижувався проксимальний транспорт іонів натрію з $13,5 \pm 0,17$ ммоль/100 мкл КФ до $11,8 \pm 0,27$ ммоль/100 мкл КФ ($p < 0,01$). Однак на користь протективних впливів препарату свідчила знижена екскреція білка з $0,019 \pm 0,0016$ мг/100 мкл КФ до $0,007 \pm 0,0011$ мг/100 мкл КФ ($p < 0,01$). Крім того, для структурного стану після корекції дилтіаземом було характерним зменшення на 15% кількості кальцинатів у кірковій речовині нирок (рис. 2, Б).

Необхідною умовою фармакологічної характеристики з оцінкою безпечності є вивчення функціонального стану нирок після курсового введення перспективних у клінічному відношенні лікарських засобів. На 7 день початкової стадії розвитку гострої сулемової нефропатії виявлено зниження діурезу з $4,7 \pm 0,11$ мл/2 год до $2,9 \pm 0,25$ мл/2 год ($p < 0,01$), зменшення екскреції аміаку з $97,2 \pm 3,21$ мкмоль/2 год до $69,8 \pm 5,82$ мкмоль/2 год ($p < 0,01$), гіперкреатинінемію до $128,0 \pm 13,66$ мкмоль/л проти $73,2 \pm 9,48$ мкмоль/л ($p < 0,05$), протеїнурію до $0,41 \pm 0,093$ мг/100 мкл КФ проти $0,018 \pm 0,0022$ мг/100 мкл КФ ($p < 0,05$), гіпокаліємію до $5,2 \pm 0,41$ ммоль/л проти $6,3 \pm 0,23$ ммоль/л ($p < 0,01$).

Під впливом флокаліну та дилтіазему екскреція білка зменшувалась до $0,009 \pm 0,0012$ мг/100 мкл КФ ($p < 0,01$) і до $0,016 \pm 0,0051$ мг/100 мкл КФ ($p < 0,01$), відповідно. Отримані антипротеїнуричні ефекти вказують на патогенетичну роль дисфункції K_{ATP} каналів і повільних потенціалозалежних кальцієвих каналів L-типу в формуванні нефропатії, а також і на співставність впливів флокаліну та нефропротектора дилтіазему. Порівняно з блокатором кальцієвих каналів, антипротеїнуричний ефект флокаліну був у кількісному відношенні більш значимим ($p < 0,001$). Позитивний кореляційний зв'язок між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після введення 7 днів флокаліну ($r = 0,987$, $p < 0,001$) та дилтіазему ($r = 0,985$, $p < 0,001$) засвідчував узгоджену роботу клубочкового і канальцевого відділів нефрону. Екскреція аміаку під впливом флокаліну збільшувалась до $181,2 \pm 29,87$ мкмоль/2 год ($p < 0,01$) і нормалізувалась після введення дилтіазему. Однак, лише під впливом флокаліну зменшувались екскреторна фракція іонів натрію (індикатор стану тубулярного відділу нефрону) з $0,01 \pm 0,001$ мкмоль/хв до $0,005 \pm 0,0009$ мкмоль/хв ($p < 0,01$) і натрійурез у щурів з сулемовою нефропатією досягав норми. Після введення дилтіазему екскреція іонів

натрію збільшувалась з $1,3 \pm 0,12$ мкмоль/2 год до $2,5 \pm 0,36$ мкмоль/2 год ($p < 0,05$), що виключало компенсаторну роль зниження ШКФ (з $514,6 \pm 39,27$ мкл/хв до $244,1 \pm 29,37$ мкл/хв, $p < 0,01$) для підтримки механізмів зменшення об'єму ультрафільтрату до величин, здатних реабсорбуватися каналцями. Під впливом флокаліну концентрація креатиніну в плазмі крові щурів з сулемовою нефропатією знижувалась до $91,9 \pm 1,13$ мкмоль/л ($p < 0,05$). Після введення дилтіазему не змінювалась гіперкреатинінемія і, порівняно з дією флокаліну, знижувався концентраційний індекс креатиніну (до $7,5 \pm 1,00$ од проти $10,7 \pm 0,73$ од, $p < 0,05$), що є негативним фактом для оцінки ефективності нефропротекції. Обидва модулятори іонних каналів відновлювали рівень каліємії, але після введення флокаліну калійурез знижувався з $15,9 \pm 1,48$ мкмоль/2 год до $11,3 \pm 1,03$ мкмоль/2 год ($p < 0,05$), тоді як після застосування дилтіазему екскреція іонів калію у щурів з сулемовою нефропатією не змінювалась.

Морфологічний аналіз на 7 день розвитку гострої сулемової нефропатії виявив зменшення кровонаповнення капілярів тканин нирок, а також осередки некрозу, викликаних безпосередньою і непрямую дією дихлориду ртуті. Після застосування флокаліну спостерігалось різке підвищення кровонаповнення капілярів кіркової, мозкової речовини та сосочка нирки. Осередки регенерації епітеліальної тканини були добре виражені і становили в середньому $8,4 \pm 0,16\%$ питомого об'єму кіркової речовини. Після введення дилтіазему відмічалось звичайне або місцями дещо підсилене кровонаповнення вказаних ділянок, що відобразилось меншим питомим об'ємом осередків регенерації епітеліальних клітин – у середньому $1,4 \pm 0,41\%$.

Невід'ємною особливістю нефрологічних захворювань є схильність до прогресуючого розвитку. Згідно з останніми даними про закономірність хронічного процесу, загальним результатом будь-якої патології нирок є розвиток ХХН. Для більш повної характеристики фармакодинаміки флокаліну наступним етапом нашої роботи були дослідження на стадії хронізації сулемової нефропатії (табл. 2).

Таблиця 2

Функціональний стан нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг за умов хронізації сулемової нефропатії на тлі 5% водного навантаження ($\bar{x} \pm Sx$, $n=8$)

Показники	Сулемова нефропатія	Сулемова нефропатія та флокалін	Сулемова нефропатія та дилтіазем
1	2	3	4
Діурез, мл/2 год	$4,1 \pm 0,07$	$2,3 \pm 0,27^{**}$	$4,9 \pm 0,21^{**\#\#}$
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	$3,08 \pm 0,130$	$3,44 \pm 0,107^*$	$2,89 \pm 0,389$
Концентраційний індекс креатиніну, од	$9,4 \pm 0,56$	$16,3 \pm 0,39^{**}$	$4,3 \pm 0,39^{**\#\#}$
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	$319,2 \pm 21,39$	$306,7 \pm 28,60$	$174,0 \pm 20,65^{**\#\#}$
Відносна реабсорбція води, %	$89,1 \pm 0,58$	$93,8 \pm 0,15^{**}$	$75,7 \pm 2,23^{**\#\#}$

Продовження табл. 2

1	2	3	4
Екскреція білка, мг/100 мкл КФ	0,037±0,0022	0,030±0,0017*	0,055±0,0068*##
Концентрація K ⁺ в плазмі крові, ммоль/л	10,9±0,61	13,7±0,48	13,6±0,75
Екскреція K ⁺ , ммоль/2 год	18,7±2,98	9,6±0,65**	28,4±2,04*##
Концентрація Na ⁺ в плазмі крові, ммоль/л	122,2±3,72	135,8±6,25	137,1±1,94
Фільтраційний заряд Na ⁺ , ммоль/хв	37,1±1,16	41,5±1,18*	23,8±2,54**##
Концентрація Na ⁺ в сечі, ммоль/л	1,01±0,430	0,32±0,016	0,75±0,050##
Кліренс Na ⁺ , мл/2 год·100 г	0,034±0,0134	0,005±0,0005*	0,026±0,0020##
Екскреторна фракція Na ⁺ , ммоль/хв	0,033±0,0007	0,006±0,0005**	0,030±0,0009*##
Екскреція Na ⁺ , ммоль/2 год	3,99±1,517	0,71±0,058*	3,64±0,348##
Проксимальна реабсорбція Na ⁺ , ммоль/2 год	3,98±0,280	4,67±0,123*	2,19±0,288**##
Проксимальна реабсорбція Na ⁺ /100 мкл КФ	10,38±0,168	12,74±0,591**	10,37±0,284##
Дистальна реабсорбція Na ⁺ /100 мкл КФ	1,25±0,069	0,83±0,042**	3,31±0,318**##

Примітки: * – достовірність порівняно з сулемовою нефропатією (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$); # – достовірність між групами з флокаліном і дилтіаземом (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$).

Вірогідним механізмом захисної дії флокаліну є позитивна динаміка тубулярних процесів, що підтверджувалось зниженою протеїнурією. Хронічне пошкодження нирок через 30 діб після введення дихлориду ртуті характеризувалось збільшенням діурезу на 20,6% ($p < 0,05$), ШКФ – на 52% ($p < 0,05$), екскреції білка – на 48% ($p < 0,01$), що відповідало динаміці показників у пізньому поліуричному періоді розвитку сулемової нефропатії [Роговий Ю.Є., 2000]. За умов відкриття K_{ATP} каналів зберігались енергоресурси клітин і підвищувалась витривалість нефроцитів до гіпоксії, покращувалась гемодинаміка внаслідок притаманної флокаліну потужної вазодилатації [Strutynskyi R.V., 2011]. Встановлений позитивний кореляційний зв'язок між проксимальною реабсорбцією в каналцях та ШКФ ($r = 0,933$, $p < 0,01$) є відображенням злагодженого функціонування клубочкових і каналцевих процесів. Так, підвищення під впливом флокаліну реабсорбції іонів натрію в проксимальному відділі нефрону на тлі зниження обсягу дистального транспорту забезпечувало зменшення втрат іонів натрію і позитивний натрієвий баланс. Зростання стандартизованої за КФ проксимальної реабсорбції іонів натрію вказувало на збільшення функціонально активних нефронів, за рахунок яких активувалась екскреторна функція нирок (зростала екскреція креатиніну). Прямо пропорційно

корелювали показники абсолютної реабсорбції іонів натрію з екскрецією креатиніну ($r=0,845$, $p<0,05$). Сулемова нефропатія характеризувалась зниженням рН сечі та концентрації іонів водню в сечі з $0,87\pm0,005$ мкмоль/л до $0,61\pm0,006$ мкмоль/л ($p<0,001$), зменшенням з $43,4\pm1,82$ мкмоль/2 год до $24,3\pm1,66$ мкмоль/2 год ($p<0,001$) екскреції титрованих кислот. На активацію кислоторегулювальної функції під впливом флокаліну вказували нормалізація концентрації іонів водню та рН сечі, підвищення екскреції титрованих кислот до $29,8\pm1,73$ мкмоль/2 год ($p<0,05$), що також свідчило про покращення дистального транспорту в нефроні.

Зниження діурезу внаслідок збільшення відносної реабсорбції води під впливом флокаліну дозволяє припустити наявність взаємозв'язку стану K_{ATF} каналів і аквапоринів. Враховуючи залежність фосфорилування аквапоринів від іонів кальцію та кальцій-залежних протеїназ CDPK [Agre P., 2006], можливим є застосування флокаліну для дослідження цих водних каналів.

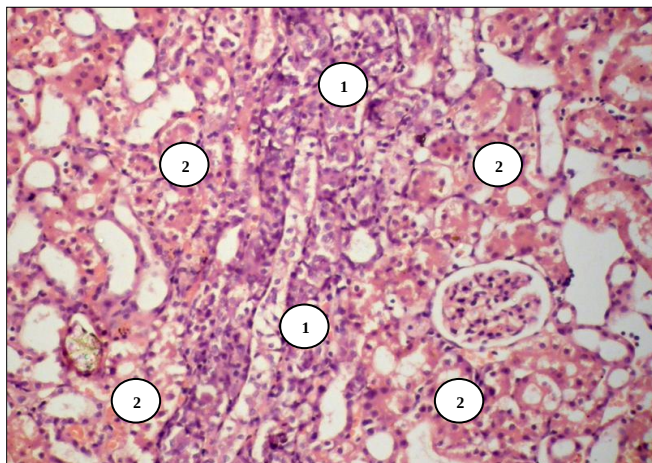
Під впливом дилтіазему за умов хронічного пошкодження нирок ШКФ і концентраційний індекс креатиніну були навіть нижче, ніж у інтактних щурів. Дані результати вказували на меншу здатність дилтіазему, порівняно з флокаліном, підтримувати за даних умов один із ниркових механізмів регуляції гомеостазу – функціональний нирковий резерв (ФНР) [Гоженко А.І., 2015]. Діуретична реакція виникала внаслідок пригнічення каналцевої реабсорбції, що було проявом збереження тубулярної дисфункції. Під впливом дилтіазему стандартизована за КФ екскреція білка зростала, що виключало залежний від стану каналцевих процесів антипротеїнуричний ефект. Відсутність у дилтіазему позитивного впливу на протеїнурію констатували також інші дослідники [Öztür S. et al., 2012]. Пригнічення проксимальної реабсорбції іонів натрію виключало можливість втручання дилтіазему в механізми вторинно-ішемічного пошкодження ангіотензином II проксимального відділу нефрону. Збільшення натрійурезу, екскреторної фракції іонів натрію під впливом дилтіазему вказувало на те, що транспортні процеси пошкодженої нирки після введення модулятора кальцієвого току якісно не змінювались. На відміну від флокаліну, дилтіазем проявляв калійуретичний ефект, що, як і підвищення дистальної реабсорбції іонів натрію, засвідчувало збереження впливу альдостерону.

Після застосування флокаліну з 30 доби сулемової нефропатії вміст іонів натрію в просвіті каналців достовірно не змінювався, незважаючи на високе натрієве завантаження нефрону. На тубулопротективний вплив активатора K_{ATF} каналів і відновлення трансепітеліального транспорту вказувало зменшення втрат іонів натрію з сечею. Зниження концентраційного індексу з $0,009\pm0,0026$ од до $0,002\pm0,0006$ од ($p<0,05$), екскреторної фракції та екскреції іонів натрію вказували на активацію проксимальної реабсорбції. Натрійзберігаючий ефект на тлі зниження дистального транспорту цього електроліту разом зі зниженням калійурезу свідчили про зменшення пошкоджувальних впливів РААС, які відіграють провідну роль у патогенезі сулемової нирки. Відомо, що основним напрямом нефропротекції є терапія блокаторами РААС з метою пригнічення патогенетичних механізмів ремоделювання нирок [Bramlage P. et al., 2010, Matsui T. et al., 2010].

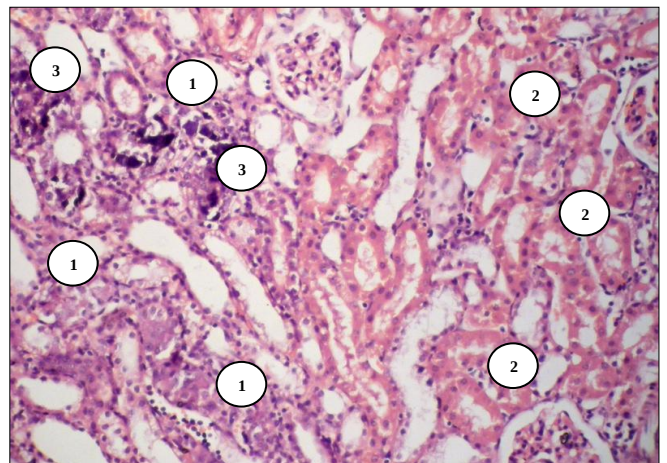
Морфологічні зміни за умов розвитку хронічного патологічного процесу відмічались переважно в кірковій речовині пошкоджених сулемою нирок. Перший

тип пошкоджень – вапнування осередків некротизованих раніше груп епітеліоцитів звивистих каналців без вираженої реакції ниркової стромы. Тобто було вторинне пошкодження – наслідки змін внутрішньониркової гемодинаміки, не більше 1% епітеліоцитів (переважно в субкапсулярній зоні). Другий тип – вапнування ділянок некротизованих раніше епітеліоцитів звивистих каналців з вираженою реакцією стромы у вигляді формування грануляційної тканини різного ступеня зрілості, максимально в юкстамедулярній зоні, відповідав первинним пошкодженням більшого об'єму і охоплював близько 4% епітеліоцитів. Третій тип пошкоджень – це оборотне гіпоксичне набухання епітелію виживших звивистих каналців з рівномірною поширеністю до 95% у всіх зонах кіркової речовини.

Внаслідок впливу активатора K_{ATP} каналів перший тип пошкоджень у мікропрепаратах не зустрічався зовсім, другий тип пошкоджень мав місце, але без кальцинозу, тобто на місцях загиблих епітеліоцитів розросталась грануляційна тканина без відкладань нерозчинних солей кальцію, що є більш сприятливим варіантом регенерації. Поширеність третього типу пошкоджень після введення флокаліну становила 75% (рис. 3, А).



А



Б

Рис. 3. Модель хронізації сулемової нефропатії. Кіркова речовина нирки щура після введення флокаліну (А) та дилтіазему (Б). 1 – грануляційна тканина. 2 – звивисті каналці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. 3 – осередки вапнування. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Після введення дилтіазему перший тип пошкоджень зустрічався дуже рідко (рис. 3, Б). Другий тип – був подібним за характеристиками до змін у нелікованій групі. Третій тип пошкоджень поширювався приблизно на 85% звивистих каналців. Природна зв'язувальна роль K_{ATP} каналів між енергетичним метаболізмом і функціональною активністю клітин відобразилась більш вираженою, порівняно з дилтіаземом, ефективною морфологічною динамікою щодо поширеності осередків некрозу і кальцинозу нефроцитів, а також щодо розростання грануляційної тканини.

Порівняльна оцінка функціонального стану нирок під впливом модуляторів іонних каналів за умов розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії. Серйозним ускладненням гіпоксичних станів є порушення гомеостатичних реакцій нирок

внаслідок патологічних процесів у каналцях нефрону за рахунок загальних і місцевих змін кровообігу, енергодефіциту клітин та деструкції нефроцитів, які в сукупності при ГГН зумовлюють олігурію, протеїнурію, втрати іонів натрію з сечею (табл. 3).

Таблиця 3

Функціональний стан нирок після разового введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг у щурів з гострою гіпоксичною гістогемічною нефропатією за умов 5% водного навантаження ($\bar{x} \pm Sx$, $n=10$)

Показники	Контроль	Гостра ГГН	Гостра ГГН та флокалін	Гостра ГГН та дилтіазем
Діурез, мл/2 год	3,26 $\pm$ 0,147	2,69 $\pm$ 0,164*	3,35 $\pm$ 0,260	2,99 $\pm$ 0,503
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	36,0 $\pm$ 8,00	31,5 $\pm$ 3,75	25,5 $\pm$ 4,00	39,0 $\pm$ 8,02
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	2,65 $\pm$ 0,268	4,39 $\pm$ 0,140**	4,72 $\pm$ 0,820*	3,91 $\pm$ 0,402*
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	752,2 $\pm$ 157,93	1146,3 $\pm$ 68,95*	1560,0 $\pm$ 166,04**#	1204,6 $\pm$ 382,38
Концентрація білка в сечі, г/л	0,017 $\pm$ 0,0018	0,043 $\pm$ 0,0034**	0,020 $\pm$ 0,0022##	0,024 $\pm$ 0,0049#
Екскреція білка, мг/100 мкл КФ	0,008 $\pm$ 0,0012	0,012 $\pm$ 0,0023	0,004 $\pm$ 0,0004**##	0,009 $\pm$ 0,0025
рН сечі, од	6,7 $\pm$ 0,13	7,9 $\pm$ 0,08**	6,8 $\pm$ 0,11	6,1 $\pm$ 0,11**##
Амонійний коефіцієнт, од	0,43 $\pm$ 0,023	0,63 $\pm$ 0,019**	0,57 $\pm$ 0,072	0,34 $\pm$ 0,018**##
Концентрація H^+ в сечі, мкмоль/л	0,82 $\pm$ 0,008	0,84 $\pm$ 0,005*	0,83 $\pm$ 0,007	0,78 $\pm$ 0,008**##
Концентрація Na^+ в плазмі крові, ммоль/л	139,5 $\pm$ 4,02	142,0 $\pm$ 3,95	141,2 $\pm$ 1,25	133,3 $\pm$ 4,30
Фільтраційна фракція Na^+ , мкмоль/хв	107,1 $\pm$ 25,20	162,9 $\pm$ 8,49*	220,2 $\pm$ 22,58*#	159,2 $\pm$ 50,76
Концентрація Na^+ в сечі, ммоль/л	0,61 $\pm$ 0,088	1,20 $\pm$ 0,258*	0,86 $\pm$ 0,131	0,88 $\pm$ 0,238
Екскреція Na^+ , мкмоль/2 год	1,97 $\pm$ 0,287	3,25 $\pm$ 0,392*	2,77 $\pm$ 0,453	2,78 $\pm$ 0,890
Екскреторна фракція Na^+ , мкмоль/хв	0,02 $\pm$ 0,002	0,03 $\pm$ 0,003*	0,02 $\pm$ 0,003	0,02 $\pm$ 0,007
Кліренс вільної від Na^+ , води, мл/2 год	3,25 $\pm$ 0,148	2,66 $\pm$ 0,159*	3,24 $\pm$ 0,258	2,97 $\pm$ 0,498
Проксимальний транспорт Na^+ , ммоль/2 год	12,4 $\pm$ 3,01	19,2 $\pm$ 1,10*	25,9 $\pm$ 2,68*#	18,7 $\pm$ 6,09
Дистальний транспорт Na^+ , мкмоль/2 год	455,9 $\pm$ 34,08	380,5 $\pm$ 10,34*	457,9 $\pm$ 38,65	395,3 $\pm$ 66,44

Примітки: * – достовірність порівняно з контролем (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$); # – достовірність порівняно з ГГН (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$).

Підвищувалась проникність стінки ниркових каналців і відносна реабсорбція води зростала з $95,4 \pm 1,00\%$ до $98,1 \pm 0,15\%$ ($p < 0,05$) для підтримки об'єму КФ. Одним з важливих регуляторних ниркових механізмів є збільшення потужності гомеостатичних процесів за рахунок включення ФНР, що віддзеркалилось підвищенням ШКФ на початковій стадії розвитку ГГН та підтримкою екскреторної функції нирок.

Після введення флокаліну діурез досягав нормальних значень, хоча відносна реабсорбція води лишалась підвищеною до $98,2 \pm 0,13\%$ ($p < 0,05$). Інтегральними механізмами збільшення ШКФ під впливом флокаліну можна вважати потужну системну вазодилатацію в поєднанні зі зменшенням активації внутрішньониркової РААС. Завдяки регулюючій участі K_{ATP} каналів і, власне, флокаліну при енергодефіциті зменшувались пошкоджувальні впливи на особливо чутливу до гіпоксії юктагломерулярну зону, знижувались вазоконстрикторні впливи РААС на приносні артеріоли нирок. Інтенсивність ШКФ зростала і екскреція креатиніну була вище, ніж у контролі. Зниження стандартизованої за КФ протеїнурії свідчило про більш виражений, ніж під впливом дилтіазему захисний вплив на стан проксимальних каналців.

Компенсаторне збільшення ШКФ у щурів з ГГН привело до підвищення фільтраційної фракції іонів натрію. Суттєве зростання об'єму фільтрату та гломерулярної перфузії під впливом флокаліну ще більше завантажило нефрон іонами натрію у щурів з ГГН (див. табл. 3). Однак, якщо натрійурез у нелікованих щурів значно зростає, то після введення флокаліну екскреція іонів натрію була в нормі. Нирковий кровообіг на початковій стадії ГГН первинно не порушується, але доставка кисню до каналців знижується [Бойчук Т.М., Роговий Ю.Є., 2012]. Внаслідок роз'єднання 2,4-динітрофенолом процесів окиснення і фосфорилування зменшувалось утворення АТФ, пригнічувалась енергозалежна дистальна реабсорбція і підвищувалась концентрація іонів натрію в сечі, збільшувався натрійурез та екскреторна фракція електроліту. Встановлені позитивні кореляційні зв'язки ШКФ з абсолютною реабсорбцією іонів натрію ($r=0,995$, $p < 0,001$), а також з проксимальною реабсорбцією іонів натрію ($r=0,848$, $p < 0,05$) слугували на користь судження про захисні впливи флокаліну за умов ГГН.

У нефроцитах каналців, особливо чутливих до гіпоксії клітин, є велика кількість мітохондрій. Відомо, що одним з механізмів кардіопротекції флокаліну є активація калійселективної проникності у внутрішній мембрані мітохондрій і пригнічення кальційіндукованого відкривання мітохондріальної пори в серці щурів. Індукуючи, таким чином, помірне мітохондріальне набухання, флокалін відтворює власний захист, спрямований на попередження надмірного набухання, збереження структури і функції мітохондрій – синтезу АТФ [Струтинська Н.А. і співавт., 2013, Yamada M., 2010]. Під впливом флокаліну в більшій мірі зростала, порівняно з дилтіаземом, енергопродукція в нефроцитах: на тлі відновлення дистального транспорту іонів натрію суттєвіше підвищувалась його проксимальна реабсорбція.

На початковій стадії ГГН збільшувалась концентрація іонів калію в плазмі крові з $9,3 \pm 0,26$ ммоль/л до $13,9 \pm 0,27$ ммоль/л ($p < 0,01$). Після разового введення флокаліну та дилтіазему рівень каліємії відновлювався. Залужнення сечі при ГГН, можливо, було реакцією нирок на компенсаторний газовий алкалоз, що виник у

відповідь на метаболічний ацидоз, спровокований прогіпоксичними чинниками. На відміну від дії флокаліну, після введення дилтіазему ацидогенез домінував над амоніогенезом, значення рН сечі було нижче за контроль.

Відсутність у серії експериментів з модуляцією кальцієвого току достовірних відмінностей, порівняно з контролем, показників волюмо- та іонорегулювальної функцій нирок, співпадала з існуючими науковими відомостями про нефротропні властивості дилтіазему [Mann J.F.E., Bakris J.L., 2015]. Проте, на моделі гострої ГГГН дилтіазем менш виражено, ніж флокалін покращував структурний стан клубочкового відділу нефрону. Так, у кірковому шарі нирок під впливом нітриту натрію і 2,4-динітрофенолу понад 90% ниркових клубочків мали ознаки інтеркапілярного набряку, що свідчило про їх пошкодження, капіляри клубочків містили поодинокі еритроцити (рис. 4).

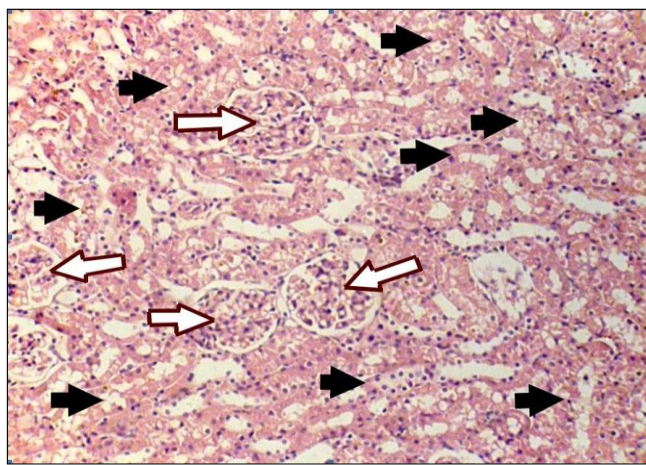
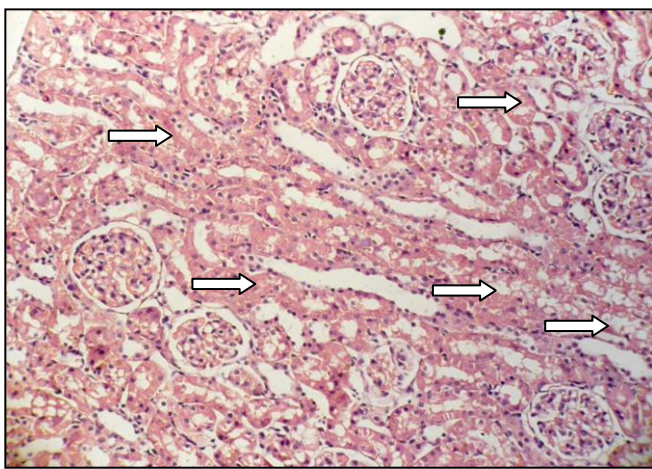


Рис. 4. Модель гострої гістогемічної гіпоксичної нефропатії. Кіркова речовина нирки щура після введення нітриту натрію в дозі 50 мг/кг та 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг. Білими стрілками позначені ниркові клубочки. Чорними стрілками позначені звивисті каналці. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

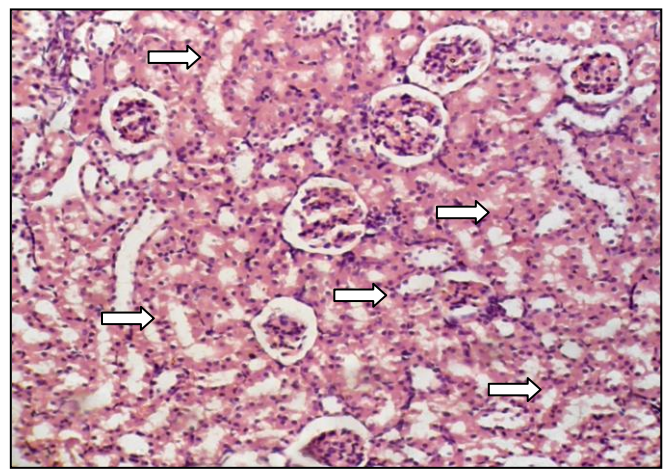
Епітелій звивистих каналців мав ознаки оборотного набухання клітин, зокрема, не менш 95% клітин були переважно з ознаками гідропічної вакуолізації. В інших епітеліоцитах проксимальних каналців були ознаки гідропічного набухання. Окремі епітеліоцити проксимального відділу нефрону були з ознаками некрозу – каріопікноз та ущільнення цитоплазми. В дистальних каналцях близько 99% епітеліоцитів мали ознаки гідропічного набухання, їх просвіт був звужений. Як правило, в першу чергу страждають проксимальні каналці і навіть при сулемовому пошкодженні дистальні каналці задіяні в меншій мірі. Однак у даному випадку наслідки енергодефіциту спостерігались і в дистальному відділі нефрону. Максимальне вираження гідропічного набухання відмічалось в юкстамедулярній зоні. Міжканалцеві капіляри були знекровлені. В мозковій речовині нирок будова інтерстицію та мозкових променів була аналогічна інтактним тваринам.

Після разового введення флокаліну щурам з ГГГН у кірковій речовині нирок явища набряку спостерігались у $5,2 \pm 0,84\%$ клубочків, капіляри при цьому були переповнені еритроцитами. Подібні морфологічні зміни епітеліоцитів звивистих

канальців утруднювали диференціювання канальців на проксимальні та дистальні. Морфологічна сутність виявлених відмінностей в епітелії звивистих канальців полягала в тому, що цитоплазма їх була збільшена в розмірах, містила зернистість та прозорі вакуолі, ядра цих клітин часто мали нечіткі обриси. Такий процес відноситься до важкого ступеня оборотного набухання клітини – гідропічної вакуолізації клітини, який охоплював у середньому $94,1 \pm 1,04\%$ епітеліоцитів кіркової речовини нирки. Окремі епітеліоцити були пошкоджені легким ступенем оборотного набухання клітини – гідропічним набуханням, коли в клітині спостерігаються ті самі зміни, що і при гідропічній вакуолізації, але без утворення прозорих вакуолей. У цілому можна констатувати, що після одноразового введення флокаліну суттєво покращувався морфологічний стан клубочків, але не змінювався стан епітелію звивистих канальців нирки, що було зумовлено прямим пошкодженням нефроцитів 2,4-динітрофенолом (рис. 5, А).



А



Б

Рис. 5. Модель гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії. Кіркова речовина нирки щура після разового введення флокаліну (А) і дилтіазему (Б). Білими стрілками вказані епітеліоцити канальців з ознаками гідропічного набухання. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

Після разового введення дилтіазему також спостерігалась позитивна динаміка структурних змін епітеліоцитів у клубочковому та канальцевому відділах нефрону щурів з ГГН (рис. 5, Б). Кількість клубочків з явищами набряку становила $16,3 \pm 0,64\%$, а кількість уражених епітеліоцитів зменшувалась до $70,1 \pm 1,13\%$. Морфологічна картина характеризувалась виключно гідропічним набуханням клітин без вакуолізації цитоплазми і внаслідок прямого пригнічувального впливу дилтіазему на вхід іонів кальцію та зменшення кальцій-опосередкованих патологічних структурно-функціональних реакцій, ступінь пошкодження тубулоцитів зменшувався.

Подальші дослідження показали, що на сьомий день розвитку гострої ГГН підвищувались показники діурезу на 23,3%, каліємії – на 59%, калійурезу – на 121,3%, натріємії – на 15,8%, екскреції креатиніну – на 61,9%, екскреції титрованих кислот – на 55%, екскреції аміаку – на 121,8%; амонійний коефіцієнт зростав у 1,4

раза, протеїнурія за 2 години підвищувалась майже в 6 разів. Після введення 7 днів модуляторів калієвого і кальцієвого току у щурів з ГГГН спостерігалась активація кислоторегулювальної функції нирок, мали місце нерівнозначні зміни протеїнурії та показників електролітного балансу, діурез не змінювався (табл. 4).

Таблиця 4

Функціональний стан нирок у щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на початковій стадії гострої гістогемічної гіпоксії за умов 5% водного навантаження ($\bar{x} \pm S_x$, (n=6))

Показники	Контроль	ГГГН	ГГГН та флокалін	ГГГН та дилтіазем
Діурез, мл/2 год	3,0 $\pm$ 0,15	3,7 $\pm$ 0,16*	3,6 $\pm$ 0,21*	3,7 $\pm$ 0,13*
Концентрація креатиніну в плазмі крові, мкмоль/л	75,8 $\pm$ 3,66	85,7 $\pm$ 7,44	84,8 $\pm$ 4,91	89,4 $\pm$ 4,96
Екскреція креатиніну, мкмоль/л	2,76 $\pm$ 0,208	4,47 $\pm$ 0,335**	3,79 $\pm$ 0,268*	4,62 $\pm$ 0,378**
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	422,2 $\pm$ 10,06	457,9 $\pm$ 12,15	377,9 $\pm$ 39,31	438,6 $\pm$ 40,33
Екскреція білка, мг/100 мкл КФ	0,003 $\pm$ 0,0005	0,016 $\pm$ 0,0012**	0,010 $\pm$ 0,0014*#	0,012 $\pm$ 0,0020*
Екскреція титрованих кислот, мкмоль/2 год	15,2 $\pm$ 1,26	23,6 $\pm$ 1,64**	18,1 $\pm$ 1,35#	15,6 $\pm$ 0,37##
Екскреція аміаку, мкмоль/2 год	26,5 $\pm$ 2,35	58,8 $\pm$ 2,84**	75,8 $\pm$ 9,23**	87,1 $\pm$ 2,53***##
Амонійний коефіцієнт, од	1,77 $\pm$ 0,121	2,52 $\pm$ 0,129**	4,40 $\pm$ 0,765*#	5,58 $\pm$ 0,117***##
Концентрація K ⁺ в плазмі крові, ммоль/л	8,9 $\pm$ 0,13	14,2 $\pm$ 0,66**	11,6 $\pm$ 0,73***#	14,4 $\pm$ 0,41***^
Концентрація K ⁺ в сечі, ммоль/л	5,6 $\pm$ 0,34	10,0 $\pm$ 1,91*	4,8 $\pm$ 0,41#	6,2 $\pm$ 0,68
Екскреція K ⁺ , мкмоль/2 год	16,9 $\pm$ 2,15	37,4 $\pm$ 0,89**	17,2 $\pm$ 1,27##	22,7 $\pm$ 2,03***#^
Концентрація Na ⁺ в плазмі крові, ммоль/л	125,5 $\pm$ 0,90	145,4 $\pm$ 1,94**	137,5 $\pm$ 2,08***#	149,5 $\pm$ 1,80***^
Концентрація Na ⁺ в сечі, ммоль/л	0,27 $\pm$ 0,037	0,38 $\pm$ 0,055	0,22 $\pm$ 0,011#	0,30 $\pm$ 0,020^
Екскреція Na ⁺ , мкмоль/2 год	1,02 $\pm$ 0,188	1,44 $\pm$ 0,210	0,80 $\pm$ 0,620#	1,10 $\pm$ 0,056
Екскреторна фракція Na ⁺ , мкмоль/хв	0,008 $\pm$ 0,0015	0,012 $\pm$ 0,0018	0,007 $\pm$ 0,0005#	0,009 $\pm$ 0,0004^
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/2 год	5,5 $\pm$ 0,88	7,4 $\pm$ 1,11	5,8 $\pm$ 0,70	7,3 $\pm$ 0,74
Дистальний транспорт Na ⁺ , мкмоль/2 год	456,9 $\pm$ 70,68	543,2 $\pm$ 20,78	502,7 $\pm$ 33,94	555,5 $\pm$ 17,62

Примітки: * – достовірність порівняно з контролем (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$); # – достовірність порівняно з ГГГН (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$); ^ – достовірність порівняно з флокаліном ($p < 0,05$).

Привертали увагу значення ШКФ після курсового застосування вазодилататорів флокаліну та дилтіазему. Спільним компонентом фармакодинаміки є зменшення внутрішньоклітинного пулу іонів кальцію, розслаблення гладком'язових клітин судин і вазодилатація. Між тим, усунення системної гіпертензії при активації вазоконстрикторних впливів РААС за умов гіпоксії не завжди нормалізує внутрішньогломерулярний гідростатичний тиск та зменшує пошкодження клубочків. Однак, на тлі введення модуляторів іонних каналів не пригнічувалась екскреторна функція нирок, а також зменшувалась протеїнурія з $0,07 \pm 0,017$ мг/2 год до $0,04 \pm 0,004$ мг/2 год ($p < 0,01$) під впливом флокаліну і до $0,05 \pm 0,008$ мг ($p < 0,01$) під впливом дилтіазему. Свідченням тубулопротекторного впливу флокаліну слугував знижений перерахований за КФ показник протеїнурії (див. табл. 4), а також негативний кореляційний зв'язок між ШКФ і екскрецією білка, стандартизованою за КФ ($r = -0,865$, $p < 0,05$). Дилтіазем не змінював цей важливий показник оцінки тубулярних процесів і механізмів протеїнурії у щурів з гострою ГГН.

Модулятори іонних каналів пригнічували розвиток метаболічного ацидозу за умов ГГН. Зниження виділення титрованих кислот і підвищення амонійного коефіцієнту свідчило про підвищення амоніогенезу в групах пролікованих щурів. Під впливом флокаліну зменшувався характерний для метаболічного ацидозу та прогресування нефропатії підвищений вміст іонів калію в плазмі крові. Разом з тим, трансканальцевий транспорт іонів калію підвищувався в бік реабсорбції катіону, що перешкоджало негативному калієвому балансу. Дилтіазем проявляв більш виражений калійуретичний ефект, однак не зменшував гіперкаліємію у щурів з ГГН, що, можливо, було наслідком збереження альдостеронозалежної апікальної калієвої провідності при гіпоксичному пошкодженні канальців.

Зниження втрат іонів натрію з сечею у щурів з ГГН під впливом флокаліну забезпечувалось клубочково-канальцевим балансом: ШКФ прямо корелювала з проксимальним транспортом іонів натрію ($r = 0,996$, $p < 0,001$). Відомо, що за умов дії цитотоксиканту 2,4-динітрофенолу рівень АТФ у ниркових канальцях зменшується вдвічі [Путилина Ф.Е., Ещенко Н.Д., 1971]. Активація K_{ATP} каналів приводила до відтворення природного збалансування енергетичного метаболізму в клітинах [Струтинський Р.Б. і співавт., 2012, Nichols C.G., 2006]. Зростала інтенсивність головного енергозалежного процесу ниркових канальців – реабсорбції іонів натрію, на що вказувала знижена екскреторна фракція цього осмотично активного електроліту. Порівняно з ефектом флокаліну, після введення дилтіазему екскреторна фракція іонів натрію збільшувалась.

Мікроскопічна картина нирок на 7 день розвитку ГГН характеризувалась аналогічними, як і в перший день моделювання комбінованого гіпоксичного гемічного і цитотоксичного пошкодження нефроцитів, змінами структурного стану нирок (див. рис. 4).

Після застосування активатора K_{ATP} каналів у щурів з ГГН структурний стан клубочків нирок практично не відрізнявся від морфологічної характеристики у інтактних щурів. Так, після введення флокаліну явища набряку спостерігались у $0,5 \pm 0,06\%$ клубочків, а про покращення стану епітелію звивистих канальців свідчило те, що лише в $60,1 \pm 0,98\%$ епітеліоцитів спостерігались явища оборотного

набухання клітини, причому близько половини клітин мали ознаки легкого ступеня цієї патології, тобто – гідропічного набухання без вакуолізації. Отже, порівняно з одноразовою фармакологічною активацією K_{ATP} каналів (див. рис. 5, А), після введення флокаліну 7 днів суттєво покращувався морфологічний стан епітеліоцитів звивистих каналців, але не змінювалась структура клубочків нирки (рис. 6).

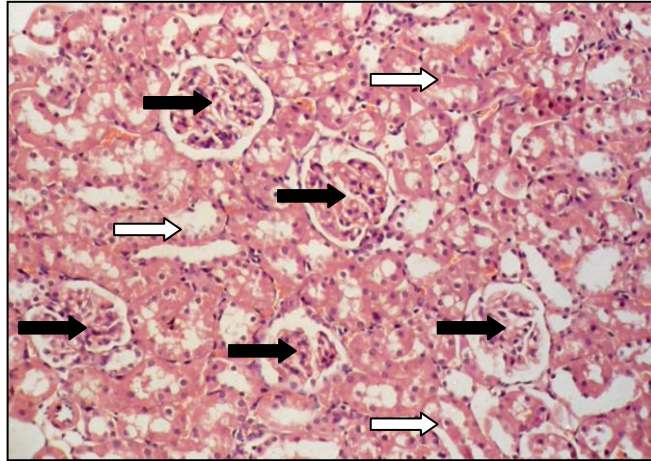


Рис. 6. Модель гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії. Кіркова речовина нирки щура після семиразового введення флокаліну. Білими стрілками вказані каналці звичайної будови. Чорними стрілками вказані клубочки звичайної будови. Гематоксилін-еозин. $\times 100$.

Слід вказати на те, що після введення 7 днів дилтіазему результати були такими, як і після його разового застосування (див. рис. 5, Б). Під впливом блокатора кальцієвого току число клубочків з явищами набряку становило $17,0 \pm 0,95\%$, а пошкоджених епітеліоцитів – $67,5 \pm 1,09\%$. Тип пошкодження епітеліоцитів характеризувався як легкий ступінь оборотного набухання клітини – гідропічне набухання без вакуолізації цитоплазми. Таким чином, у порівнянні з динамічною перебудовою структури нирок, залежною від кратності введення флокаліну, морфологічна картина після разового і семиденного застосування дилтіазему на тлі енергодефіциту нефроцитів і формування початкової стадії розвитку ГГН практично не відрізнялась.

Функціональний стан нирок у щурів з хронізацією ГГН характеризувався зниженням діурезу з $4,8 \pm 0,12$ мл/2 год до $4,3 \pm 0,18$ мл/2 год ($p < 0,05$), ШКФ – з $514,6 \pm 39,26$ мкл/хв до $327,9 \pm 25,68$ мкл/хв ($p < 0,01$), відносної реабсорбції води – з $91,83 \pm 0,702\%$ до $88,84 \pm 0,632\%$ ($p < 0,01$), кліренсу вільної від іонів натрію води – з $4,76 \pm 0,112$ мл/2 год до $4,27 \pm 0,181$ мл/2 год ($p < 0,05$). Ренальні ускладнення у віддаленому постгіпоксичному періоді проявлялись порушенням водорегулювальної функції нирок і були зумовлені кількісними (гіпофільтрація) змінами ШКФ, що підтверджувало наявність патологічного процесу в нирках. Зменшення обсягу фільтрації було результатом і функціонально-перфузійних, і структурно-динамічних порушень, можливих за умов поєднання зменшення кортикального кровообігу, збільшення внутрішньониркового тиску, порушення трофіки гломерулярної базальної мембрани, сповільнення реабсорбції води в каналцях.

Фармакологічна активація K_{ATP} каналів протягом 7 днів на тлі хронічного пошкодження нирок спричинила підвищення ШКФ, що відображало екстраренальні впливи флокаліну, а також – покращення ауторегуляції ниркового кровотоку, від якого залежать клубочкові та канальцеві процеси. Після введення флокаліну ШКФ зростала до $610,8 \pm 51,41$ мкл/хв ($p < 0,001$), під впливом модулятора кальцієвого току показник клубочкових процесів у щурів з ГГН практично не змінювався (рис. 7).

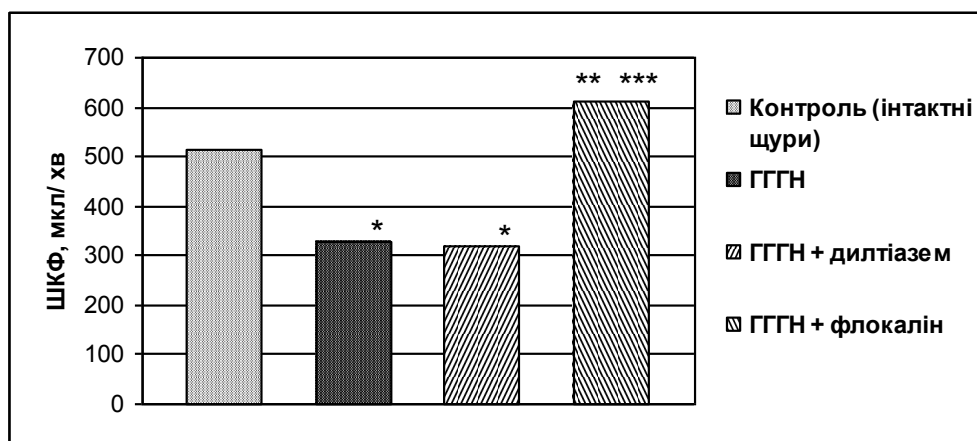


Рис. 7. Зміни швидкості клубочкової фільтрації у щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов з хронізації ГГН.

Примітки: * – достовірність порівняно з контролем ($p < 0,01$); ** – достовірність порівняно з ГГН ($p < 0,001$); *** – достовірність між пролікованими групами щурів ($p < 0,001$).

Порушення процесу фільтрації у щурів з хронічним гіпоксичним пошкодженням нирок також проявлялись якісними змінами – клубочковою протеїнурією. Збільшувалась з $0,018 \pm 0,0013$ г/л до $0,026 \pm 0,0009$ г/л ($p < 0,001$) концентрація білка в сечі, підвищувалась до $0,112 \pm 0,0022$ мг/2 год екскреція білка проти $0,088 \pm 0,0054$ мг/2 год ($p < 0,01$) у інтактних щурів. Під впливом флокаліну та дилтіазему у щурів з хронічним пошкодженням нирок концентрація білка в сечі не змінювалась. Був виявлений непрямий кореляційний зв'язок ШКФ зі стандартизованою за 100 мкл КФ екскрецією білка лише після введення флокаліну ($r = -0,901$, $p < 0,05$), що вказувало на підвищення реабсорбції протеїнів у проксимальних канальцях. Порівняно з контролем, показник протеїнурії у щурів з ГГН збільшувався з $0,018 \pm 0,0023$ мг/100 мкл КФ до $0,035 \pm 0,0026$ мг/100 мкл КФ ($p < 0,01$), під впливом флокаліну – зменшувався до $0,017 \pm 0,0014$ мг/100 мкл КФ ($p < 0,001$), а після введення дилтіазему – становив $0,042 \pm 0,0043$ мг/100 мкл КФ і лишався більшим, ніж у контрольних щурів ($p < 0,01$). Корекція флокаліном гломерулярних процесів відображалась активацією екскреторної функції нирок, між показниками ШКФ та екскреції креатиніну був прямий кореляційний зв'язок ($r = 0,902$, $p < 0,05$). Під впливом активатора K_{ATP} каналів концентрація креатиніну в плазмі крові знижувалась з $90,6 \pm 2,88$ мкмоль/л до $79,5 \pm 3,00$ мкмоль/л ($p < 0,05$), концентрація креатиніну в сечі зростала з $0,82 \pm 0,031$ ммоль/л до $1,32 \pm 0,094$ ммоль/л ($p < 0,01$), збільшувалась з $3,5 \pm 0,23$ мкмоль/2 год до $5,8 \pm 0,05$ мкмоль/2 год ($p < 0,001$).

екскреція креатиніну. Після введення дилтіазему концентрація креатиніну в сечі і його екскреція були на рівні контролю, однак показник креатинінемії був вище, ніж у всіх досліджуваних групах ($108,0 \pm 4,00$ мкмоль/л, $p < 0,01$). Концентраційний індекс ендogenous креатиніну, який у щурів з ГГН знижувався до $9,1 \pm 0,47$ од проти $12,9 \pm 1,18$ од у контролі ($p < 0,05$), зростав під впливом флокаліну до $16,7 \pm 1,16$ од ($p < 0,01$), не змінювався після введення дилтіазему і був нижче, порівняно з дією активатора K_{ATP} каналів ($p < 0,01$). Отримані дані вказують на покращення концентраційної здатності нирок лише під впливом флокаліну.

Відносно інтактних щурів, реакція рН сечі не змінювалась у всіх досліджуваних групах. Разом з тим, у щурів з ГГН екскреція титрованих кислот знижувалась з $49,3 \pm 1,82$ мкмоль/2 год до $25,6 \pm 1,65$ мкмоль/2 год ($p < 0,001$), екскреція аміаку зменшувалась з $97,2 \pm 3,20$ мкмоль/2 год до $74,4 \pm 3,87$ мкмоль/2 год ($p < 0,01$). Дилтіазем не впливав на ці показники. Під впливом флокаліну екскреція титрованих кислот збільшувалась до $50,8 \pm 7,56$ мкмоль/2 год ($p < 0,05$), екскреція аміаку підвищувалась до $232,4 \pm 42,32$ мкмоль/2 год ($p < 0,01$). Вказані відмінності кислоторегулювальної функції нирок відображались змінами показників калієвого обміну. На момент дослідження не відмічалось змін каліємії у щурів з ГГН. Після введення флокаліну зменшувалась з $6,0 \pm 0,30$ ммоль/л до $4,3 \pm 0,58$ ммоль/л ($p < 0,05$) концентрація іонів калію в сечі, понижувався калійурез з $25,8 \pm 1,92$ мкмоль/л до $19,1 \pm 1,79$ мкмоль/л ($p < 0,05$). Зважаючи на основну регуляторну роль альдостерону в підтримці калієвого балансу, можна припустити зниження активності РААС під впливом флокаліну у щурів з хронічним патологічним процесом нирок.

Після впливом флокаліну змінювались каналцеві процеси, на що вказували показники транспорту іонів натрію у щурів з ГГН (табл. 5).

Таблиця 5

Вплив флокаліну та дилтіазему (7 днів, по 5 мг/кг) на показники обміну іонів натрію у щурів за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії на тлі 5% водного навантаження ($x \pm Sx$, $n=7$)

Показники	Контроль	ГГН	ГГН та флокалін	ГГН та дилтіазем
Концентрація Na^+ в плазмі крові, ммоль/л	$115,5 \pm 3,20$	$115,0 \pm 4,50$	$116,7 \pm 4,17$	$117,9 \pm 3,61$
Фільтраційна фракція Na^+ , мкмоль/хв	$59,0 \pm 4,60$	$38,2 \pm 3,78^*$	$71,1 \pm 5,92_{##}$	$37,6 \pm 4,25^{*^^}$
Відносна реабсорбція Na^+ , %	$99,94 \pm 0,010$	$99,94 \pm 0,015$	$99,98 \pm 0,004^{**\#}$	$99,91 \pm 0,026^{\wedge}$
Абсолютна реабсорбція Na^+ , мкмоль/хв	$58,9 \pm 4,60$	$38,1 \pm 3,79^*$	$71,1 \pm 5,91_{##}$	$37,5 \pm 4,25^{*^^}$
Екскреція Na^+ , мкмоль/100 мкл КФ	$0,77 \pm 0,165$	$0,78 \pm 0,178$	$0,34 \pm 0,068^{*\#}$	$1,21 \pm 0,337^{\wedge}$
Дистальний транспорт Na^+ , мкмоль/100 мкл КФ	$0,94 \pm 0,104$	$1,26 \pm 0,035^*$	$0,71 \pm 0,058_{##}$	$1,40 \pm 0,126^{*^^}$

Примітки: * – достовірність порівняно з контролем (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$); # – достовірність порівняно з ГГН (# – $p < 0,05$, ## – $p < 0,01$); ^ – достовірність порівняно з флокаліном (^ – $p < 0,05$, ^^ – $p < 0,01$).

Після введення дилтіазему абсолютна реабсорбція іонів натрію знижувалась, навіть на тлі підвищення дистального транспорту цього електроліту. Збільшувались втрати іонів натрію з сечею, не відновлювалась реабсорбційна здатність каналців для води і показник відносної реабсорбції води, як і у щурів з ГГН, був нижче за контроль. Під впливом активатора K_{ATP} каналів зміни фільтраційного заряду іонів натрію відповідали динаміці ШКФ: фільтраційна фракція іонів натрію зростала. Підвищення відносної, абсолютної реабсорбції іонів натрію, зменшення стандартизованого за КФ натрійурезу, а також збільшення зниженої при ГГН відносної реабсорбції води до $93,85 \pm 0,410\%$ ($p < 0,001$) свідчили про збалансування клубочково-канальцевих процесів і вказували на тубулопротективні властивості флокаліну. Дистальний транспорт іонів натрію зменшувався, що підтверджувало зниження впливів альдостерону і також відповідало регуляторним механізмам канальцево-канальцевого балансу. На користь тубулопротекторної дії слугували зміни проксимальної реабсорбції іонів натрію під впливом флокаліну (рис. 8).

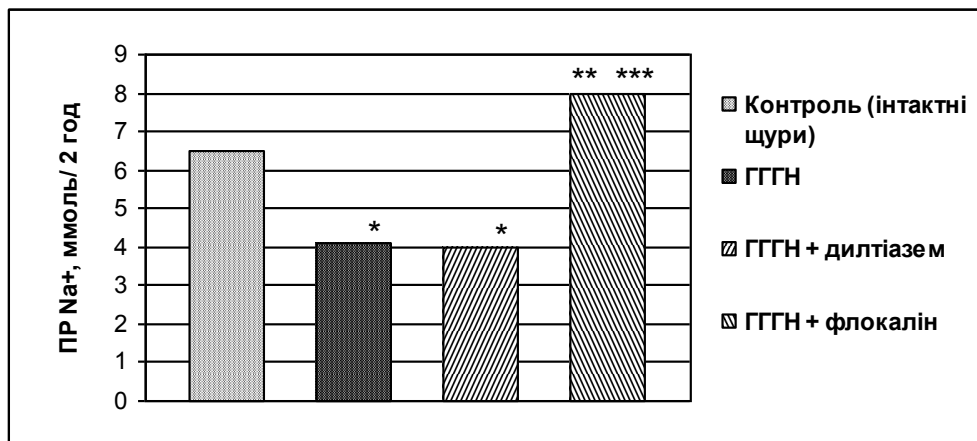


Рис. 8. Зміни проксимальної реабсорбції іонів натрію після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов хронізації ГГН у щурів.

Примітки: * – достовірність порівняно з контролем ($p < 0,05$), ** – достовірність порівняно з ГГН ($p < 0,01$), *** – достовірність між пролікованими групами ($p < 0,01$), ПР – проксимальна реабсорбція іонів натрію.

У щурів з хронічним патологічним процесом показник проксимального транспорту іонів натрію становив $4,1 \pm 0,43$ ммоль/2 год проти $6,5 \pm 0,54$ ммоль/2 год у контролі і різниця дорівнювала 37%. На відміну від дії дилтіазему, фармакологічна активація K_{ATP} каналів спричинила підвищення до $8,0 \pm 0,70$ ммоль/2 год проксимальної натрієвої реабсорбції (на 95%), що на тлі антипротейнуричного ефекту і підвищення ШКФ підтверджувало ренопротективні властивості флокаліну. Дилтіазем практично не впливав на маркери прогресування патології. Відмінності нефротропної дії були, можливо, пов'язані зі збереженим підвищеним тонусом РААС при ГГН, що співпадало з науковими даними про відсутність позитивних впливів дилтіазему на кровопостачання нирок [Meyer F. et al., 2010], а також вказувало на недостатнє усунення енергодефіциту в канальцях.

За умов хронізації ГГГН, переважно в кортикальному шарі нирок, мали місце три морфологічних явища. Перші два – були проявами хронічної патології (гіпоксії) і полягали в осередковому фіброзі стромі кіркової речовини та атрофії $18,0 \pm 0,9\%$ епітеліоцитів каналців. Також слід вказати на атрофію окремих клубочків нирки. Третє явище відноситься до патології, яка може розвиватися як при гострій так і при хронічній гіпоксії – це оборотне набухання (гідропічне набухання та гідропічна вакуолізація) епітелію звивистих каналців, цей процес поширювався на $64,0 \pm 1,2\%$ епітеліоцитів звивистих каналців (рис. 9).

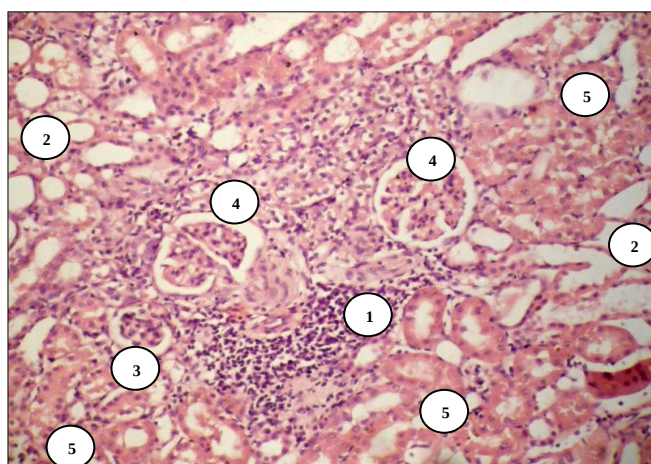
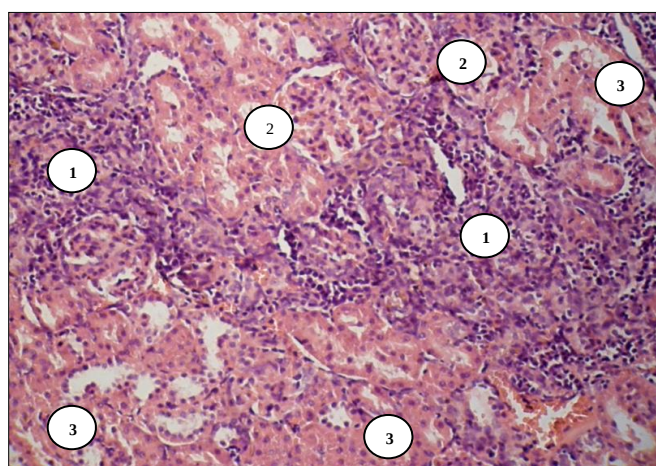
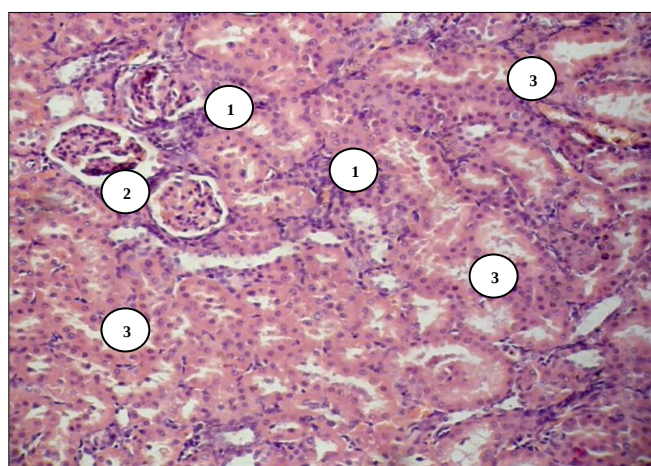


Рис. 9. Модель хронізації гістогемічної гіпоксичної нефропатії. Кіркова речовина нирки щура. 1 – осередок фіброзу стромы. 2 – осередки атрофії епітелію звивистих каналців. 3 – атрофований клубочок. 4 – незмінені клубочки. 5 – звивисті каналці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Дослідження після введення 7 днів флокаліну і дилтіазему встановили практично аналогічну картину морфологічних змін нирок (рис. 10).



А



Б

Рис. 10. Модель хронізації гістогемічної гіпоксичної нефропатії. Кіркова речовина нирки щура після введення 7 днів флокаліну (А) і дилтіазему (Б). 1 – осередок фіброзу стромы. 2 – незмінені клубочки. 3 – звивисті каналці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин. $\times 200$.

Характерними структурними особливостями для обох груп пролікованих тварин було те, що фіброз строми залишався на рівні контролю, хоча атрофічних явищ у каналцях та клубочках не виявлено. Під впливом флокаліну оборотне набухання поширювалося на $58,0 \pm 1,1\%$ звивистих каналців (див. рис. 10, А). Після введення дилтіазему оборотне набухання поширювалося на $59,0 \pm 1,4\%$ епітеліоцитів звивистих каналців пошкоджених гіпоксією нирок (див. рис. 10, Б).

Отже, після поєднання в нашій експериментальній моделі чинників гістотоксичної і гемічної гіпоксії, гемоглобінова дисфункція та біоенергетичні порушення нефроцитів відображались на структурній організації клубочкового та каналцевого відділів нефрону. Морфологічна картина гіпоксичної нирки залежала від терміну з моменту комбінованого впливу нефротоксикантів і в структурному плані мала більше патологічних ознак на початковій стадії розвитку ГГН. У цих дослідженнях позитивна структурна перебудова була більш вираженою під впливом флокаліну, головним чином, через зміни функціонального стану K_{ATP} каналів, посилення біохімічної активності та енергетичного метаболізму в нефроцитах. Помірність морфологічних змін, яка спостерігалась після введення флокаліну та дилтіазему, починаючи з 30 дня розвитку ГГН, була опосередкована їх спільними кальцій-залежними ефектами на тлі власних компенсаторно-адаптивних реакцій організму на гіпоксію.

Дослідження функціонального стану нирок після поєданого введення модуляторів калієвого і кальцієвого току з еналаприлом. Для з'ясування ролі РААС у ренальних механізмах флокаліну, його ефекти порівнювали зі змінами функціонального стану нирок після комбінованого застосування з ІАПФ еналаприлом протягом 7 днів. Було встановлено, що на тлі пригнічення активності РААС, зберігався стимулюючий вплив флокаліну на ШКФ, екскреторну функцію нирок, відносну реабсорбцію води, проксимальний транспорт іонів натрію. За рахунок зменшення дистальної реабсорбції виникав характерний для зниженої мінералокортикоїдної активності натрійуретичний ефект, однак зберігався нормальний рівень натріємії і каліємії. Відомо, що при застосуванні інгібіторів РААС виникає гіперкаліємія. Позитивні кореляційні залежності між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію ($r=0,889$, $p<0,05$), між ШКФ і абсолютною реабсорбцією цього електроліту ($r=0,887$, $p<0,05$), між ШКФ і екскрецією креатиніну ($r=0,819$, $p<0,05$) свідчили про збалансованість факторів судинних і гуморальних механізмів КФ на тлі поєднаної дії вазоактивних сполук. Збереження гомеостатичних процесів виключало залежність нефротропної дії флокаліну лише від стану РААС та дозволяло зробити висновок про доцільність досліджень комбінованого застосування фторвмісного активатора K_{ATP} каналів з блокаторами РААС. Не виключено, що різниця локалізації механізмів дії активатора калієвого і блокатора кальцієвого току забезпечить ефективну органопroteкцію.

За умов поєднання з еналаприлом, калій- і натрійуретичний ефекти дилтіазему зберігались, знижувався дистальний транспорт іонів натрію, в межах норми був рівень калій- і натріємії. Разом з тим, порівняно з монотерапією, спостерігалось зменшення ШКФ і екскреції креатиніну. Зниження ШКФ за умов комбінації препаратів особливо заслуговує на увагу в контексті побічних ефектів ІАПФ, а саме

– розвитку ниркової недостатності через зниження тонуусу приносної та виносної артеріол нирок.

Дослідження стану протеолізу/фібринолізу після введення модуляторів іонних каналів за умов розвитку сулемової та гіпоксичної нефропатії. Патогенетичним підґрунтям нефрологічної патології є накопичення в тканині нирок компонентів екстрацелюлярного матриксу, в тому числі – колагенів I, III, IV типів, які формують гломерулосклероз, інтерстиційний фіброз, редукцію функціонуючої ниркової маси [Neilson E.G., 2006], посилюють внутрішньосудинну коагуляцію з відкладанням фібрину в судинах нирок і послідовною заміною ділянками гіалінозу та склерозу. В зв'язку з цим, наступним етапом роботи було дослідження впливу флокаліну та дилтіазему на показники протеолітичної та фібринолітичної активності. Оцінка протеолізу в перший день введення сулеми показала зростання ($p < 0,01$) лізису азоколагену в кірковій, мозковій речовині та в сосочку нирок. На сьомий день розвитку гострої сулемової нефропатії збільшувався ($p < 0,05$) лізис азоколагену в сечі, в кірковому та мозковому шарі нирок. Відомо, що виявлення до проявів альбумінурії колагену IV типу в сечі має прогностичне значення і корелює зі стадією хвороби [Бондарь И.А. и соавт., 2011]. Підтверджували структурні зміни нефроцитів підвищений лізис азоказеїну в плазмі крові ($p < 0,05$), сечі ($p < 0,001$) та в кірковій речовині ($p < 0,05$) у перший день розвитку нефропатії, а також аналогічна динаміка показника в тканинах нирок через тиждень після пошкодження сулемою. Активація лізису низькомолекулярного білка альбуміну в плазмі крові ($p < 0,001$), сечі ($p < 0,01$) і в кірковій речовині нирок ($p < 0,01$) також засвідчувала деструкцію нефроцитів за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії. Отримані дані співпадають з результатами [Бойчук Т.М., Роговий Ю.Є., 2012], які вказували на активацію протеїназ та їх участь в утворенні, модифікації та інактивації ферментів при гострих патологічних процесах. За умов хронізації сулемової нефропатії зменшувалась протеолітична активність у плазмі крові, сечі та в тканинах нирок за лізисом високо- і низькомолекулярних білків ($p < 0,05$). У відповідь на хронічне пошкодження, пониження інтенсивності протеолізу прискорює фіброзування тканин нирок [Ли О.А., 2011].

Після застосування флокаліну за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії динамічні зміни протеолізу сприяли наближенню показників до значень контролю, за винятком лізису азоказеїну сечі в день моделювання патології. Після разової активації K_{ATP} каналів у кірковій речовині нирок лізис альбуміну знижувався на 39% ($p < 0,05$), лізис азоколагену в кірковому, мозковому шарі і в сосочку нирок зменшувався, відповідно, на 32,9% ($p < 0,05$), на 40,6% ($p < 0,05$) і на 67% ($p < 0,01$). Після введення 7 днів флокаліну протеолітична активність за лізисом азоказеїну і азоколагену в кірковому шарі зменшувалась, відповідно, на 40,5% ($p < 0,01$) і на 26,9% ($p < 0,01$). Механізмами дії флокаліну, як і інших коректорів протеолізу, можуть бути вазодилатація, здатність інгібувати перекисне окиснення ліпідів, зменшувати надмірний рівень NO в тканинах, збільшувати антиоксидантну активність супероксиддисмутази [Струтинський Р.Б., 2009, Струтинський Р.Б. і співавт., 2012], що в цілому відновлює фізіологічний рівень вільно-радикального окиснення, стан ліпідного шару біологічних мембран іонних каналів, а також модулює активність ферментів і протеїназо-інгібіторний баланс. За умов хронізації

сулемової нефропатії під впливом флокаліну нормалізувався понижений лізис за азоальбуміном і за азоколагеном у плазмі крові та сечі. Підвищувались і досягали значень контролю показники протеолізу низько- і високомолекулярних білків у тканинах нирок. Розпад колагену понижувався на 30% ($p < 0,05$) у кірковому та на 39,4% ($p < 0,05$) у мозковому шарі нирок, що вказувало на пригнічення індукованого гіпоксією інтерстиційного фіброзу [Haase V.H., 2009], а також на збільшення під впливом флокаліну функціональних можливостей проксимальних каналців щодо реабсорбції іонів натрію та білка.

Після введення дилтіазему щурам з сулемовим пошкодженням нирок позитивна динаміка показників лізису альбуміну була статистично значуща лише в плазмі крові ($p < 0,05$) та в сечі ($p < 0,05$) у перший день моделювання патології, при хронічному пошкодженні – в сечі ($p < 0,05$) та в кірковій речовині нирок ($p < 0,05$). Підвищення протеолізу після введення блокаторів кальцієвих каналів також констатували інші дослідники [Василинчук Н.Н., 2004]. У той же час лізис високомолекулярних білків під впливом дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії був значно нижчим, ніж після введення флокаліну ($p < 0,05$). Суттєве зниження розпаду колагену може індукувати ренальний фіброз.

Стан фібринолізу в перший день розвитку гострої сулемової нефропатії характеризувався зниженням СФА в плазмі крові на 75% ($p < 0,01$), в сечі – на 13,9% ($p < 0,05$), у кірковій і мозковій речовині на – 34,8% і на 32,8% ($p < 0,05$), відповідно. На 7 день розвитку токсичної патології нирок СФА була знижена в кірковій речовині на 33,4% ($p < 0,01$). Після застосування флокаліну СФА відновлювалась, за винятком показника у кірковій речовині на 7 день розвитку сулемової нефропатії. В усіх серіях експериментів під впливом флокаліну зростала ФФА, що свідчить про підвищення активності ферменту урокінази, покращення реологічних властивостей крові та мікроциркуляції в нирках. За умов хронічного пошкодження нирок знижувалась ФФА плазми крові на 62,1% ($p < 0,05$), сечі – на 40% ($p < 0,05$). Після введення флокаліну показник ферментативного фібринолізу збільшувався ($p < 0,05$) в плазмі крові на 118%, у сечі – на 162%, у сосочку нирок – на 18%. Під впливом дилтіазему, завдяки реалізації кальцій-модулюючих механізмів підтримки реології крові, підвищувалась СФА плазми крові та сечі в перший день моделювання патології, в тканинах нирок – на 7 день розвитку гострої нефропатії та при хронізації процесу. Однак зниження, порівняно з контролем, ФФА на 60% ($p < 0,05$) у кірковому шарі та на 43% ($p < 0,05$) у сосочку нирок після введення 7 днів дилтіазему за умов розвитку гострої сулемової нефропатії вказує на пригнічену активність ферменту урокінази, яка синтезується в епітелії каналців нирок і є активатором плазміногену [Zhang G. et al., 2003].

У перший день моделювання ГГГН підвищувався в сечі ($p < 0,05$) лізис азоальбуміну на 41,6%, лізис азоказеїну – на 25,5%. Збільшувались показники ($p < 0,05$) колагеназної активності в кірковій речовині (на 17,3%), лізису азоказеїну в мозковому шарі (на 33%), лізису азоальбуміну (на 32,4%) і азоказеїну (на 18,7%) у сосочку нирок. Спостерігалась аналогічна динаміка показників протеолізу на 7 добу розвитку ГГГН. Руйнівні ефекти протеолітичних ферментів за умов гіпоксичного пошкодження організму спрямовані, перш за все, на сполучнотканинні компоненти строми, гістогемічні бар'єри, білкові та глікопротеїдні складові клітинних мембран.

Після застосування флокаліну та дилтіазему мало місце пригнічення протеолізу. Слід зауважити, що захисний вплив досліджуваних модуляторів іонних каналів проявлявся по відношенню до всіх підвищених за умов гострого періоду ГГН показників лізису та деструктуризації білків.

Виявлене через 7 діб розвитку ГГН зниження ($p < 0,05$) СФА плазми крові – на 41,7%, сечі – на 26,9%, мозкової речовини нирок – на 25,2% свідчить про пошкодження проксимального відділу нефрону і зменшення продукції урокінази. Зниження вазоконстрикції під впливом флокаліну приводило до покращення кровообігу нирок, зменшення ішемії кіркової речовини, збільшення виділення урокінази в юктагломерулярному апараті [Yamaguchi I. et al., 2003], проксимальних каналцях, збільшення СФА сечі на 59,7% ($p < 0,05$) і нормалізації цього показника в мозковому шарі за рахунок збільшення ФФА. Активація ферментативного фібринолізу свідчить про покращення стану епітелію каналців нирок під впливом флокаліну за умов ГГН і є важливою прогностичною ознакою динаміки гомеостатичної діяльності нирок [Humphreys B.D. et al., 2008, Singh P. et al., 2005]. Після введення 7 днів флокаліну також підвищувалась в сечі (на 10%, $p < 0,05$) і в сосочку нирок (на 57,1%, $p < 0,01$) НФА, яка зумовлена комплексними сполуками гепарину з тромбогенними білками, біогенними амінами, гормонами, що здійснюють конформаційні зміни в молекулі фібрину-S [Кудряшов Б.А., 1975]. Для дії флокаліну притаманно зменшення утворення окиснених метаболітів арахідонової кислоти, в тому числі і тромбоксану B_2 [Струтинський Р.Б. і співавт., 2012]. На думку цих науковців, зменшення вмісту вільної арахідонової кислоти, можливо, відбувається завдяки інгібуванню флокаліном L-типу кальцієвих каналів цитоплазматичної мембрани, що супроводжується зниженням концентрації іонів кальцію в цитоплазмі та пригніченням активності кальцій-залежних ферментів, зокрема фосфоліпази A_2 . У свою чергу, покращення фібринолітичної активності перешкоджає розвитку уротромбозу в просвіті каналців нефрону, який значно погіршує перебіг нефрологічних захворювань.

На стадії хронізації ГГН також підвищувався ($p < 0,05$) протеоліз сечі за лізисом низько-, високомолекулярних білків та колагену, відповідно на 55,1%, на 105,5% і на 137,5%. Протеолітична активність нирок збільшувалась ($p < 0,05$) у кірковій речовині за лізисом азоальбуміну – на 85,1% і за лізисом азоколагену – на 21,4%; у мозковому шарі зростав розпад азоальбуміну на 36,1% і азоказеїну на 43,4%. Підвищення протеолізу було наслідком руйнування пошкоджених гіпоксією тканин і провідним фактором пошкодження нефроцитів. Активація лізису колагену була зумовлена метаболічним ацидозом з лабілізацією ферментів лізосом, таких як колагеназа. Роль активації K_{ATP} каналів полягає в збереженні енергоресурсів клітин, відновленні активності ферментів антиоксидантної системи, в тому числі і супероксиддисмутази [Струтинський Р.Б. і співавт., 2012]. Ймовірно, що наслідками цього є гальмування механізмів формування характерного для прогресування нефропатій гепаторенального синдрому [Бойчук Т.М., Роговий Ю.Є., 2012], відповідно, покращення окремих показників протеолізу. Під впливом флокаліну лізис азоальбуміну в кірковій речовині нирок знижувався на 63,2% ($p < 0,05$), у мозковому шарі розпад низько- і високомолекулярних білків зменшувався більше, ніж на 60% ($p < 0,05$). Привертав увагу захисний вплив флокаліну на колагеназну

активність і відновлення контрольного рівня показника в кірковому шарі нирок. Основним субстратом фіброзу є колаген, що входить до складу не тільки колагенових фібрил гломерулярної базальної мембрани, але і до аморфної речовини сполучної тканини. При гіпоксії підвищується розщеплення колагенових волокон протеолітичними ферментами, які виділяються з фагоцитів. Встановлено, що зниження активності супероксиддисмутази супроводжується колагеназною активністю [Гоженко А.І., Роговий Ю.Є., 2002], спрямованою на деградацію, в тому числі, дефектного колагену. Підвищений лізис азоказеїну в мозковій речовині засвідчував активацію репаративних процесів після введення флокаліну.

Особливістю дії дилтіазему за умов хронізації ГГН було відновлення протеолітичної активності в кірковій речовині за лізисом азоальбуміну і азоказеїну. Однак суттєво пригнічувався протеоліз ($p < 0,001$) низькомолекулярних білків у мозковому шарі (на 76%) і високомолекулярних протеїнів у сосочку нирок (на 60%). Пригнічувальні впливи дилтіазему на протеоліз могли бути наслідком недостатнього, порівняно з активатором K_{ATP} каналів, відновлення енергоресурсів за рахунок змін реологічних властивостей крові, на що вказувала зменшена на 44,4% ($p < 0,05$), порівняно з контролем, ФФА сечі та сосочку нирок.

Ефекти флокаліну і дилтіазему опосередковуються через інгібіцію входу іонів кальцію в клітини, що зумовлює схожість спектру та механізмів багатогранної дії цих модуляторів іонних каналів. Високий рівень іонів кальцію активує нейтральні протеази, які руйнують цитоскелет, що проявлялось підвищенням протеолізу за умов розвитку гіпоксичної нефропатії. Надто важливою є роль дезінтеграції мітохондріальних мембран у механізмах гіпоксичного некробіозу клітин [Parikh S.M., 2013], у тому числі і нефроцитів. Не виключено, що саме завдяки прямій активації K_{ATP} каналів мітохондрій ініціювались тригерні антигіпоксичні реакції, стабілізувались процеси окислювального фосфорилування, підвищувалась стійкість клітин до гіпоксії. За умов постгіпоксичних функціонально-біохімічних змін нирок флокалін відновлював реакції протеолізу, збільшував ФФА ($p < 0,05$) у сечі (на 45,6%) і в кірковому шарі нирок (на 56,8%), що вказувало на пригнічення кальцій-активуючих коагуляційних і тромбоцитарних ланцюгів гомеостазу. Перевагами є те, що на тлі закономірної вазодилатації завдяки активації K_{ATP} каналів гладеньких м'язів і збільшенні (чи підтримки) кровообігу нирок, покращуються реологія крові, мікроциркуляція, енергетичний метаболізм, які в сукупності забезпечують переважний захист нефроцитів флокаліном.

Дослідження стану енергетичного обміну після введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку сулемової та гіпоксичної нефропатії. Беззаперечним фактом є те, що «зменшення кількості реабсорбованого іону натрію нирками в цілому та функціонуючими нефронами поєднується з порушенням окислювального фосфорилування і зменшенням кількості АТФ в мітохондріях кіркової речовини нирок» [Гоженко А.І., 1987]. Враховуючи провідну роль енергетичного обміну в патогенетичних механізмах ренальної дисфункції, нами досліджувалась у кірковому шарі нирок активність двох ферментів: ЛФ, яка бере участь в обміні фосфорної кислоти, транспорту фосфору та СДГ – маркеру стану мітохондрій. Розвиток сулемової нефропатії і ГГН характеризувався зниженням активності ЛФ і СДГ у тканинах нирок, що співпадало з результатами інших досліджень енергетики

пошкодженої нирки [Гоженко А.И., 1987, Белявский В.В., 2014, Дікал М.В., 2014] і свідчило про порушення процесів у канальцевому відділі нефрону (табл. 6, 7).

Таблиця 6

**Показники енергетичного обміну в кірковій речовині нирок щурів
після введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку
сулемової нефропатії ($x \pm Sx$, $n=6$)**

Показники	Сулемова нефропатія	Сулемова нефропатія та флокалін	Сулемова нефропатія та дилтіазем
Разове введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої сулемової нефропатії			
Активність ЛФ, од	95,6 $\pm$ 5,10	107,6 $\pm$ 1,44*	108,1 $\pm$ 1,50*
Активність СДГ, од	24,0 $\pm$ 2,49	31,1 $\pm$ 1,73*	27,5 $\pm$ 2,33
Введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов гострої сулемової нефропатії			
Активність ЛФ, од	50,9 $\pm$ 0,66	55,1 $\pm$ 1,06*	52,2 $\pm$ 0,76#
Активність СДГ, од	28,6 $\pm$ 1,32	39,0 $\pm$ 4,49*	35,6 $\pm$ 3,82
Введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії			
Активність ЛФ, од	76,1 $\pm$ 3,02	113,7 $\pm$ 6,14**	103,2 $\pm$ 2,14**
Активність СДГ, од	24,3 $\pm$ 3,90	38,1 $\pm$ 4,22*	37,9 $\pm$ 2,20*

Примітки: * – достовірність порівняно з сулемовою нефропатією
(* – $p \leq 0,05$, ** – $p < 0,01$), # – достовірність порівняно з дією флокаліну ($p \leq 0,05$).

Таблиця 7

**Показники енергетичного обміну в кірковому шарі нирок щурів
після введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку
гіпоксичної гістогемічної нефропатії ($x \pm Sx$, $n=6$)**

Показники	ГГГН	ГГГН та флокалін	ГГГН та дилтіазем
Разове введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку гострої ГГГН			
Активність ЛФ, од	100,8 $\pm$ 6,75	116,3 $\pm$ 1,32*	113,6 $\pm$ 2,59
Активність СДГ, од	12,2 $\pm$ 1,82	18,01 $\pm$ 1,81*	16,5 $\pm$ 2,66
Введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов розвитку гострої ГГГН			
Активність ЛФ, од	95,5 $\pm$ 3,79	112,8 $\pm$ 3,62*	106,4 $\pm$ 4,05
Активність СДГ, од	24,8 $\pm$ 1,58	29,4 $\pm$ 4,13	26,7 $\pm$ 2,61
Введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов хронізації ГГГН			
Активність ЛФ, од	113,5 $\pm$ 1,01	118,1 $\pm$ 1,59*	115,8 $\pm$ 0,78
Активність СДГ, од	10,1 $\pm$ 1,32	17,3 $\pm$ 0,46**	13,6 $\pm$ 1,26

Примітка: * – достовірність порівняно з ГГГН (* – $p < 0,05$, ** – $p < 0,01$).

На відміну від дії дилтіазему, після введення флокаліну активність ЛФ та СДГ у кортикальному шарі нирок збільшувалась незалежно від патогенезу сулемової нефропатії (див. табл. 6, 7). Іони ртуті, звільняючись від низькомолекулярного білка альбуміну, блокують SH-групи ферментів, у тому числі і СДГ та Na^+/K^+ -АТФази, в проксимальних канальцях. Зниження в крові вмісту SH-груп є метаболічною ознакою та діагностичним критерієм пошкодження нирок [Гоженко А.И., 2006, Роговий Ю.Є., 2012, Бойчук Т.М. та співавт., 2015]. Збільшення активності СДГ

дозволяє передбачити ефективність флокаліну в ситуаціях, які потребують призначення донаторів SH-груп і покращення антирадикального захисту клітин.

Завдяки зменшенню входу іонів кальцію в мітохондрії, дилтіазем також мав би попередити незворотну деструкцію мітохондріальних мембран за умов розвитку ГГН. Однак лише флокалін підвищував активність СДГ, що супроводжувалось аналогічною динамікою ЛФ і свідчило про покращення функціонального стану епітелію проксимальних каналців, переважна кількість яких знаходиться в кірковому шарі нирок (див. табл. 7). Отже, виявлення за умов поєднаної дії потужних цитотоксикантів покращення енергетичного стану нирок значно доповнює спектр фармакологічних ефектів флокаліну.

Таким чином, дослідження ренальних ефектів фторвмісного активатора K_{ATP} каналів на моделях гострого і хронічного сулемового та гіпоксичного гістотоксичного пошкодження нирок показали, що в механізмах дії флокаліну мають місце нефропротективні впливи на судинно-клубочковому і клітинно-канальцевому рівнях. Беручи до уваги загальні механізми прогресування, які полягають у тому, що тубулоінтерстиційні захворювання призводять до пошкодження клубочків, а в результаті гломерулярної патології неминує виникає пошкодження тубулоінтерстицію, стає можливим судження про універсальність ренальної фармакодинаміки флокаліну. Безперечним підґрунтям для цього є виявлена здатність фторвмісного активатора калієвих каналів, незалежно від кратності введення і стадій розвитку експериментальної нефропатії, покращувати функціональний та морфологічний стан проксимального відділу нефрону, який є найбільш вразливим сегментом і завжди задіяний у порочному колі прогресуючого поліетіологічного пошкодження нирок. Отримані результати досліджень дозволяють розглядати флокалін як перспективний нефропротектор при широкому колі захворювань, у патогенезі яких мають місце порушення стану канальцевого епітелію та енергетичного забезпечення процесів нирок з подальшим пошкодженням нефрону на клубочковому і на канальцевому рівнях.

ВИСНОВКИ

Розробка та впровадження нових лікарських засобів ефективного захисту нирок окреслює актуальну задачу сучасної медицини. Недостатня ефективність існуючих класів ліків, науковий аналіз арсеналу нефротропних препаратів та механізмів нефропротекторної дії дозволили теоретично обґрунтувати доцільність модуляції калієвого та кальцієвого току як перспективний напрям фармакологічної корекції нефропатій за умов гострого і хронічного пошкодження нирок. Експериментальні дослідження продемонстрували більш виражені захисні впливи активатора аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліну, порівняно з бензотіазепіновим блокатором кальцієвих каналів дилтіаземом, які проявлялись на судинно-клубочковому та клітинно-канальцевому рівнях, незалежно від стадії патологічного процесу. Висока нефропротекторна активність потенційного препарату класу модуляторів калієвого току – оригінальної фторвмісної сполуки гуанідинового ряду, має важливе науково-практичне значення для розширення

напрямів фармакологічного захисту нирок і обґрунтовує доцільність клінічної апробації флокаліну.

1. Зміни волюмо-, іоно-, кислоторегулювальної та екскреторної функцій нирок після разового і семикратного внутрішньошлункового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг визначають ренальні впливи фторвмісного активатора K_{ATP} каналів за умов водно-сольової гідратації організму і є реакціями забезпечення, переважно при введенні дози 5 мг/кг, гомеостатичної діяльності нефрону за рахунок регуляції клубочкової фільтрації та канальцевої реабсорбції.

2. Збереження активуючих впливів флокаліну після поєднаного застосування з еналаприлом на швидкість клубочкової фільтрації та екскреторну функцію нирок, нормальний рівень натрій- і каліємії, збільшення натрійурезу на тлі підвищеної проксимальної та зниженої дистальної реабсорбції іонів натрію свідчать про незалежні від рівня ангіотензину II ренальні ефекти активатора K_{ATP} каналів і обґрунтовують можливість його комбінованого застосування з блокаторами ренін-ангіотензин-альдостеронової системи.

3. Нефропротекторна дія флокаліну в перший день розвитку сулемової нефропатії проявляється підвищенням діурезу на 55% ($p < 0,01$), натрійурезу на 212,8% ($p < 0,05$), калійурезу на 12,6% ($p < 0,01$), швидкості клубочкової фільтрації на 98,3% ($p < 0,01$), екскреції креатиніну на 63,1% ($p < 0,05$); відновленням креатинінемії, натріємії і проксимального транспорту іонів натрію; збільшенням дистальної реабсорбції іонів натрію на 43% ($p < 0,05$); зменшенням у 5 разів ($p < 0,01$) протеїнурії. Дилтіазем проявляє антипротеїнуричну дію, збільшує натрійурез на 90,9% ($p < 0,05$) і калійурез на 82% ($p < 0,05$), однак наявність гіпонатріємії, гіпокаліємії, гіперкреатинінемії, зниження проксимального транспорту іонів натрію на 12,6% ($p < 0,01$) вказує на менший захисний вплив блокатора кальцієвих каналів.

4. Фармакологічна активація калієвого току та інгібіція кальцієвого току протягом 7 днів у щурів з гострою сулемовою нефропатією спричинила зменшення екскреції білка. Однак флокалін, на відміну від дилтіазему, знижує креатинінемію на 28,3% ($p < 0,05$), екскреторну фракцію іонів натрію і натрійурез на 50% ($p < 0,01$).

5. За умов дії флокаліну на тлі хронічного сулемового пошкодження нирок підвищується екскреція креатиніну (на 11,7%, $p < 0,05$); зменшуються діурез (на 44%, $p < 0,01$), калійурез (на 48,7%, $p < 0,05$), протеїнурія (на 16,3%, $p < 0,05$), екскреторна фракція іонів натрію (на 82,1%, $p < 0,001$); збільшується проксимальний (на 22,7%, $p < 0,01$) і знижується дистальний (на 33,6%, $p < 0,01$) транспорт іонів натрію. Зменшення концентраційного індексу креатиніну (на 54,5%, $p < 0,01$) і швидкості клубочкової фільтрації (на 45,5%, $p < 0,05$); калійуретичний ефект, втрати іонів натрію з сечею внаслідок зниження на 45%, ($p < 0,05$) проксимальної реабсорбції, підвищення діурезу (на 11,5%, $p < 0,01$) і протеїнурії (на 48,6%, $p < 0,05$), вказують на відсутність коригувальних впливів дилтіазему.

6. Розвиток гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії, змодельованої розробленим і запатентованим нами способом, супроводжується суттєвим підвищенням рівня каліємії і натріємії, збільшенням екскреції іонів калію та натрію, зростанням екскреції білка. Модуляція калієвого і кальцієвого току приводить до значного коригування показників іонорегулювальної функції нирок, однак

відсутність антипротеїнуричного ефекту у дилтіазему свідчить про більш високу нефропротекторну активність флокаліну.

7. За умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії флокалін, на відміну від дилтіазему, проявляє виразну нефропротекторну дію, що характеризується зниженням концентрації креатиніну в плазмі крові (на 12,3%, $p < 0,05$) і протеїнурії (на 51,5%, $p < 0,001$); збільшенням швидкості клубочкової фільтрації (на 86,2% $p < 0,001$) і екскреції креатиніну (на 34,3%, $p < 0,01$); зниженням екскреції іонів натрію (на 56,5%, $p < 0,05$) і підвищенням проксимального транспорту цього електроліту (на 95,1%, ($p < 0,001$)).

8. Після введення модуляторів калієвого і кальцієвого току за умов гострого і хронічного пошкодження нирок показники кислоторегулювальної функції мають подібну динаміку змін, спрямовану на пригнічення індукованого сулемою та гістогемічною гіпоксією метаболічного ацидозу, що свідчить про здатність флокаліну і дилтіазему підтримувати кислотно-лужну рівновагу.

9. Морфологічна картина пошкоджених сулемою та гіпоксією нефроцитів після корекції модуляторами іонних каналів характеризується зменшенням розмірів полів некрозу епітеліоцитів звивистих каналців з явищами регенерації нефротелію. На відміну від дії дилтіазему, флокаліну в більшій мірі притаманні виражені регуляторні впливи на процеси необмеженого протеолізу, колагенозу, фібринолізу, які, крім модуляції лізису низько- та високомолекулярних білків, проявляються підвищенням пригніченої екзотоксинами ферментативної фібринолітичної активності, що разом суттєвіше стримує деструкцію нефроцитів, зменшує оборотне набухання клітин і сприяє розростанню грануляційної тканини без кальцинозу.

10. Флокалін спричиняє значно більше, ніж дилтіазем покращення енергетичного забезпечення транспортних процесів у каналцевому відділі нефрону, що підтверджується суттєвим підвищенням активності ферментів лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази в кірковій речовині як за умов гострого, так і хронічного пошкодження нирок.

11. Зіставлення нефротропних ефектів демонструє захисні впливи активатора K_{ATP} каналів на судинно-клубочковому та клітинно-каналцевих рівнях, незалежно від стадії розвитку сулемової та гіпоксичної гістогемічної нефропатії, тоді як дилтіазем проявляє нефропротекторну активність переважно за умов гострого пошкодження нирок. Отримані результати дозволяють розглядати флокалін як перспективний нефропротектор при широкому колі захворювань, у патогенезі яких мають місце порушення клубочкової фільтрації та каналцевої реабсорбції.

СПИСОК ПРАЦЬ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

1. Філіпець Н.Д. Особливості змін функціонального стану нирок під впливом еналаприлу за умов збільшення об'єму позаклітинної рідини в організмі / Н.Д. Філіпець, А.Є. Петрюк // Ліки. – 2000. – №6. – С. 18-21. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

2. Філіпець Н.Д. Вплив дилтіазему та сполученого застосування дилтіазему з еналаприлом на функціональний стан нирок у щурів / В.П. Пішак, Н.Д. Філіпець, Ю.Є. Роговий // Одеський медичний журнал. – 2003. – №2 (76). – С. 12-14. *Дисертантом*

проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.

3. Філіпець Н.Д. Дослідження ренальної активності нового фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Н.Д. Філіпець // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.16, №1 (61). – С. 144-147. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

4. Філіпець Н.Д. Вплив різних доз активатора калієвих каналів флокаліну на функціональний стан нирок за умов збільшення об'єму позаклітинної рідини / Н.Д. Філіпець // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т.11, №1 (39). – С. 154-157. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

5. Філіпець Н.Д. Вплив флокаліну на деякі показники екскреторної функції нирок за умов сольового навантаження / Н.Д. Філіпець // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – №3 (28). – С. 53-56. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

6. Філіпець Н.Д. Стан гомеостатичних функцій нирок після багаторазової активації калієвих каналів флокаліном за умов сольового навантаження / Н.Д. Філіпець, О.О. Філіпець // Ліки України. – 2012. – №1-2 (9-10). – С. 66-69. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

7. Філіпець Н.Д. Вплив активатора АТФ-залежних калієвих каналів флокаліну на кислоторегулювальну функцію нирок за умов навантаження 0,45% розчином хлориду натрію / Н.Д. Філіпець // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15 – №3, ч.1 (59). – С. 358-360. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

8. Філіпець Н.Д. Стан ниркових процесів при активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліном за умов формування сулемової нефропатії / Н.Д. Філіпець // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.16, №3, ч.2 (63). – С. 229-231. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

9. Філіпець Н.Д. Вплив дилтіазему на функціональний стан нирок на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії / Н.Д. Філіпець, Ю.Є. Роговий, О.О. Філіпець // Одеський медичний журнал. – 2012. – №3 (131). – С. 42-44. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

10. Філіпець Н.Д. Модуляція активності іонних каналів дилтіаземом та флокаліном за умов експериментальної нефропатії / Н.Д. Філіпець // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т.11, №3 (41). – С. 169-171. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

11. Вплив флокаліну на показники протеолітичної та фібринолітичної активності на початковій стадії розвитку експериментальної гострої ниркової

недостатності / [Н.Д. Філіпець, О.А. Оленович, О.О. Філіпець, О.Г. Кметь] // Український журнал нефрології і діалізу. – 2012. – №3 (35), дод. 1. – С. 41-43. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

12. Філіпець Н.Д. Функціональні зміни нирок щурів за умов фармакологічної активації АТФ-залежних калієвих каналів / Н.Д. Філіпець, А.І. Гоженко // Вісник Вінницького Національного медичного університету. – 2013. – Т.17, №2. – С. 324-327. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

13. Филипец Н.Д. Нефротропные эффекты при активации аденозинтрифосфатчувствительных калиевых каналов в зависимости от функционального состояния почек крыс / А.И. Гоженко, Н.Д. Филипец // Нефрология. – 2013. – Т.17, №2. – С. 87-90. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

14. Філіпець Н.Д. Стан кислоторегулювальної функції нирок після активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів при експериментальній гострій гіпоксії / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – №3 (39), дод.1. – С. 50-52. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

15 Філіпець Н.Д. Зміни показників діяльності нирок за умов поєднаного застосування флокаліну та еналаприлу / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Буковинський медичний вісник. – 2013. – Т.17, №3 (67), ч.2. – С. 138-142. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

16. Філіпець Н.Д. Морфологічні зміни тканин нирок щурів за умов поєднаного застосування нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець, І.С. Давиденко // Вісник морфології. – 2013. – Т.19, №2. – С. 268-271. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

17. Гоженко А.И. Протекторная роль активации аденозинтрифосфатчувствительных калиевых каналов при развитии острого гипоксического поражения почек / А.И. Гоженко, Н.Д. Филипец // Вестник Казахского Национального медицинского университета. – 2013. – №5 (1). – С. 84-86. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

18. Filipets ND. Flokaline and diltiazem renoprotector properties in chronization hypoxic nephropathy / AI Gozhenko, ND Filipets, W Zukow // Journal of Health Sciences. – 2013. – Vol.3, №12. – P. 389-398. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

19. Филипец Н.Д. Сравнительная оценка нефропротективных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении почек / Н.Д. Филипец, А.И. Гоженко // Экспериментальная и клиническая

фармакологія. – 2014. – Т.77, №1. – С. 10-12. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

20. Філіпець Н.Д. Порівняльний аналіз тубулопротективних впливів представників різних класів модуляторів іонних каналів за умов хронізації токсичної нефропатії / Н.Д. Філіпець, В.М. Сирман, А.І. Гоженко // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – №5 (34). – С. 25-28. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

21. Філіпець Н.Д. Вплив флокаліну та дилтіазему на іонорегулювальну функцію нирок за умов гіпоксичної нефропатії / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – Т.1, №2 (36-1). – С. 61-66. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

22. Филипец Н.Д. Механизмы ионорегулирующей функции почек при гистогемической гипоксии и возможные пути её коррекции / Н.Д. Филипец, В.М. Сирман, А.И. Гоженко // Нефрология. – 2014. – Т.18, №4. – С. 57-61. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

23. Філіпець Н.Д. Функціональний стан нирок після активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів при експериментальній гострій гіпоксії / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т.60, №4. – С. 22-29. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

24. Филипец Н. Д. Экспериментальный анализ функций почек в начальной стадии развития гистогемической гипоксии под влиянием модуляторов ионных каналов / Н.Д. Филипец, А.И. Гоженко, В.М. Сирман // Журнал НАМН України. – 2014. – Т.20, №4. – С. 483-487. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

25. Філіпець Н.Д. Стан протеолізу/фібринолізу тканин нирок під впливом флокаліну та дилтіазему за умов розвитку гіпоксичної гистогемічної нефропатії / Н.Д. Філіпець // Медична хімія. – 2014. – Т.16, №4 (61). – С. 33-35. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

26. Філіпець Н.Д. Особливості структурно-функціональних змін нирок після модуляції іонних каналів за умов хронізації експериментальних екзотоксичних нефропатій / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець, І.С. Давиденко // Вісник морфології. – 2014. – Т.20, №2. – С. 357-361. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

27. Филипец Н.Д. Влияние фармакологической активации аденозинтрифосфатзависимых калиевых каналов на почечную регуляцию баланса ионов калия / Н.Д. Филипец, В.М. Сирман, А.И. Гоженко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2014. – №3 (37). – С. 84-90. *Дисертантом проведено пошук літературних джерел, експериментальні дослідження, статистичну обробку та аналіз отриманих результатів, підготовлено матеріали до друку.*

28. Патент на корисну модель 90547 Україна, МПК (2014.01) A61B 17/00. Спосіб моделювання гіпоксичної нефропатії / Філіпець Н.Д., Давиденко І.С., Пашковський В.М., Філіпець О.О., Гоженко А.І.; заявник і патентовласник Буковинський державний медичний університет. – №з 2014 00899; заявл. 31.01.2014; опубл. 26.05.2014, Бюл. №10. *Дисертантом проведено патентний пошук, виконані експериментальні дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, оформлено патент.*

29. Патент на корисну модель 92327 Україна, МПК A61P 13/12 (2006.01). Спосіб лікування токсичної нефропатії / Філіпець Н.Д. Пашковський В.М., Філіпець О.О., Гоженко А.І.; заявник та патентовласник Буковинський державний медичний університет. – №з 2014 02701; заявл. 18.03.2014; опубл. 11.08.2014, Бюл. №15. *Дисертантом проведено патентний пошук, виконані експериментальні дослідження, статистична обробка та аналіз отриманих результатів, оформлено патент.*

30. Філіпець Н.Д. Вплив дилтіазему на водно-сольовий гомеостаз у щурів / Н.Д. Філіпець // II Національний з'їзд фармакологів України «Фармакологія 2001 – крок у майбутнє», 1-4 жовтня 2001 р.: тези доп. – Дніпропетровськ, 2001. – С. 256.

31. Філіпець Н.Д. Вплив дилтіазему на іонорегулювальну функцію нирок / Н.Д. Філіпець // III Національний з'їзд фармакологів України «Фармакологія 2006 – крок у майбутнє», 17-20 жовтня 2006 р.: тези доп. – Одеса, 2014. – С. 180.

32. Филипец Н.Д. Влияние блокатора кальциевых каналов дилтиазема на экскреторную функцию почек при экспериментальной нефропатии / Н.Д. Филипец // Матеріали науково-практичної конференції «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі та лікуванні внутрішніх хвороб», 12-13 травня 2011 р.: тези доп. – Запоріжжя, 2011. – С. 18-19.

33. Філіпець Н.Д. Можливості мембрано-фармакологічної корекції іонорегулювальної функції нирок при токсичній нефропатії / Н.Д. Філіпець, О.Г. Кметь // Матеріали III з'їзду токсикологів України «Сучасні проблеми токсикології. Безпека їжі та середовища, життєдіяльності людини», 18-19 грудня 2011 р.: тези доп. – Київ, 2011. – С. 63.

34. Філіпець Н.Д. Зміни кислоторегулювальної функції нирок під впливом флокаліну / Н.Д. Філіпець // Матеріали наукових форумів, присвячених 170-річчю кафедри фармакології та клінічної фармакології НМУ ім. О.О. Богомольця, 25-26 травня 2011 р.: тези доп. – Київ, 2011. Український науково-медичний молодіжний журнал. – 2011. – Вип. №4. – С. 93.

35. Філіпець Н.Д. Зміни осморегулювальної функції нирок за умов фармакологічної активації АТФ-залежних калієвих каналів / Н.Д. Філіпець // Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці: тези конференції, присвяченої 110 – річчю від дня народження заслуженого діяча науки України, професора Я.П. Склярова, 23-24 вересня 2011 р.. – Львів, 2011. – С. 71-72.

36. Філіпець Н.Д. Вплив активатора калієвих каналів флокаліну на функціональний стан нирок за умов експериментальної гідратації організму / Н.Д. Філіпець // IV Національний з'їзд фармакологів України, 10-12 жовтня 2011 р.: тези доп. – Київ, 2011. Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2011. – №5 (24). – С. 327-328.

37. Філіпець Н.Д. Дослідження впливу флокаліну на фільтраційну функцію нирок за умов водного і сольового навантаження / Н.Д. Філіпець, О.Г. Кметь // Людина та ліки – Україна. V Національний конгрес, 20-22 березня 2012 р.: тези доп. – Київ, 2012. – С. 100.

38. Філіпець Н.Д. Антипротеїнуретичний ефект модуляторів калієвих і кальцієвих каналів при експериментальній гострій токсичній нефропатії / Н.Д. Філіпець // Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя: міжнародна науково-практична конференція, 30 листопада-1 грудня 2012 р.: тези доп. – Київ, 2012. – С. 13-16.

39. Филипец Н.Д. Доклиническое изучение нефротропных свойств флокалина / Н.Д. Філіпець // Клінічна фармація: 20 років в Україні. Матеріали Національного конгресу, 21-22 березня 2013 р.: тези доп. – Харків, 2013. – С. 230.

40. Філіпець Н.Д. Дослідження ренальних ефектів флокаліну за умов зниженої активності ренін-ангіотензинової системи / Н.Д. Філіпець // Матеріали 95-ї підсумкової наукової конференції професорсько-викладацького персоналу БДМУ, 17, 19, 24 лютого 2014 р.: тези доп. – Чернівці, 2014. – С. 245.

41. Філіпець Н.Д. Протекторні впливи фармакологічної модуляції калієвих каналів за умов гострого ураження нирок / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Матеріали XIX з'їзду Українського фізіологічного товариства ім. П.Г. Костюка з міжнародною участю, присвяченої 90-річчю від дня народження академіка П.Г. Костюка, 26-29 травня 2014 р.: тези доп. – Львів, 2014. Фізіологічний журнал. – 2014. – Т.60, – №3 (дод.). – С. 8.

42. Філіпець Н.Д. Експериментальна терапія флокаліном ренальної патології токсичного генезу / Н.Д. Філіпець, А.І. Гоженко // Матеріали XV конгресу СФУЛТ, 16-18 жовтня 2014 р.: тези доп. – Чернівці-Київ-Чикаго, 2014. Українські Медичні Вісті. – 2014. – Т.11, число 1-4 (80-83). – С. 165-166.

43. Філіпець Н.Д. Вплив модуляторів іонних каналів на швидкість клубочкової фільтрації за умов експериментальних нефропатій // А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Матеріали науково-практичної конференції «Природничі читання», присвяченої 70-річчю БДМУ та «Фізичне виховання, спорт та здоров'я людини у сучасному суспільстві», 16-19 травня 2014 р.: тези доп. – Чернівці, 2014. – С. 108-109.

44. Филипец Н.Д. Возможности модуляторов ионных каналов при дисфункции канальцевого отдела нефрона / А.И. Гоженко, Н.Д. Филипец, О.В. Гармидер // Научные труды IV съезда физиологов СНГ, 8-12 октября 2014 г.: тезисы докл. – Сочи-Дагомыс, Россия, 2014. – С. 118.

45. Филипец Н.Д. Экспериментальная оценка маркеров нефропротективной эффективности активатора аденозинтрифосфатзависимых калиевых каналов флокалина / А.И. Гоженко, Н.Д. Филипец // Всероссийская конференция с международным участием, посвященная 90-летию со дня рождения академика АМН СССР А.В. Вальдмана «Инновации в фармакологии: от теории к практике», 27-28 октября 2014 г.: тезисы докл. – Санкт-Петербург, 2014. Обзорение психиатрии и медицинской психологии им. В.М. Бехтерева. Приложение. 2014. – С. 60.

46. Філіпець Н.Д. Зіставлення морфофункціональних змін нирок після фармакологічної модуляції калієвих каналів у щурів з гострою гістогемічною гіпоксією / Н.Д. Філіпець, А.І. Гоженко // Науково-практична інтернет-конференція

з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини», 26-27 листопада 2014 р.: тези доп. – Чернівці, 2014.

47. Філіпець Н.Д. Дослідження показників калієвого балансу за умов застосування флокаліну / Н.Д. Філіпець // Матеріали 96-ї підсумкової наук. конф. професорсько-викладацького персоналу БДМУ, 16, 18, 23 лютого 2015 р.: тези доп. – Чернівці, 2015. – С. 277

48. Філіпець Н.Д. Вплив флокаліну на біохімічні маркери гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Бюллетень XIV чтений им. В.В. Подвысоцкого, 27-28 мая 2015 г.: тезисы докл. Одесса, 2015. – С. 55-56.

49. Філіпець Н.Д. Стан енергетичного обміну, протеолізу/фібринолізу під впливом флокаліну при хронізації токсичної нефропатії / А.І. Гоженко, Н.Д. Філіпець // Матеріали підсумкової науково-практичної конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвяченої пам'яті ректора, члена-кореспондента НАМН України, професора Л.Я. Ковальчука, 17 червня 2015 р.: Тернопіль, 2015. – С. 191.

50. Філіпець Н.Д. Вплив флокаліну на активність лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази за умов розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії / Н.Д. Філіпець, В.М. Сірман, А.І. Гоженко // Матеріали науково-практичної конференції «Нефрологія і діаліз: up to date:», 8-9 жовтня 2015 р.: тези доп. – Чернівці. – 2015. – С. 79-80.

51. Нововведення. Спосіб моделювання гіпоксичної нефропатії / Н.Д. Філіпець, І.С. Давиденко, В.М. Пашковський, О.О. Філіпець, А.І. Гоженко // Перелік наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження досягнень медичної продукції в сферу охорони здоров'я. Клінічна фармація. Загальна фармація. Організація і управління фармацією. Реєстр. № 158/1/14. – Київ, 2015. – Випуск 1. – С. 158.

АНОТАЦІЯ

Філіпець Н.Д. Експериментальне вивчення нефропротекторної дії модуляторів калієвих і кальцієвих каналів за умов гострого і хронічного пошкодження нирок. – Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора медичних наук за спеціальністю 14.03.05 – фармакологія. – Державна установа «Інститут фармакології та токсикології НАМН України», Київ, 2016.

Дисертація присвячена вивченню нефропротекторних властивостей фторвмісного активатора аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліну в порівнянні з ренальними ефектами блокатора кальцієвих каналів бензотіазепінового ряду дилтіазему при гострому і хронічному пошкодженні нирок.

Встановлено, що зміни функціонального стану нирок у лабораторних білих щурів після разового і семиденного внутрішньошлункового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов водно-сольових навантажень визначають регульовальні можливості активатора калієвих каналів, переважно в дозі 5 мг/кг, та є реакціями забезпечення водно-осмотичної рівноваги. Ренальні ефекти флокаліну (5 мг/кг) зберігаються на тлі зниження еналаприлом активності ренін-ангіотензин-

альдостеронової системи, що вказує на можливість комбінування нового модулятора калієвого току з інгібіторами ангіотензин-перетворювального ферменту. На моделях розвитку сулемової та гіпоксичної гістогемічної нефропатії флокалін за протективною здатністю, в тому числі за ступенем антипротеїнуричного ефекту, переважає дію дилтіазему (5 мг/кг, внутрішньошлунково). Виявлені регуляторні впливи флокаліну на енергетичний метаболізм, необмежений протеоліз, ферментативний фібриноліз, обґрунтовують більш виражену, ніж після введення дилтіазему, позитивну структурну перебудову нефроцитів. Захисна дія на судинно-клубочковому та клітинно-канальцевих рівнях свідчить про універсальність фармакодинаміки, що дозволяє розглядати флокалін як перспективний нефропротектор при порушенні ниркових процесів – клубочкової фільтрації та канальцевої реабсорбції.

Ключові слова: нефропротекція, модулятори іонних каналів, флокалін, дилтіазем.

АННОТАЦИЯ

Филипец Н.Д. Экспериментальное изучение нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при остром и хроническом повреждении почек. – Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени доктора медицинских наук по специальности 14.03.05 – фармакология. – Государственное учреждение «Институт фармакологии и токсикологии НАМН Украины», Киев, 2016.

Диссертация посвящена изучению нефропротекторных свойств фторсодержащего активатора аденозинтрифосфатзависимых калиевых каналов флокалина в сравнительном аспекте с ренальными эффектами блокатора кальциевых каналов бензотиазепинового ряда дилтиазема при остром и хроническом повреждении почек.

В работе приводятся результаты изучения функционального состояния почек после введения лабораторным белым крысам флокалина при водно-солевых нагрузках, а также при развитии сулемовой и гипоксической гистогемической нефропатии. Установлено, что изменения волюмо-, ионо-, кислоторегулирующей и экскреторной функций почек после однократного и семидневного введения флокалина в дозах 5 мг/кг и 10 мг/кг, внутрижелудочно, определяют ренальные влияния активатора АТФ-зависимых калиевых каналов в условиях водно-солевой гидратации организма и являются реакциями обеспечения, преимущественно при введении дозы 5 мг/кг, гомеостатической деятельности нефрона за счет регуляции процессов клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции.

Сохранение почечных эффектов флокалина, с учетом стабильной калиемии, после совместного введения с эналаприлом (1 мг/кг, внутрижелудочно, 7 дней) указывает на возможность комбинирования флокалина с блокаторами ренин-ангиотензин-альдостероновой системы.

В первый день развития сулемовой нефропатии защитные влияния флокалина проявлялись повышением диуреза, скорости клубочковой фильтрации, натрийуреза, калийуреза, нормализацией креатининемии, натриемии, уменьшением протеинурии;

увеличением проксимальной реабсорбции ионов натрия. Дилтиазем (5 мг/кг, внутривенно) проявлял антипротеинурический эффект, но не влиял на гиперкреатининемию, уменьшал натриемию и калиемию, проксимальный транспорт ионов натрия, увеличивал натрийурез и калийурез. После введения 7 дней флокалина нормализовалась креатининемия, уменьшалась экскреция ионов натрия и белка. Под влиянием дилтиазема снижалась скорость клубочковой фильтрации, не понижалась креатининемия, повышался натрийурез и протеинурия. При хронизации сулемовой нефропатии после введения 7 дней флокалина нормализовалась клубочковая фильтрация, увеличивался концентрационный индекс креатинина, уменьшался диурез, протеинурия, натрийурез, повышался проксимальный транспорт ионов натрия. Для дилтиазема не была характерна аналогичная динамика показателей, что исключало нефропротекторные влияния при хронизации процесса.

При острой гипоксической гистогемической нефропатии после однократного введения флокалина увеличивалась скорость клубочковой фильтрации, проксимальная реабсорбция ионов натрия, нормализовался дистальный транспорт и уменьшалась экскреция ионов натрия, снижались гиперкалиемия и протеинурия. Под влиянием дилтиазема проявлялись аналогичные эффекты, но без изменений протеинурии. Вместе с тем, в отличие от дилтиазема, после введения 7 дней флокалина при остром гипоксическом поражении почек и при хронизации процесса защитные влияния в канальцевом отделе нефрона подтверждались повышенным проксимальным транспортом ионов натрия и уменьшением протеинурии.

Динамика кислоторегулирующей функции почек под влиянием флокалина и дилтиазема указывала на подавление метаболического ацидоза, что способствовало поддержке кислотно-щелочного равновесия при экспериментальных нефропатиях.

После введения флокалина повышалась активность щелочной фосфатазы и сукцинатдегидрогеназы в тканях поврежденных почек. Под влиянием дилтиазема активность щелочной фосфатазы увеличивалась лишь в первый день развития и при хронизации сулемовой нефропатии, что сопровождалось ростом активности сукцинатдегидрогеназы мозгового или коркового слоя почек в соответствии с указанными периодами исследований. После коррекции модуляторами ионных каналов уменьшались поля некроза поврежденных эпителиоцитов канальцев и структурные изменения отличались значительным увеличением кровенаполнения капилляров почек, уменьшением обратного набухания, разрастанием грануляционной ткани без кальциноза. Более выраженные, чем у дилтиазема, регуляторные влияния флокалина на процессы неограниченного протеолиза, фибринолиза, кроме модуляции лизиса низко- и высокомолекулярных белков, проявлялись увеличением ферментативного фибринолиза, определяющего улучшение реологических свойств крови, что в совокупности со значительно улучшенным энергетическим метаболизмом в большей степени сдерживали деструкцию нефроцитов.

Эффекты флокалина и дилтиазема на моделях развития сулемовой и гипоксической гистогемической нефропатии демонстрировали преимущественные защитные влияния активатора АТФ-зависимых калиевых каналов на сосудисто-клубочковом и клеточно-канальцевых уровнях. Полученные результаты свидетельствуют об универсальности ренальной фармакодинамики нового

модулятора калиевого тока, способствуют расширению экспериментального обоснования клинической апробации и позволяют рассматривать флокалин как перспективный нефропротектор при заболеваниях с нарушениями почечных процессов – клубочковой фильтрации и канальцевой реабсорбции.

Ключевые слова: нефропротекция, модуляторы ионных каналов, флокалин, дилтиазем.

SUMMARY

Filipets N.D. Experimental study of nephroprotective activity of potassium and calcium channel modulators under conditions of acute and chronic kidney injury. – The manuscript.

Dissertation for the Degree of Doctor of Medical Science in specialty 14.03.05 – pharmacology. – State Institution «Institute of Pharmacology and Toxicology of the National Academy of Medical Sciences of Ukraine», Kyiv, 2016.

The dissertation is dedicated to investigation of nephroprotective properties of fluorine-containing adenosine triphosphate-sensitive potassium channels activator flocalin in comparison to renal effects of benzothiazepine calcium channel blocker diltiazem under the conditions of acute and chronic renal injury.

It has been stated that changes of functional state of kidneys in laboratory white rats after single and repeated (7 days) intraventricular administration of flocalin in doses 5 mg per kg, 10 mg per kg after water load determine regulatory abilities of ATP-sensitive potassium channels activator predominantly in the dose 5 mg per kg on the ground of hyperhydration, and these changes are reactions of maintenance of water and osmotic balance. Renal effects of flocalin (5 mg per kg) are preserved in case of inhibition of rennin-angiotensin-aldosterone system with additional administration of enalapril (1 mg per kg, intraventricularly) that points to possibility of combination of flocalin with angiotensin converting enzyme inhibitors. On the models of subacute nephropathy with the primary damage of proximal part of nephron and further lesion of glomerular processes flocalin demonstrates protective effects in both glomerular and tubular parts of the nephron. On the stage of hypoxic histohemic nephropathy with the injury of proximal and distal parts of nephron the protective properties of flocalin including its antiproteinuric action prevail over the effect of diltiazem (5 mg per kg, intraventricularly). Under the influence of flocalin the activity of alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase in renal tissues increased. We have found that in comparison to diltiazem flocalin shows more pronounced regulatory effects on energetic metabolism, the processes of unrestricted proteolysis, collagenolysis, fermentative fibrinolysis, which restrict the destruction of nephrocytes and lead to positive structural reconstruction of kidneys. The presence of protective influence on vascular-glomerular and cellular-tubular levels gives evidence that ATP-sensitive potassium channels activator has universal pharmacodynamics and it can be referred to as a perspective nephroprotective agent for a wide range of renal diseases with the lesion of glomerular filtration and tubular reabsorption as the main pathogenetic mechanisms.

Key words: nephroprotection, ion channels modulators, flocalin, diltiazem.