

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ  
ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД УКРАЇНИ  
«БУКОВИНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ»

На правах рукопису

**Філіпець Наталія Дмитрівна**

УДК 6161.61-03-085.25

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

14.03.05 – фармакологія

Дисертація  
на здобуття наукового ступеня  
доктора медичних наук

Науковий консультант

доктор медичних наук, професор,  
заслужений діяч науки і техніки України

**Гоженко Анатолій Іванович**

ДП «Український науково-дослідний інститут  
медицини транспорту» МОЗ України, директор

Чернівці – 2016

## ЗМІСТ

|                                                                                                                                           |    |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....                                                                                                            | 7  |
| ВСТУП.....                                                                                                                                | 8  |
| РОЗДІЛ 1. СУЧАСНІ ФАРМАКОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО<br>ЛІКУВАННЯ ПАТОЛОГІЇ НИРОК І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ<br>НЕФРОПРОТЕКЦІЇ (огляд літератури)..... | 18 |
| 1.1. Основні механізми розвитку гострого ураження та<br>хронічної хвороби нирок.....                                                      | 18 |
| 1.2. Сучасна стратегія медикаментозного захисту нирок.....                                                                                | 27 |
| 1.3. Фармакологічні аспекти застосування модуляторів іонних<br>каналів у нефропротекції.....                                              | 42 |
| 1.4. Біологічні та фармакодинамічні передумови<br>нефропротекторних властивостей флокаліну.....                                           | 57 |
| РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....                                                                                            | 67 |
| РОЗДІЛ 3. ФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ<br>НИРОК ПІД ВПЛИВОМ ФЛОКАЛІНУ ЗА УМОВ ІНДУКОВАНОГО<br>ДІУРЕЗУ.....                  | 80 |
| 3.1. Вплив флокаліну на функціональний стан нирок за умов<br>водного навантаження.....                                                    | 81 |
| 3.1.1. Зміни показників діяльності нирок після разового<br>введення флокаліну за умов водного навантаження.....                           | 81 |
| 3.1.2. Зміни показників діяльності нирок після семиденного<br>введення флокаліну за умов водного навантаження.....                        | 84 |
| 3.2. Вплив флокаліну на функціональний стан нирок за умов<br>сольового навантаження.....                                                  | 87 |
| 3.2.1. Зміни показників діяльності нирок після разового<br>введення флокаліну за умов сольового навантаження.....                         | 87 |
| 3.2.2. Зміни показників діяльності нирок після семиденного<br>введення флокаліну за умов сольового навантаження.....                      | 91 |

|                                                                                                                                                          |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| РОЗДІЛ 4. РОЛЬ РЕНІН-АНГІОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЇ СИСТЕМИ В РЕНАЛЬНИХ ЕФЕКТАХ ФЛОКАЛІНУ ТА ДИЛТІАЗЕМУ.....                                                | 97  |
| 4.1. Роль ренін-ангіотензин-альдостеронової системи в ренальних ефектах флокаліну.....                                                                   | 98  |
| 4.2. Роль ренін-ангіотензин-альдостеронової системи в ренальних ефектах дилтіазему.....                                                                  | 107 |
| РОЗДІЛ 5. ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ПІД ВПЛИВОМ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ СУЛЕМОВОЇ НЕФРОПАТІЇ.....               | 111 |
| 5.1. Зміни функціонального стану нирок після застосування флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії.....                | 112 |
| 5.1.1. Зміни функціонального стану нирок після застосування флокаліну на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії.....                            | 113 |
| 5.1.2. Зміни функціонального стану нирок після разового введення дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії.....                      | 117 |
| 5.1.3. Зміни функціонального стану нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії.....      | 121 |
| 5.2. Зміни функціонального стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії.....                               | 127 |
| РОЗДІЛ 6. ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ПІД ВПЛИВОМ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ГІПОКСИЧНОЇ ГІСТОГЕМІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ... | 137 |
| 6.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на функціональний стан нирок за умов початкової стадії розвитку гострої                                               |     |

|                                                                                                                                                                                |            |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------|
| гіпоксичної гістогемічної нефропатії.....                                                                                                                                      | 138        |
| 6.1.1. Функціональний стан нирок після разового введення<br>флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії<br>розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії         | 138        |
| 6.1.2. Функціональний стан нирок після семиденного введення<br>флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії<br>розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії..... | 143        |
| 6.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на функціональний стан<br>нирок за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної<br>нефропатії.....                                             | 147        |
| <b>РОЗДІЛ 7. МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН НИРОК ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ<br/>МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ<br/>ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ НЕФРОПАТІЙ.....</b>                                 | <b>156</b> |
| 7.1. Зміни морфологічного стану нирок після введення<br>флокаліну та дилтіазему за умов розвитку сулемової<br>нефропатії.....                                                  | 156        |
| 7.1.1. Зміни морфологічного стану нирок після разового<br>введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої<br>сулемової нефропатії.....                                        | 157        |
| 7.1.2. Зміни морфологічного стану нирок після семиденного<br>введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої<br>сулемової нефропатії.....                                     | 160        |
| 7.1.3. Зміни морфологічного стану нирок після введення<br>флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової<br>нефропатії.....                                              | 166        |
| 7.2. Зміни морфологічного стану нирок після введення<br>флокаліну та дилтіазему за умов гіпоксичної гістогемічної<br>нефропатії.....                                           | 169        |
| 7.2.1. Морфологічне обґрунтування способу моделювання<br>гіпоксичної гістогемічної гіпоксії.....                                                                               | 169        |

|                                                                                                                                    |                                                                                                                                                        |     |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 7.2.2.                                                                                                                             | Зміни морфологічного стану нирок після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої гістогемічної гіпоксичної нефропатії.....             | 173 |
| 7.2.3.                                                                                                                             | Зміни морфологічного стану нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої гістогемічної гіпоксичної нефропатії.....          | 176 |
| 7.2.4.                                                                                                                             | Зміни морфологічного стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гістогемічної гіпоксичної нефропатії.....                   | 178 |
| РОЗДІЛ 8. СТАН ПРОТЕОЛІЗУ/ФІБРИНОЛІЗУ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ НЕФРОПАТІЙ..... |                                                                                                                                                        | 181 |
| 8.1.                                                                                                                               | Вплив флокаліну та дилтіазему на протеоліз/фібриноліз за умов розвитку токсичної сулемової нефропатії.....                                             | 182 |
| 8.1.1.                                                                                                                             | Стан протеолізу/фібринолізу після разового введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії.....                    | 182 |
| 8.1.2.                                                                                                                             | Стан протеолізу/фібринолізу після семиденного введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії.....                 | 187 |
| 8.1.3.                                                                                                                             | Стан протеолізу/фібринолізу під впливом флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії.....                                           | 193 |
| 8.2.                                                                                                                               | Вплив флокаліну та дилтіазему на протеоліз/фібриноліз за умов розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії.....                                       | 198 |
| 8.2.1.                                                                                                                             | Стан протеолізу/фібринолізу після разового введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії.....    | 198 |
| 8.2.2.                                                                                                                             | Стан протеолізу/фібринолізу після семиденного введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії..... | 201 |

|                                                                                                                                                     |     |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| 8.2.3. Стан протеолізу/фібринолізу після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії.....              | 205 |
| РОЗДІЛ 9. СТАН ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ФЛОКАЛІНУ ТА ДИЛТІАЗЕМУ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ НЕФРОПАТІЙ.....                       |     |
| 9.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов розвитку сулемової нефропатії.....                                     | 213 |
| 9.1.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії.....                 | 213 |
| 9.1.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов хронізації сулемової нефропатії.....                                 | 216 |
| 9.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії.....                     | 217 |
| 9.2.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов початкової стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії..... | 217 |
| 9.2.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії.....                 | 219 |
| АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ.....                                                                                                  | 222 |
| ВИСНОВКИ.....                                                                                                                                       | 275 |
| СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....                                                                                                                     | 279 |

## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

|                         |                                                     |
|-------------------------|-----------------------------------------------------|
| АКК                     | – активатори калієвих каналів                       |
| Анг II                  | – ангіотензин II                                    |
| АПФ                     | – ангіотензин-перетворювальний фермент              |
| AT <sub>1</sub>         | – рецептори ангіотензину II 1 типу                  |
| АФК                     | – активні форми кисню                               |
| БКК                     | – блокатори кальцієвих каналів                      |
| БРА II                  | – блокатори рецепторів ангіотензину II              |
| ГГН                     | – гіпоксична гістогемічна нефропатія                |
| ГТФ                     | – гуанозинтрифосфат                                 |
| ГПН                     | – гостре пошкодження нирок                          |
| ІАПФ                    | – інгібітори ангіотензин-перетворювального ферменту |
| K <sub>АТФ</sub> канали | – аденозинтрифосфатзалежні калієві канали           |
| КФ                      | – клубочковий фільтрат                              |
| НФА                     | – неферментативна фібринолітична активність         |
| РААС                    | – ренін-ангіотензин-альдостеронова система          |
| СФА                     | – сумарна фібринолітична активність                 |
| ФНР                     | – функціональний нирковий резерв                    |
| ФФА                     | – ферментативна фібринолітична активність           |
| ХХН                     | – хронічна хвороба нирок                            |
| ШКФ                     | – швидкість клубочкової фільтрації                  |
| ЮГА                     | – юктагломерулярний апарат нирок                    |
| NO                      | – оксид азоту                                       |
| PDGF                    | – тромбоцитарний фактор росту                       |
| PG                      | – простагландин                                     |
| TGF $\beta$             | – трансформуючий фактор росту бета                  |
| TNF $\alpha$            | – фактор некрозу пухлин альфа                       |
| TxB <sub>2</sub>        | – тромбоксан B <sub>2</sub>                         |
| VEGF                    | – судинний епітеліальний фактор росту               |

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Необхідність безперервного розвитку нефропротекції зумовлена зростанням в Україні частоти виникнення загрозливого стану – гострого пошкодження нирок (ГПН), частка якого серед усіх госпіталізованих пацієнтів становить 5-15%. За останні десять років летальність при ГПН 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. Існуюча протягом тривалого часу думка про рідкість ХХН виявилась хибною. На ХХН хворіє 10-12% дорослого населення, а серед людей старших 65 років на неї страждають близько 30%. Очікується, що кожні 7-10 років кількість хворих з ХХН збільшуватиметься вдвічі, а кількість пацієнтів, які лікуватимуться за допомогою замісної ниркової терапії зростатиме щороку на 7% [3, 119, 184, 235, 271, 394]. Отже, на теперішній час виникла негайна потреба в пригніченні темпів прогресування нефропатій до стадії ниркової недостатності термінального ступеня, що в значній мірі реалізується впровадженням нових лікарських засобів ефективного захисту нирок для розширення напрямків медикаментозної нефропротекції.

За умов своєчасного виявлення патології нирок, серед існуючих ліків є ряд достатньо ефективних та безпечних препаратів, які дозволяють при значно менших фінансових затратах ефективно протидіяти розвитку ХХН. Однак, 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. Враховуючи те, що ниркова дисфункція асоціюється зі збільшенням захворюваності та смертності, розробка лікування, спрямованого на реверсування спільних патогенетичних механізмів



захворювань шляхом вдосконалення стратегії нефропротекції лишається актуальним як в Україні, так і в усьому світі.

Відомості про позитивні ренальні впливи фармакологічних препаратів за умов клінічної та експериментальної патології переважно стосуються засобів, які відносяться до інгібіторів ангіотензин-перетворювального ферменту (ІАПФ) [54, 174], блокаторів рецепторів ангіотензину II (БРА II) [9, 23], інгібіторів реніну [308, 441], антагоністів альдостеронових рецепторів [212, 276], блокаторів кальцієвих каналів (БКК) [53], діуретиків [6], статинів [465], антиоксидантів [7]. Слід зазначити, що вказані класи ліків є в розділі: «12.3. Нефрологія. Лікарські засоби» Державного формуляра лікарських засобів (наказ МОЗ України від 31.03.2015 № 183). Свідченням про неослабний інтерес до нефропротекції є сучасні наукові роботи стосовно протекторно-регенераторних ефектів стовбурових клітин [64, 229], гломерулярних подоцитів [244], пептидного комплексу нирок [410], амінокислот [214, 245], фітопрепаратів [67, 312].

Відомо, що одним з важливіших механізмів медикаментозної терапії є модуляція калієвих іонних каналів клітинних мембран, функціональний стан яких залежить від внутрішньоклітинного вмісту АТФ. Активація (відкриття) аденозинтрифосфатзалежних калієвих ( $K_{ATP}$ ) каналів є природною адаптаційно-компенсаторною реакцією на порушення енергетичного забезпечення життєво важливих процесів, у тому ж числі і в нирках, за умов впливу різноманітних патологічних чинників [103, 122, 182]. Однак, незважаючи на здатність відтворювати біологічні захисні реакції, потенційну ефективність і безпечність, клінічна роль фармакологічного класу активаторів калієвих каналів (АКК), особливо у нефропротекції, остаточно не визначена.

Підґрунтям для сподівань, що встановлення ниркових механізмів доповнить спектр терапевтичної дії АКК і дозволить розширити напрямки нефропротекції стали свідчення про багатогранність фармакологічних ефектів флокаліну – нового вітчизняного представника цього класу [29, 31, 48, 104, 121]. Фторвмісний активатор  $K_{ATP}$  каналів флокалін, який було синтезовано в

Інституті органічної хімії НАН України, є перспективним міотропним спазмолітиком, коронародилататором і кардіопротектором [146, 191, 192].

Зважаючи на взаємозалежність патологічних процесів серця та нирок, відсутність наукових відомостей стосовно ренальної активності флокаліну, уточнення ролі  $K_{ATP}$  каналів у патогенезі нефропатій, розкриття ниркових механізмів і співставлення впливів флокаліну з ефектами визнаних нефропротекторів є актуальним для розробки нових шляхів превентивної терапії та лікування захворювань нирок. Беручи до уваги встановлений факт, що флокалін, крім активації  $K_{ATP}$  каналів, інгібує високوپорогові кальцієві та потенціалозалежні натрієві канали клітинних мембран [34, 468, 514], а також нефропротекторну ефективність недигідропіридинових БКК [53, 25], оцінку ниркових функцій проводили шляхом співставлення ренальних ефектів флокаліну та дилтіазему.

### **Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.**

Дисертаційна робота виконувалась у межах науково-дослідної роботи центральної науково-дослідної лабораторії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» (м. Чернівці): «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 «Дизрегуляторні порушення нейроімуноендокринних взаємовідносин та шляхи їх корекції», № держреєстрації 0114V002469, яка виконується на кафедрах фізіології імені Я.Д. Кіршенבלата та фармакології. Автор є співвиконавцем зазначених планових наукових тем і відповідальним виконавцем досліджень стосовно функціонально-структурно-біохімічного стану нирок під впливом модуляторів іонних каналів на тлі фізіологічних водно-сольових навантажень, а також за умов розвитку патології нирок.

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

**Завдання дослідження.**

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 флокаліну з інгібіторами ангіотензин-перетворювального ферменту.
3. Оцінити вплив флокаліну і дилтіазему на волюмо-, кислото-, іонорегулювальну та екскреторну функції нирок за умов гострої сулемової та гіпоксичної гістогемічної 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 гістогемічної 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 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  $K_{ATP}$  каналів.

*Об'єкт дослідження.* Фармакологічна корекція функціонального стану нирок при гострому та хронічному патологічному процесі шляхом аденозинтрифосфатзалежних 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.

**Методи дослідження.** Для вирішення поставлених завдань використовувались фармакологічні, фізіологічні, патофізіологічні, біохімічні, гістологічні та статистичні методи дослідження.

**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  $K_{ATF}$  каналів з інгібіторами ангіотензин-перетворювального ферменту.

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

Розроблено спосіб моделювання поєднаного гіпоксичного гемічного і гістотоксичного пошкодження нирок. Встановлено факт переважаючої дії флокаліну відносно ділтіазему 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 та сукцинатдегідрогенази в тканинах нирок незалежно від етіопатогенезу нефропатії. Виявлено переважні регуляторні впливи флокаліну на процеси необмеженого протеолізу, колагенозу, ферментативного фібринолізу, які разом зі збільшеним енергозабезпеченням ниркових процесів у значно більшій мірі, ніж під впливом ділтіазему, стримують деструкцію клітин і характеризуються більш вираженою позитивною структурною перебудовою нефроцитів.

Встановлено, що захисні впливи активатора  $K_{ATF}$  каналів на судинно-клубочковому та клітинно-каналцевих рівнях не залежать від стадії розвитку сулемової та гіпоксичної гістогемічної нефропатії, тоді як ділтіазем 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  $K_{ATP}$  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 можуть бути використані у навчальному процесі при викладанні фундаментальних і клінічних дисциплін; у роботі науково-дослідних лабораторій відповідного спрямування; при написанні підручників та монографій з теоретичної медицини.

Результати досліджень впроваджено у науково-дослідну роботу ДП «Український науково-дослідний інститут медицини транспорту МОЗ України», м. Одеса (протокол №4 від 24.06.2015), у науковий та навчально-педагогічний процес кафедр: фармакології з клінічною фармакологією ДВНЗ «Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського МОЗ України» (протокол №1 від 27.08.2015), фармакології ДВНЗ «Івано-Франківський національний медичний університет» (протокол №1 від 28.08.2015), фармакології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол №1 від 28.08.2015), фармакології Національного медичного університету ім. О.О. Богомольця (протокол №3 від 14.09.2015), експериментальної та клінічної фармакології з клінічною імунологією та алергологією ВДНЗ України «Українська медична стоматологічна академія», м. Полтава (протокол №2 від 31.08.2015), фармакології Львівського

національного медичного університету ім. Д. Галицького (протокол №1 від 25.09.2015), фармакології та медичної рецептури Харківського національного медичного університету (протокол №2 від 31.08.2015), фармакології і клінічної фармакології ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (протокол №1 від 31.08.2015), фармакології та медичної рецептури Запорізького державного медичного університету (протокол №1 від 28.08.2015); а також кафедр фармакології (протокол №4 від 22.09.2015), патологічної фізіології (протокол №1 від 25.08.2015), фармації (протокол №4 від 12.10.2015) Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет», м. Чернівці.

**Особистий внесок здобувача.** Внесок автора в отриманні наукових результатів є основним і полягає у визначенні напрямку, об'єму і методів дослідження; у постановці мети і формулюванні завдань; безпосередній участі у виконанні всіх фармакологічних, фізіологічних патофізіологічних, морфологічних, біохімічних експериментальних досліджень; статистичному аналізу та узагальненні результатів; написанні та оформленні дисертаційної роботи; формулюванні положень, що виносяться на захист, наукового значення, висновків. За консультативної допомоги наукового консультанта д.мед.н., професора, заслуженого діяча науки і техніки України А.І. Гоженка відтворено експериментальну модель комбінованої ГГГН, сплановано етапи виконання досліджень, залежно від стадій розвитку нефропатій, опубліковано сумісні наукові праці.

**Апробація результатів дисертації.** Основні положення наукової роботи доповідалися та обговорювалися на II, III, IV Національному з'їзді фармакологів України (Дніпропетровськ, 2001; Одеса, 2006; Київ, 2011); на науковому форумі «Актуальні питання клінічної та експериментальної фармакології» присвяченому 170-річчю кафедри фармакології та клінічної фармакології НМУ ім. О.О. Богомольця (Київ, 2011); на науково-практичних конференціях: «Механізми фізіологічних функцій в експерименті та клініці», присвяченій 110-річчю від дня народження професора Я.П. Склярова (Львів,

2011), «Креативні напрямки в діагностиці, патогенезі та лікуванні внутрішніх хвороб» (Запоріжжя, 2011), «Проблемні питання діагностики і лікування хвороб нирок» (Луцьк, 2012), «Коморбідність у клініці внутрішньої медицини: фактори ризику, механізми розвитку та взаємообтяження, особливості фармакотерапії» (Чернівці, 2013); на III з'їзді токсикологів України «Сучасні проблеми токсикології. Безпека їжі середовища життєдіяльності людини» (Київ, 2011); на V Національному конгресі «Людина та ліки – Україна» (Київ, 2012); «Up to date: нефрологія та діаліз» (Чернівці, 2015); на міжнародних науково-практичних конференціях: «Актуальні досягнення медичних наукових досліджень в Україні та країнах ближнього зарубіжжя» (Київ, 2012), «Мікроелементи в медицині, ветеринарії, харчуванні: перспективи співпраці і розвитку» (Одеса, 2014); 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), «Фармакологія, фізіологія і патологія нирок, сечовивідних шляхів та водно-сольового обміну» (Харків, 2014), «Актуальні питання експериментальної і клінічної біохімії та фармакології» (Тернопіль, 2014), «Актуальні питання експериментальної та клінічної патофізіології» (Вінниця, 2014), «13-ті, 14-ті читання імені В.В. Підвисоцького» (Одеса, 2014, 2015); на VI Конгресі патофізіологів України (Ялта, 2012) на національному конгресі «Клінічна фармація: 20 років в Україні» (Харків, 2013); на IV з'їзді нефрологів України (Київ, 2013); на I Євразійському з'їзді патофізіологів «Состояние и перспективы развития патофизиологии в современных условиях» (Алмати, 2013); на VII Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Клінічна фармакологія та фармакотерапія захворювань в світлі доказової медицини» (Вінниця, 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 «Фізичне виховання, спорт та здоров'я людини у сучасному суспільстві» (Чернівці, 2014); на IV з'їзді фізіологів СНД (Сочі-Дагомис, 2014); на Всеросійській конференції з міжнародною участю «Инновации в фармакологии: от теории к практике», присвяченій 90-річчю академіка А.В. Вальдмана (Санкт-Петербург, 2014); на науково-практичній інтернет-конференції з міжнародною участю «Значення морфологічних наук на сучасному етапі розвитку медицини» (Чернівці, 2014); на підсумковій LVIII науково-практичній конференції «Здобутки клінічної та експериментальної медицини», присвяченій пам'яті ректора, чл.-кореспондента НАМН України, професора Л.Я. Ковальчука (Тернопіль, 2015); на підсумкових науково-практичних конференціях професорсько-викладацького персоналу Вищого державного навчального закладу України «Буковинський державний медичний університет» (Чернівці, 2010-2015).

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 49 наукових робіт: 22 статті у фахових наукових журналах України, 5 статей у зарубіжних виданнях, 22 роботи в матеріалах і тезах доповідей з'їздів, конгресів, конференцій; отримано 2 Патенти України на корисну модель; видано 1 нововведення.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота включає вступ, огляд літератури, матеріали та методи досліджень, сім розділів власних досліджень, аналіз та узагальнення результатів досліджень, висновки, список використаних джерел літератури (всього 530: 192 – кирилицею та 338 – латиницею). Дисертація викладена на 337 сторінках машинописного тексту, ілюстрована 54 таблицями, 24 рисунками.

## РОЗДІЛ 1

### СУЧАСНІ ФАРМАКОЛОГІЧНІ ПІДХОДИ ДО ЛІКУВАННЯ ПАТОЛОГІЇ НИРОК І ПЕРСПЕКТИВИ РОЗВИТКУ НЕФРОПРОТЕКЦІЇ (огляд літератури)

#### **1.1. Основні механізми розвитку гострого ураження та хронічної хвороби нирок**

Гостре ураження нирок є частим ускладненням перебігу критичних станів і хронічних соматичних захворювань, що призводить до зростання летальності та смертності пацієнтів і є наслідком як прямої дії нефротоксичних агентів, так і інших вторинних патогенетичних чинників. У результаті швидко прогресуючого погіршення діяльності нирок при ГПН виникає ряд порушень, у першу чергу – водно-електролітний дисбаланс [348]. Клінічно ГПН визначають як зниження функцій нирок, при якому відмічають раптове (протягом 48 годин) абсолютне зростання креатиніну плазми крові від початкового рівня на 0,3 мг/дл (26,4 мкмоль/л) і вище, відносне зростання сироваткового креатиніну на 50% і більше або олігоурію – менше 0,5 мл/кг/год протягом 6 годин і більшого часу [126]. В подальшому планується перегляд цих критеріїв, оскільки ідентифіковані генетичні маркери та біомаркери канальцевого і клубочкового пошкодження, зокрема: інтерлейкін-18 (IL-18) сечі [323, 324, 405], нейтрофільний желатиназо-асоційований ліпокалін (NGAL) сечі та плазми [263, 385], цистатин С [171], молекула пошкодження нирки-1 (KIM-1) [339, 340].

За патофізіологічними механізмами розвитку виділяють три категорії ГПН – преренальне, ренальне та постренальне. Преренальне ураження не асоціюється з фоною структурною патологією нирок, а фактично спочатку є функціональною відповіддю на ниркову гіпоперфузію. Остання розвивається при будь-яких захворюваннях або патологічних станах з гіповолемією, низьким серцевим викидом, системною вазодилатацією та зменшенням АТ або ренальною вазоконстрикцією, що надалі призводить до гіпоксичного

пошкодження паренхіми нирок. Відповідна лікувальна тактика при преренальному ГПН спрямована на нормалізацію ниркового кровотоку з урахуванням первинного етіологічного чинника гіперперфузії [320, 430].

Постренальне ушкодження є результатом механічної обструкції верхніх або нижніх відділів сечовивідної системи, що від самого початку призводить до підвищення тиску всередині каналців і зменшення швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ). У структурі ГПН його частка становить менше 5% [199].

На відміну від пре- і постренального ГПН, ренальне ураження розвивається на ґрунті первинно існуючої гострої та, переважно, тривалої внутрішньониркової патології. У зв'язку з цим, усунення етіологічних чинників не завжди призводить до нормалізації ниркових функцій. Так, ренальне ГПН може виникати на тлі пошкодження гломерулярного апарату (різної етіології), переважного ураження каналців (у результаті тривалої ішемії нирок, дії ендо- та екзогенних токсикантів) або гострої патології інтерстицію (гострого нефриту) при алергічних, інфекційних, інфільтративних процесах тощо [326, 334]. Існують також і судинні причини ренального ураження, зокрема при патології крупних судин (двобічний стеноз ниркових артерій, тромбоз ниркових вен) та мікроциркуляторного русла (васкуліти, атеросклеротична хвороба нирок, тромботичні мікроангіопатії тощо) [224].

Таким чином, близько 90% випадків ренального ГПН становлять ішемія, нефротоксини або поєднаний вплив обох чинників. Частота розвитку ренального ГПН становить 2-5% серед усіх госпіталізованих пацієнтів та 10-15% у пацієнтів, які перебувають у відділенні інтенсивної терапії. Для госпітального ГПН притаманні несприятливий прогноз і високий показник летальності – до 50-70%, який суттєво не змінився за останні десятиріччя. В більшості пацієнтів, що виживають, ниркові функції покращуються, однак не нормалізуються, а часто трансформуються у ХХН [201, 302].

У клінічній практиці на долю первинного токсичного ураження припадає близько 50% усіх випадків ГПН і ХХН. Клітини каналців нирок є надзвичайно чутливими до токсин-опосередкованого пошкодження через їх

непропорційно тривалий контакт з циркулюючими хімічними сполуками та високу внутрішньоклітинну концентрацію токсичних речовин, особливо в клітинах каналців, завдяки процесам реабсорбції і секреції. Мають значення також значна інтенсивність ниркового кровотоку, чутливість судин до дисбалансу вазоконстрикторних і вазодилаторних чинників, висока здатність до біотрансформації токсикантів у клітинах ниркового епітелію з утворенням активних внутрішньоклітинних та циркулюючих метаболітів. Загальноприйнятою є думка, що токсин (чи його метаболіт) ініціює власну руйнівну дію за допомогою зв'язування з біологічно важливими клітинними макромолекулами або шляхом продукції активних форм кисню. В обох випадках активність макромолекул (білків і ліпідів плазматичної мембрани, ядер, лізосом, мітохондрій) порушується, що в кінцевому результаті призводить до клітинного пошкодження.

Часто критичною мішенню токсинів стають мітохондрії – ключові генератори клітинної АТФ [98, 405]. Наслідком порушення окислювального фосфорилування і недостатності АТФ стає зміна клітинного іонного балансу зі зменшенням внутрішньоклітинного вмісту  $K^+$ , збільшенням вмісту  $Na^+$  та деполяризацією мембрани. Одночасно спостерігається зростання концентрації цитозольного вільного  $Ca^{2+}$ , що може відбуватись як на ранніх, так і на пізніх стадіях клітинного пошкодження та є вирішальним у загибелі клітин. Збільшений вміст  $Ca^{2+}$  активує кальційзалежні нейтральні протеази (кальпаїни), що приймають участь у внутрішньоклітинному протеолізі. Інтенсифікація процесів перекисного окислення ліпідів і утворення його кінцевих продуктів активує інші ферменти, відповідальні за руйнування клітин (фосфоліпаза A2 тощо), які гідролізують фосфоліпіди клітинної мембрани та внутрішньоклітинні цистеїнові протеїнази (каспази) – ключові компоненти механізмів апоптозу [367]. Гідроліз мембранного субстрату спричиняє підвищене надходження позаклітинних іонів хлору, які прискорюють термінальне набухання клітин.

Нефротоксичні агенти можуть ставати причиною різноманітних клінічних варіантів пошкодження нирок, зокрема гострого тубулярного некрозу, гострого або хронічного інтерстиційного нефриту, медулярного (папілярного) некрозу нирок, гломерулонефриту, мембранозної нефропатії та у подальшому призвести до артеріальної гіпертензії [404].

Механізм розвитку ГПН складний і в більшості випадків поєднує токсичне, імуноалергічне ураження ниркової паренхіми та, як обов'язковий компонент – порушення гемодинаміки з явищами гіпоксії нирки [404, 456, 458]. У медичній практиці причиною такої патології можуть стати антибактеріальні препарати: антибіотики (аміноглікозиди, цефалоспорини, пеніциліни, поліміксини), сульфаніламід (сульфадимезин, сульфадиметоксин), фторхінолони (норфлоксацин), цитостатики (доксорубіцин, цисплатин, метотрексат, похідні нітрососечовини), рентгеноконтрастні речовини (іогексол), імуносупресори (циклоспорин А), противірусні препарати (ацикловір, валацикловір, фоскарнет), нестероїдні протизапальні засоби (НПЗЗ) (індометацин, диклофенак, ібупрофен, напроксен, ацетилсаліцилова кислота, ацетамінофен), ІАПФ (каптоприл, еналаприл, лізиноприл), антагоністи рецепторів ангіотензину II (Анг II) (лозартан) та деякі інші медикаментозні засоби – ловастатин, манітол, пеніциламін, тіазидні діуретики [42, 114, 120, 269]. Добре відомий також нефротоксичний ефект різноманітних екзогенних хімічних агентів – солей важких металів (ртуті, кадмію, кобальту), органічних розчинників (ефірів, кетонів, нітросполук), а також ендогенних сполук – міоглобіну, гемоглобіну, іонів кальцію, сечової кислоти, оксалатів, цистину, гомоцистеїну [24, 151, 175, 190]. Рентгеноконтрастні засоби й антибіотики аміноглікозидного ряду відносяться до речовин, які найчастіше асоціюються з нефротоксичним пошкодженням у госпіталізованих пацієнтів. Частота ГПН, індукованого засобами для внутрішньовенного контрастування, становить не більше 5%, однак може збільшуватись до 50% у разі наявності чинників ризику: хронічної

ниркової патології, цукрового діабету, серцевої недостатності, прийому нефротоксичних лікарських засобів, гіповолемії [83, 197, 255]

Нефротоксичним речовинам притаманна вибірковість пошкодження тих чи інших відділів нефрона або ниркових судин. Так, НПЗЗ, ІАПФ, циклоспорин А та рентгеноконтрастні речовини індукують вазоконстрикцію, отже, можуть викликати гемодинамічно індуковане ГПН. Інтерферон-альфа та пеніциламін спричиняють ураження на рівні клубочків. Аміноглікозиди, хлорид кадмію та дихромат калію пошкоджують S1 і S2 сегменти проксимальних канальців, а цисплатин і хлорид ртуті – сегмент S3 [120, 175, 411]. Цефалоспорини, хлорид кадмію та НПЗЗ викликають запальну реакцію інтерстицію, ацетамінофен призводить до папілярного некрозу нирок.

Нефротоксини можуть знижувати ШКФ за одним або кількома механізмами: шляхом ренальної вазоконстрикції; за рахунок обструкції внаслідок преципітації лікарського засобу або ендогенної субстанції всередині збірних протоків мозкового шару нирки; прямої обструкції та дисфункції канальців, що призводить до підвищення інтратубулярного тиску і зворотного току гломерулярного фільтрату; через порушення балансу між вазоактивними медіаторами і, як наслідок, зниження ниркового перфузійного тиску, зменшення тонуусу приносячої артеріоли, підвищення тонуусу аферентної артеріоли, зниження гідростатичного тиску в капілярах клубочка.

До певної міри ГПН є зворотним процесом. У залежності від ступеня ураження нефрону можуть відбуватись процеси відновлення й адаптації (у сублетально пошкоджених клітинах) або навпаки – загибель клітин. У непошкоджених клітинах відбувається їх дедиференціація (пов'язана з тимчасовою втратою ознак спеціалізації спрощення структури), а також проліферація, міграція, диференціація та компенсаторна гіпертрофія [264]. У зворотно пошкоджених клітинах канальців виникають зміни цитоскелету та нормального розподілу мембранних білків, таких як  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФаза і  $\beta 1$ -інтегрини [260]. Останні пов'язані з компонентами цитоскелету і забезпечують передачу сигналу в клітині. Вказані зміни призводять до втрати

полярності клітинної мембрани, зниження цілісності щільних контактів та порушення клітинно-субстратної адгезії. Клітини, які отримали летальне пошкодження, гинуть за одним із механізмів – апоптозу або некрозу.

Незважаючи на інтенсивне вивчення патогенезу ГПН і безперервного пошуку нових маркерів ранньої діагностики [506-510, 512, 519], багато з його механізмів залишаються невстановленими. Відповідно, на сьогоднішній день не існує ефективного специфічного патогенетичного лікування цього стану, а існуючі лікувальні підходи вимагають подальшого вивчення. Ключовим і досі нез'ясованим лишається питання: чому і за якими механізмами постійні пошкодження нирок чи повторні загострення основного захворювання спочатку викликають зворотні зміни, але в подальшому невідворотно виникає гостра ниркова недостатність або відбувається розвиток хронічного процесу.

Багаточисленні ренальні пошкодження можуть призводити до ХХН [437, 506]. Поняття ХХН охоплює групу патологічних станів, при яких відмічається стійке зниження екскреторної функції нирок, зазвичай пошкодження ниркових структур [45, 188]. Національна ниркова асоціація США (The National Kidney Foundation – NKF) класифікує ХХН на п'ять стадій щодо вираженості ниркової дисфункції, пошкодження нирок, симптоматики та необхідної терапії [383]. ХХН визначається за ШКФ менше, ніж 60 мл/хв на  $1,73 \text{ м}^2$ , що зберігається 3 місяці, чи за ШКФ вище цього значення, але з доказами пошкодження нирок, наприклад, гіперкреатиніємії, гіперурикемії, протеїнурії чи за візуалізуючими методами дослідження [303, 318].

Переважає більшість форм ХХН є незворотними та прогресуючими, які в кінцевому результаті втрати нефронів потребують проведення замісної ниркової терапії – діалізу чи трансплантації нирки [420]. Патологічний процес може розпочинатися як тубулоінтерстиціальне, гломерулярне чи реноваскулярне захворювання та може бути результатом: системних хвороб (цукрового діабету, артеріальної гіпертензії) [379, 421, 440, 476]; аутоімунних процесів і реакції відторгнення трансплантата нирки; дії ліків, токсинів і металів; інфекційних процесів; механічного пошкодження; ішемії; обструкції

сечовивідних шляхів; первинних генетичних аномалій; невстановлених (ідіопатичних) причин. Більшість цих захворювань мають як специфічні, так і загальні патофізіологічні характеристики, що дозволило окреслити загальні механізми прогресування ХХН [37, 140, 233, 251]. Незалежно від конкретної причини патогенезу, ХХН характеризується поступовою втратою функцій нирок та надмірним накопиченням позаклітинного матриксу в клубочках і в інтерстиції каналців [462]. Прогресування ХХН асоційовано з появою загального фібротичного фенотипу, коли встановити причину захворювання можна лише за характерними морфологічними ознаками. Це зумовлено тим, що тубулоінтерстиційне захворювання призводить до ураження клубочків, а в результаті гломерулярної патології неминуче виникає пошкодження інтерстицію. В обох ситуаціях відбувається втрата нефронів і заміщення ниркових клітин тканиною, що подібна до рубцевої, прогресивне зниження ШКФ і погіршення екскреторної функції нирок. Важливо зазначити, що вираженість функціонально-морфологічних змін міцно корелює зі ступенем важкості тубулоінтерстиційного фіброзу незалежно від етіології [84, 135]. Тому має рацію припущення, що принаймні на початкових стадіях, пошкоджені каналці в більшій мірі впливають на екскреторну функцію, ніж пошкоджені та склерозовані клубочки [291]. Завдяки функціональному нирковому резерву (ФНР) зберігаються фільтраційні процеси, що в цілому позитивно відображається на діяльності нирок [40, 164]. Тим не менш, помірне порушення каналцевої реабсорбції за механізмом зворотного тубулогломерулярного зв'язку може призводити до падіння, подекуди катастрофічного, рівня ШКФ для збереження водно-електролітного балансу [38]. Зниження чи значне пригнічення фільтрації може бути також наслідком деструкції тубулярного епітелію та повної обструкції каналців тканинним детритом із подальшим порушенням ниркової гемодинаміки.

Канальці є головним структурно-функціональним компонентом ниркової паренхіми. За умов тубулопатії клітини каналців продукують профібротичні та прозапальні фактори (фактори 3 і 4 комплексу,



асиметричний диметиларгінін, TGF- $\beta$ , Анг II, ендотелін, фактори активації і росту тромбоцитів, інтерлейкін 6, PG E<sub>2</sub> тощо), які виконують спочатку відновлювальну роль, однак у подальшому стають паракриними механізмами пошкодження клубочків [220, 490, 494]. Розвиток фіброзу є фінальним процесом, де фазу запалення змінює фіброгенез у клубочках і в інтерстиції нирок [319]. Ряд цитокінів, факторів росту і протеїнів системи комплементу шляхами, пов'язаними з нуклеарним фактором типу  $\kappa B$  (NF- $\kappa B$ ), потенціюють мезангіальні клітини до вивільнення хемотаксичних факторів [432].

Одним із головних ефекторів, який задіяний в активації резидентних клітин при нефропатіях, у тому числі і гіпоксичних, є Анг II [273, 306]. За нетривалий термін Анг II діє на мезангіальні клітини, індукує підвищення іонів кальцію та інозитолфосфату в цитозолі, синтез PG і скорочення клітин. У віддаленому періоді Анг II індукує процеси проліферації та гіпертрофії, посилює продукцію міжклітинного матриксу [209]. Вазоконстрикція під впливом Анг II спричиняє зменшення ниркового кровотоку та, крім зменшення ШКФ, викликає ще більший дефіцит кисню та гіпоксію. Гіпоксія підвищує загибель клітин та активує HIF (гіпоксія-індукований фактор), який сприяє фіброзу [319, 473, 528]. Крім того, гіпоксія знижує запаси внутрішньоклітинного АТФ і таким чином індукує некроз клітин.

У більшості варіантів ХХН змінюється селективність і проникність гломерулярного фільтраційного бар'єру. Вважається, що за умов пошкодження клубочків, механізмом залучення тубулоінтерстиційного простору в патологічний процес є підвищена реабсорбція протеїнів у проксимальних каналцях внаслідок клубочкової гіперфільтрації. Результатом є збільшення синтезу цитокінів у каналцях, що сприяє інфільтрації імунними клітинами інтерстицію та активації імунзапальної відповіді [257]. Аномальна гіперфільтрація провокує взаємодію біоактивних макромолекул з епітеліальними клітинами проксимальних каналців, активує сигнальні, в тому ж числі і Nf- $\kappa B$  типу, шляхи [304]. При цьому комплекс мегалін-кубілін опосередковує захоплення протеїнів, включно й альбуміну, а також приймає

участь у взаємодії альбумінурії з прозапальними та профібротичними сигналами [362]. Певну роль можуть відігравати неонатальний Fc-рецептор (рецептор Fc фрагмента IgG, продукт гена людини FCGRT) і CD36 (мембранний білок) мутації генів [378]. Більш того, додавання альбуміну чи трансферину до клітин каналців знижує їх здатність до зв'язування фактору H і протидії активації системи комплемента. Альбумін також може бути джерелом потенціальних антигенних пептидів при пошкодженні нирок [424]. Протеїнурія є не просто маркером, але й ефектором нефропатії [198, 303, 428, 521, 530]. Це підтверджується фактами, які засвідчують прямий взаємозв'язок рівня екскреції білка з розвитком захворювання, а також фармакологічного антипротеїнуричного ефекту з реверсуванням патології нирок [155, 178, 289].

Ймовірним результатом пошкодження ниркових судин є ХХН. Реноваскулярні захворювання можуть прямо змінювати структуру і функцію нирок за рахунок ініційованого атеросклерозом оксидативного стресу, ендотеліальної дисфункції та запалення, що послідовно призводить до фіброзу та зниження фільтрації; створення умов для гіпоперфузії; ішемії клубочків і каналців; розвитку артеріальної гіпертензії [268, 356, 359, 360]. Ядра склерозу мають свій початок у місцях злиття між капілярами та капсулою Боумена гломерул на ділянці базальної мембрани з недостатньою кількістю подоцитів, що в кінцевому підсумку призводить до утворення парагломерулярного простору. Припускається, що вміст парагломерулярного простору (ектопічний фільтрат і детрит капілярних петель) відіграє значу роль в ініціації пошкодження і є ключовою ланкою між гломерулярними та каналцевими порушеннями [496, 503, 520]. Зростає кількість доказів на користь того, що навіть у випадках таких традиційних гломерулопатій, як діабетична нефропатія, ще до виявлення перших ознак гломерулярної патології, має місце деякий ступінь пошкодження каналців [265]. Такі факти спонукають переглянути концепцію розділу гломерулярних і каналцевих захворювань на користь більш інтегративного уявлення про нефропатії.

Незалежно від етіології ренальної дисфункції активуються компенсаторні механізми, які також приймають участь у формуванні хибного кола в патогенезі нефропатій [346, 439]. До таких реакцій належать артеріальна гіпертензія та гіперактивність периферичної чи ниркової симпатичної нервової системи [73, 92, 361, 365], що зазвичай спостерігається у пацієнтів з ХХН. Підвищення тонуру ренін-ангіотензин-альдостеронової системи (РААС) є ініціатором вазоконстрикції та скорочення мезангія, процесів колагенозу, що призводить до зниження коефіцієнту ультрафільтрації та ШКФ, до загибелі клітин і втрати нефронів [497].

За умов прогресування ХХН створюється універсальна патофізіологічна картина з запаленням, фіброзом, втратою нефронів і рубцюванням паренхіми [315, 438]. У переважній кількості випадків, сучасні методи медикаментозної терапії є достатньо ефективними лише для віддалення термінів застосування замісної ниркової терапії. Слід зазначити, що чіткі патологічні ознаки ХХН, зокрема збільшення рівня креатиніну в плазмі крові, проявляються лише після втрати функцій більш як 50% нефронів, що значно ускладнює вчасну діагностику хвороби. Разом з тим, не тільки пошук біомаркерів ранньої діагностики патології нирок є предметом активних досліджень [46, 87, 113, 322-324]. Не втрачає актуальності питання вдосконалення терапевтичних підходів у нефропротекції на підґрунті нових наукових відомостей стосовно можливостей фармакологічної модуляції адаптивно-компенсаторних і патофізіологічних механізмів у нирках для попередження розвитку чи досягнення регресу нефрологічних захворювань [412].

## **1.2. Сучасна стратегія медикаментозного захисту нирок**

Сучасна нефрологічна практика стикається принаймні з трьома надто важливими проблемами. Перш за все, спостерігається фактичне збільшення кількості хворих з ренальною патологією. Визначальними факторами, крім ГПН, є подальше поширення ХХН [396]. Згідно з даними останніх епідеміологічних досліджень, розповсюдженість ХХН в Україні становить 7–

10%, більше 400 тисяч пацієнтів мають ознаки ХХН, прогресування якої призводить до повної втрати функцій нирок [68, 184, 483]. ХХН включає цілу групу відомих нозологій: первинний гломерулонефрит і гломерулонефрит як прояв ниркових дисфункцій системних захворювань (цукровий діабет, артеріальна гіпертензія), вроджені нефропатії, хронічний пієлонефрит, інтерстиційний нефрит, а також – безсимптомні та малосимптомні ураження нирок [66, 141, 147].

Стрімкий ріст числа такого контингенту зумовлений прогресуванням захворюваності на цукровий діабет, старінням населення та, відповідно, підвищенням кількості пацієнтів з пошкодженням нирок судинного генезу [474, 479]. По-друге, результати лікування більшості ниркових хвороб лишаються незадовільними, незважаючи на певні успіхи нефрологічної терапії. Причинами недостатньої ефективності медикаментозних підходів слугують: переважне застосування препаратів, які впродовж багатьох років є на фармацевтичному ринку, віддаленість превентивних етапів, розвиток взаємопов'язаної ренально-поліорганної дисфункції, нефротоксичність базових засобів лікування асоційованих (ко- чи поліморбідних) станів [127, 156, 165, 411]. Вищезазначені фактори призвели до зростання кількості пацієнтів, які потребують замісної ниркової терапії. Безумовно, еволюція сучасних технологій сприяє значному продовженню тривалості життя хворих з термінальною стадією ниркової патології. Однак безперервна потреба в збільшенні діалітичних місць чи в органах для трансплантації спричиняє значні організаційні та соціально-фінансові труднощі [369]. Крім того, навіть за умов більшої доступності замісних методів лікування, в розвинутих країнах світу проблемними є питання фізичної та соціальної реабілітації пацієнтів [334].

Досягнути задовільного стану нефрологічного хворого, як і раннього ефекту замісної терапії, можна лише при максимальній «збереженості» пацієнта завдяки дотримання принципів нефропротекції. Реалізація мети нефропротекції щодо сповільнення прогресування ниркової патології, віддалення гострої ниркової недостатності, оптимізації якості життя пацієнтів

та покращення результатів трансплантації нирки потребує комплексу заходів, серед яких провідне місце належить лікарським препаратам. Уточнення адаптаційних і патофізіологічних механізмів, окреслення та стратифікація факторів ризику дали можливість розробити ґрунтовні схеми етіологічного і патогенетичного лікування ГПН і ХХН. Накопичено успішний досвід нефропротективної стратегії при діабетичній нефропатії [208, 397, 403, 409, 441, 447], нефросклерозі при гіпертонічній хворобі [223, 445], морбідному ожирінні та метаболічному синдромі [371, 395, 400, 529], при мезангіопроліферативному нефриті (IgA-нефропатії) та мембранозному нефриті [297, 298, 431]. Однак, ренальна цитопротекція не повинна застосовуватись при ГНН та хронічній термінальній нирковій недостатності, коли єдиним життєво-забезпечувальним методом являється ниркова замісна терапія [236, 300, 382]. Між тим, нефропротекція неефективна при дифузних захворюваннях нирок високої активності: первинних та вторинних швидкопрогресуючих нефритах, гострому лікарському тубулоінтерстиційному нефриті – коли показані високі дози глюкокортикостероїдів, цитостатиків, плазмаферез. Порівняно з етіотропною терапією (антибактеріальною, противірусною), результативність нефропротекції значно нижче при захворюваннях нирок зі встановленою етіологією – дифузному нефриті при підгострому інфекційному ендокардиті, ВІЛ-асоційованій нефропатії, HCV-позитивному (інфекція вірусу гепатиту С) кріоглобулінемічному мезангіокапілярному нефриті, HBV-позитивній (інфекція вірусу гепатиту В) мембранозній нефропатії, малярійній нефропатії, паратуберкульозному нефриті, паранеопластичній нефропатії тощо. Від імуносупресивної та етіотропної терапії нефропротекція відрізняється універсальним підходом, а також менш важкими і більш оборотними побічними ефектами.

Результати багаторічних науково-практичних досліджень, присвячених розробці сучасних підходів до медикаментозного захисту нирок, дозволили окреслити переважні орієнтири нефропротективної стратегії. Перш за все, це

класи лікарських засобів, що впливають на фактори, які модифікуються при ураженні нирок та хронізують процес: протеїнурія, клубочкова гіпертензія, системна артеріальна гіпертензія (інгібітори РААС, «подвійні» інгібітори вазопептидаз, БКК [200, 225, 363, 386, 499]; гіперсимпатикотонія ( $\beta$ -адреноблокатори) [309]; гіпоперфузія нирок і креатинінемія (діуретики) [136, 448]; гіперліпідемія (статици) [204, 275, 279, 447]; гіперурикемія (урикодепресанти) [486]; коагуляція і порушення мікроциркуляції (дезагреганти, вазодилататори, антитромбоцитарні засоби, низькомолекулярні гепарини) [278, 293, 328]. Сповільнюють прогресування нефросклеротичних процесів і розвиток ХХН антиоксиданти та антигіпоксанти [7, 128, 429], стимулятори репарації клітин, рослинні нефропротектори з політропною органопротекторною дією [32, 78, 173, 377]. Комплексний підхід до медикаментозного лікування нефрологічних хворих також передбачає корекцію глікемії, анемії, порушень фосфорно-кальцієвого обміну [501].

Ключовою ланкою нефропротекції є блокада РААС [221, 466, 477]. До групи лікарських засобів, які пригнічують активність циркулюючої та тканинних РААС відносяться ІАПФ, БРА II, антагоністи альдостерону, інгібітори реніну [56, 227]. У нирках надзвичайно високими є концентрації ангіотензиногену і найвищі в організмі концентрації АПФ. Встановлено, що інтратренальний Анг II формується з ангіотензину I, що потрапляє з кровотоку і утворюється в самій нирковій тканині [209, 505]. Тому Анг II значно збільшується в нирках навіть за умов зниженого в плазмі крові рівня реніну. Основним джерелом Анг II у клубочковій тканинній РААС є гломерулярні подоцити, а також – гломерулярні мезангіальні клітини і клітини проксимальних звивистих каналців. Чутливі до Анг II  $AT_1$ -рецептори розташовані на люмінальній поверхні каналцевих клітин впродовж всього тубулярного відділу нефрону, в гладкій мускулатурі аферентної та еферентної артеріол, у мезангіальних клітинах клубочків [211, 344].  $AT_1$ -рецептори не тільки приймають участь у модуляції судинного тонуусу, але і в прямій стимуляції Анг II тубулярної реабсорбції іонів натрію та води.

Негемодинамічні ефекти клітинної РААС, які взаємопов'язані з гемодинамічними впливами, також відіграють провідну роль у патогенезі гострої і хронічної патології нирок [284, 285]. Встановлено прямий вплив Анг II на проникність клубочкової мембрани і розвиток протеїнурії – незалежного і вельми значимого фактору прогресування ренальної патології [222, 370]. При гіперреактивності РААС Анг II посилює експресію в подоцитах і мезангіальних клітинах клубочків TGF- $\beta$ , VEGF і PDGF [504, 520, 524]. Наслідком цих процесів є прискорення апоптозу і патологічної структурно-функціональної перебудови ниркових клітин та втрата частки функціонуючих нефронів. Одним із ланцюгів механізмів дисфункції нирок є активація макрофагів і фагоцитозу під впливом Анг II, що посилює запальний компонент прямого механічного пошкодження подоцитів і мезангіальних клітин при гіперреактивності ренальної РААС [351]. Нарешті, Анг II симулює утворення наднирниками мінералокортикоїда альдостерону, який (як і ендотелін-1) залучається до процесу ремоделювання нирок [2, 454].

Ступінь зниження альбумінурії на тлі блокади РААС асоційований з підвищенням рівня цитопротекції у нефрологічних пацієнтів. Практично всі дослідження, які аналізують результати довгострокового лікування хворих з артеріальною гіпертензією і цукровим діабетом констатують антипротеїнуричний ефект ІАПФ (еналаприл, моноприл, раміприл, фозиноприл, спираприл, моексиприл), БРА II (валсартан, ірбесартан, кандесартан, лозартан, телмісартан), порівняно з іншими схемами лікування без вказаних класів ліків [213, 254, 296, 358]. Слід враховувати, що еналаприл, кандесартан переважно виводяться нирковою екскрецією, тому призначаються в дебюті нефропатії [446]. Навпаки, при прогресуванні патології нирок (зниження ШКФ, гіперкреатиніємія) перевагу слід надавати медикаментам з подвійними шляхами виведення (моноприл, квадроприл, ірбесартан) чи з переважним виведенням печінкою з жовчю (моексиприл, телмісартан) [387]. Однак, незважаючи на взаємозв'язок між активністю РААС і прогресуванням протеїнурії, суттєве зниження альбумінурії під

впливом ІАПФ і БРА II спостерігається переважно при ренальній дисфункції діабетичного та гіпертензивного генезу [406]. Вважається, що в інших клінічних ситуаціях перевагу слід надавати БКК,  $\beta$ -адреноблокаторам і діуретикам. Ряд досліджень свідчать про ефективність інгібіторів РААС лише за умов їх комбінування з представниками вказаних вище груп нефропротекторів, залежно від стадій нефропатії, стану органів-мішеней, коморбідної патології [202, 253, 256, 444, 526]. Крім того, блокада ефектів Анг II спричиняє гіперурикемію, підвищує рівень іонів калію в плазмі крові та не запобігає утворенню альдостерону. Навпаки, завдяки гіперкаліємії та втручанню інших механізмів, викид альдостерону збільшується. Відомо, що альдостерон приймає участь у регуляції обміну іонів натрію, калію, судинного об'єму рідини і, разом з тим, є стимулятором клітинної гіпертрофії та фіброзу [349]. Наслідками індукованої гіперкаліємією стимуляції викиду альдостерону є посилення склерозування інтерстиціальних тканин, наростання протеїнурії та прогресування ХХН. Існують експериментальні дані, які вказують на зменшення процесів фіброзування в нирках і значний антипротеїнуричний ефект у конкурентного антагоніста альдостерону – спіронолактону, а також у нового селективного інгібітора альдостерону – еплеренону [467]. Однак вагомою перешкодою до призначення калійзберігаючих діуретиків при прогресуванні нефропатії є небезпека розвитку гіперкаліємії [417, 478].

Пригнічують утворення головного ефекторного пептиду РААС і, таким чином, відтворюють ниркові ефекти ІАПФ інгібітори вазопептидаз (омапатрилат, ілепатрил). Подібно до ІАПФ, вказані препарати також збільшують продукцію в нирках семипептидного ангіотензину (Анг 1-7) – внутрішньосистемного функціонального антагоністу Анг II і підвищують активність ниркової калікреїн-кінінової системи [489]. Додаткова блокада препаратами нейтральних ендопептидаз, які здійснюють метаболізм різноманітних поліпептидів, перешкоджає протеолізу натрійуретичних пептидів, брадикініну та адреномедуліну. Такими механізмами забезпечується гіпотензивний, діуретичний і натрійуретичний ефекти, покращується



нирковий кровотік, пригнічуються процеси проліферації мезангіальних клітин, інтерстиційних фібробластів, запалення в клубочках, склеротичного та іншого пошкодження клітин [280, 355]. Експериментальна оцінка нефропротективних властивостей блокаторів вазопептидаз показала більшу ефективність і тривалість дії препаратів у порівнянні з ІАПФ при субтотальній нефректомії та діабетичній нефропатії [436, 464]. Однак дані, які були отримані у щурів з експериментальною гіперреніноюю та злоякісною NO-дефіцитною солечутливою гіпертензивною нефропатіями, продемонстрували відсутність переваг інгібіторів вазопептидаз над ІАПФ. Послідуючі набуті клінічні дослідження омапатрилату (OCTAVE, OVERTURE) і результати Пб/ІІ фази клінічних випробувань ілепатрилу виявили високу частоту розвитку ангіоневротичного набряку [408, 527]. У теперішній час пошук нових шляхів впливу на РААС активно продовжується. Вивчаються інші, міцно взаємопов'зані фармакологічні системи і створюються препарати з множинними механізмами впливу на АПФ, нейтральні ендопептидази, ендотелін-перетворювальний фермент [286].

У тих ситуаціях, коли ІАПФ і БРА ІІ не показані чи їх застосування обмежує розвиток побічних ефектів, призначається перший прямий інгібітор реніну аліскірен [433, 449]. Пригнічення утворення ферменту реніну, який зумовлює трансформацію ангіотензиногену в ангіотензин І [415], є етапом перешкоджання подальшої активації РААС. Об'єктами демонстрації нефропротективних ефектів аліскірену слугували дані дослідження COOPERATE [207]. Було показано, що препарат зменшує альбумінурію, достовірно перевершуючи монотерапію ІАПФ чи БРА, знижує вірогідність погіршення функції нирок при протеїнурії більше, ніж 1 грам за добу. Слід зауважити, що нефропротективні ефекти аліскірену проявлялись у клінічних ситуаціях, переважно асоційованих з артеріальною гіпертензією: метаболічному синдромі, діабетичній нефропатії, ХХН, реноваскулярній артеріальній гіпертензії різноманітного походження, гіперкреатиніемії внаслідок застосування ІАПФ чи БРА. Лише 0,6% препарату виводиться з

сечею, що забезпечує певні переваги для застосування аліскірену. Однак незавершеність ряду досліджень, недостатня інформація про переносимість та ризик нейрогуморального дисбалансу при монотерапії чи комбінуванні зумовлює обережне призначення аліскірену пацієнтам з вираженим порушенням функцій нирок.

До препаратів, які гальмують секрецію реніну нирками відносяться  $\beta$ -адреноблокатори. За умов нефрологічної патології надають перевагу високо селективним до  $\beta$ -1 адренорецепторів препаратам. Вагомим підґрунтям для призначення  $\beta$ -адреноблокаторів є кардіоренальний континуум. Найбільш переконливим є досвід застосування бісопрололу та карведилолу [281, 310, 398]. Є дані, які засвідчують рівнозначний за інтенсивністю впливам ІАПФ нефропротективний ефект при використанні атенололу та метопрололу ацетату [258]. Пропранолол, метопролол і піндолол призначають при ХХН у звичайних дозах. Дози атенололу, ацебутолу, небівололу, бісопрололу, бетаксололу слід знижувати в межах від 20% до 50% у відповідності до ступеню важкості ХХН. Незважаючи на деякі різночитання даних невеликих мета-аналізів, домінує думка, що антагоністи  $\beta$ -адренорецепторів негативно впливають на нирки внаслідок зменшення серцевого викиду, об'єму циркулюючої крові, пригнічення ренального кровотоку. Разом з тим, при лікуванні препаратами також можливим є виникнення гіперкаліємії [49, 226]. Тривале застосування  $\beta$ -адреноблокаторів, як і інших засобів впливу на РААС, потребує моніторингу електролітів плазми крові та функцій нирок.

Серед блокаторів входу іонів кальцію в клітини перевагу в нефропротекції надають недигідропіридиновим похідним – представникам фенілалкіламінового (верапаміл) і бензотіазепінового ряду (дилтіазем) [522]. Препарати переважно виводяться печінкою і не потребують корекції дози. Про негативний вплив окремих дигідропіридинових БКК на функцію нирок свідчать результати рандомізованих клінічних досліджень [305]. Поряд з тим існують переконливі наукові дані стосовно ренопротективних впливів препаратів групи дигідропіридину – фелодипіну, лерканідипіну [228, 357].

Водночас, є низка публікацій про посилення клінічної ефективності інших ренальних цитопротекторів за умов поєднання з різними за хімічним складом БКК [262, 284, 443]. Порівняно з ІАПФ, БКК не викликають гіперкаліємію, не затримують іони натрію і воду. Підґрунтям до раціонального використання БКК у нефрологічній практиці слугують накопичені дані щодо фізіології клітинного транспорту  $\text{Ca}^{2+}$ . Важлива роль внутрішньоклітинного вмісту іонів  $\text{Ca}^{2+}$  у контролі судинного тонуусу, метаболічних процесів, клітинних функцій та діяльності нирок спонукає на подальші дослідження нефропротективних властивостей модуляторів входу іонів кальцію в клітини.

Переважає кількість пацієнтів з клінічно вираженою дисфункцією нирок, як правило, вимушена приймати діуретики для досягнення еуволемічного стану. Слід зазначити, що тіазидні діуретики (гідрохлортіазид, індапамід) призначаються на I-III стадіях ХХН при ШКФ менше, ніж 40 мл/хв чи при рівні креатиніну плазми крові менше, ніж 200 мкмоль/л. При вищих показниках креатинінемії тіазидні діуретики неефективні, а калійзберігаючі (спіронолактон) – протипоказані. Петльові діуретики (фуросемід, торасемід) призначають на всіх стадіях захворювання. Симптоматична дія препаратів супроводжується активацією РААС, симпатoadреналової системи. Надмірна нейрогуморальна вазоконстрикторна активність призводить до зниження гломерулярних процесів, спонукає до збільшення дози сечогінних препаратів. Крім цього, переважно для тіазидових діуретиків притаманні небажані метаболічні ефекти: гіпокаліємія, гіперглікемія, гіперурикемія, що також формує вадне коло [58, 142]. Несприятливий вплив діуретиків на патогенез ХХН реалізується і за рахунок інших складних механізмів: стимуляції факторів росту, профібротичних і прозапальних медіаторів, підвищення вмісту компонентів стимуляції РААС, ендотеліну,  $\text{TGF-}\beta$ ,  $\text{TNF-}\alpha$ , циклооксигенази-2. Результатом цих порушень і оксидативного стресу в тканинах нирок є підвищення тиску в гломерулярних капілярах та розвиток гломерулосклерозу.

Швидкість прогресування ниркових дисфункцій вдвічі більша у пацієнтів з гіперліпідемією, ніж з нормальними показниками ліпідного метаболізму [400, 450]. У теперішній час серед антигіперліпідемічних засобів статини (аторвастатин, симвастатин, ловастатин) вважаються найбільш перспективними в нефропротекції. Статини забезпечують зменшення екскреції білків, перш за все альбуміну, з сечею і гальмують прогресування нефрологічної патології. Загальновизнаним є те, що депонування певних фракцій ліпопротеїдів у структурі ниркової тканини, особливо в мезангіоцитах і подоцитах, зумовлює інтенсивне накопичення інтрацелюлярного матриксу, колагену типів IV, I, III, експансію мезангію, а також наростання гломерулярного та інтерстиційного артеріосклерозу. Токсична та профіброгенна дія на структури ниркової тканини спричиняється ліпопротеїнами, що максимально піддались перекисному окисленню при ХХН; ліпопротеїнами, що активно накопичуються при нефротичному синдромі, а також складовими дисфункції гломерулярного ендотелію [459]. Так, ряд авторів у своїх дослідженнях продемонстрували здатність різноманітних статинів інгібувати продукцію мезангіальними клітинами моноцитарного хемоатрактантного протеїну-1 (MCP-1), інтерлейкіну-6, міжклітинних адгезивних молекул, TGF- $\beta$  [301]. Слід зазначити, що антипротеїнуричний, гіпоазотемічний, протизапальний, антипроліферативний ефекти статинів демонструвались на моделях нефропатій різноманітного генезу в режимі монотерапії. Ряд клінічних досліджень підтверджують захисну роль статинів при ренальній патології, переважно за умов комплексування з іншими препаратами традиційної терапії [440]. Крім того, була показана можливість статинів знижувати продукцію активатора плазміногену I епітеліальними клітинами каналців. Особливим суттєвим недоліком класу є міопатія та здатний викликати гостру нефропатію рабдоміоліз, про що вказано в анотаціях до препаратів. Разом з тим, питання щодо патогенетичних механізмів ренопротективної дії статинів, доцільності їх застосування в ситуаціях, коли вже є ефекти від інших нефропротекторів,

вибору препаратів і схеми призначення продовжують уточнюватись. Це зумовлено частковою незалежністю плейотропних ефектів статинів від показників ліпідограми, здатністю деяких представників класу індукувати протеїнурію внаслідок пригнічення реабсорбції низькомолекулярних протеїнів у канальцях, небезпечності високих доз і гіпохолестеролемії, нефротоксичності поєднаної терапії з антагоністами вітаміну К, окремими антибіотиками і противірусними препаратами.

Лікування захворювань нирок передбачає використання рослинних нефропротекторів. Активно призначаються відомі лікарські рослини з сечогінним ефектом (березові бруньки, хвощ польовий, толокнянка, корінь і трава петрушки); сумарні (леспенефрил, леспефлан) і комбіновані (цистон, фітолізин, цистиум солідаго, канефрон Н) рослинні препарати. Перспективним лишається вивчення та пошук біологічно активних речовин рослин (флавоноїди, каротиноїди, алкалоїди) для створення на їх основі політропних органопротекторних лікарських засобів з нефротропною активністю. В багатьох рослинних препаратах діуретична дія поєднується з антигіпертензивним, гіпоазотемічним, гіпоурикемічним ефектами. Однак, існуючі тривалий час припущення про сечогінну дію переважної кількості лікарських рослин на тлі їх поліорганного захисту, суттєво змінилися думкою про протиречивість ренальних ефектів. Встановлено, що біоактивні речовини рослин здатні як потенціювати діурез, так і індукувати псевдоальдостеронову, антидіуретичну активність фітопрепаратів. На думку науковців, які сьогодні ретельно вивчають рослинні нефропротектори, перспективним є виявлення взаємозв'язку між складом, ренальними механізмами і властивостями лікарських рослин [13, 70, 78, 173]. Тому, вагоме практичне значення для розширення резерву нефропротекції мають роботи з узагальнення інформації про представників світової флори, які впливають на функції нирок.

З патогенетичних позицій нефропротекції, обґрунтованим є призначення класу антиоксидантів і антигіпоксантив. Одними з первинних медіаторів при ішемічних, токсичних, імунологічних пошкодженнях ниркової

тканини є вільні радикали кисню, які прямо проявляють токсичну дію на клітини, а також активують медіатори запалення. За цих самих умов виникає гіпоксія нефроцитів і порушується функціонування систем енергогенерації мітохондріями ниркових каналців. Дисфункція нирок проявляється і внаслідок деструктивних впливів періодичного повторення епізодів гіпоксії, і за умов тривалої дії нестачі кисню, і у постгіпоксичному періоді. Найбільш чутливим до ішемії, гіпоксії, активації перекисного окислення ліпідів, пошкоджувальної дії лізосомальних ферментів і патогенної дії кисню є проксимальний відділ нефрону [19, 38, 135]. Недостатність механізмів ниркової реабсорбції та секреції спричиняє морфологічні зміни нефроцитів, які передують розвитку того чи іншого виду клітинної дистрофії та фокального некрозу. Метаболічна корекція функцій нирок властива токоферолу ацетату, кислоті аскорбіновій, пентоксифіліну, мексидолу, мельдонію, препаратам бурштинової кислоти, L-аргініну тощо [42, 114, 176, 267]. При експериментальних гіпоксичних і токсичних нефропатіях вказані препарати сбалансовували стан про- і антиоксидантної систем, покращували морфо-функціональний стан нирок. Включення до комплексної терапії ХХН і коморбідної серцево-судинної патології аргініну глутамату та мельдонію сприяло більш вираженому зниженню маркерів активності хронічного запалення та покращенню вазорегулювальної функції ендотелію [44]. В той же час, мексидол і ряд інших антиоксидантів і гіпоксантів протипоказані при гострих патологічних процесах. Одним з основних факторів розвитку як постішемічної, так і токсичної форми ГНН є лавиноподібне посилення продукції активних форм кисню (АФК). Збільшення АФК призводить до деструкції ліпідної основи клітинних мембран, індукції надмірного синтезу NO з утворенням надтоксичного для клітин пероксинітриту та інших негативних факторів пошкодження клітин паренхіми з втратою функціональної повноцінності нирок [176]. Патогенетично виправдана терапія традиційними антиоксидантами не завжди чинить бажаний ефект унаслідок руйнування ферментними системами печінки та/чи недостатньо широким

терапевтичним діапазоном концентрації препаратів. Перспективним є відкриття класу потужних антиоксидантних сполук трифенилметилфосфонію (умовна назва SkQ1 і SkQR) [187]. Так, на моделях гострої нефропатії було показано, що завдяки здатності проникати через клітинну мембрану SkQ1 і SkQR вибірково накопичуються в мітохондріях у концентраціях в 1000 разів вище, ніж в оточуючому середовищі. В дослідях на культурі ниркових клітин ці сполуки ефективно попереджували загибель клітин від окислювального стресу та гіпоксії. Дослідження антиоксидантних ефектів SkQ1 і SkQR окреслило нові напрямки нефропротекції та є резервом для подальшого вивчення сполук у клінічній практиці.

Іншим новим напрямком у профілактиці та терапії ниркових дисфункцій, який викликає інтерес і залучає до досліджень, є використання клітинних технологій, а саме – лікування за допомогою стовбурових клітин. У науковій літературі показано, що гемопоетичні та мезенхімальні (стромальні) стовбурові клітини кісткового мозку приймали участь у регенерації пошкоджених структур, а екзогенне введення цих клітин безпосередньо в нирку чи в системний кровотік прискорювали відновлення порушених функцій [64, 187, 203, 317]. Є відомості про можливу наявність у самій нирці резидентних стовбурових клітин, також здатних приймати участь у регенерації компонентів ниркової паренхіми. Було проведено експериментальне вивчення впливу двох типів стовбурових клітин, які отримали при аутопсії плодів людини 16-18 тижнів гестації – культивованих кістковомозкових мезенхімальних стовбурових клітин (КМ-МСК) і сумарної культури ниркових клітин (КНК) плоду за умов гострої ішемічної ниркової недостатності. Терапевтична ефективність виявилась неодноманітною та залежала від шляхів уведення. Застосування КМ-МСК перешкоджало незворотньому постішемічному пошкодженню нирок і сприяло більш швидкому відновленню функціональної активності органу як при внутрішньонирковому, так і при внутрішньовенному введенні. Під впливом КНК позитивний ефект спостерігався лише при введенні в системний

кровотік. При цьому функція нирок відновлювалась більш повноцінно. Автори вважають, що терапевтичний ефект стовбурових клітин пов'язаний головним чином з їх паракриним впливом, що реалізується через виділення комплексу цитокінів і факторів росту, які посилюють мікроциркуляцію в нирках і зменшують пошкодження каналцевого епітелію в ранньому постішемичному періоді. Також зацікавленість викликають результати впливу ембріональних прогеніторних клітин (ЕПК) у щурів з хронічною нефропатією, спричиненою прозапальними цитокінами на тлі артриту Пірсона. Було показано, що внутрішньовенне введення ЕПК покращувало ренальні функції внаслідок нормалізації вмісту інтерлейкінів 2, 12 і  $\text{TNF-}\alpha$ . Через чотири місяці після застосування ЕПК практично нормалізувалась ШКФ, збільшився діурез, зменшилась протеїнурія [158]. Отже, отримані результати спонукають до пошуку джерел і розширення регенеративного потенціалу стовбурових клітин для впровадження нових технологій в арсенал лікувальних заходів важких гострих і хронічних порушень функцій нирок.

Нефропротективним методам не притаманна специфічність. Завдяки інтегральному впливу на загальні неімунні механізми патогенезу покращуються метаболічні процеси, структурно-функціональний стан нирок, стабілізуються цільові показники розвитку і прогресування ренальної патології: ШКФ, альбумінурія, креатинінемія. Разом з тим, дотримання принципів нефропротекції є надзвичайно важливим у взаємопов'язаній діяльності нирок, серця, судин для здійснення гомеостатичних і гемодинамічних функцій та є ключовим моментом для покращення ведення пацієнтів. Незалежно від «первинності» чи «вторинності» пошкодження, порушення нирок навіть легкого чи помірного ступеня ускладнює перебіг притаманних нефрологічному контингенту поліморбідних станів, корелює з захворюваністю та смертністю від серцево-судинної патології [10, 57, 402].

Останніми роками увага дослідників прикута до оцінки функцій нирок у пацієнтів з артеріальною гіпертензією, ішемічною хворобою серця, серцевою недостатністю [8, 12, 16, 74, 79]. Очевидним є те, що формування ХХН



супроводжується зростанням проявів патології серця, центральних і периферичних судин. Наявність спільних етіопатогенетичних факторів ризику і патофізіологічних механізмів стали підґрунтям для такої нозологічної форми, як кардіоренальний та ренокардіальні синдроми [55, 72, 83, 160]. У теперішній час не існує спеціального нефропротективного лікування для стримання прогресування пошкодження органів-мішеней. Водночас, БКК і БАБ є класами прямої кардіопротекції та, як і інгібітори РААС, діуретики, антиоксиданти і антигіпоксанти викликають нефропротекторні ефекти. Безумовно, сучасні заходи ренальної цитопротекції відповідають принципам превентивної стратегії та відстрочують патологічні події кардіоренального континууму. Тому, раціональна нефропротекція – це застосування лікарських засобів, які надають патогенетичну стійкість системам організму за рахунок захисного впливу на нирки, серце, судини.

Ефективність переважної частки відомих ренальних цитопротекторів підтверджена і з позицій сучасної доказової медицини популяційними та епідеміологічними дослідженнями. Однак, науково обґрунтовані рекомендації не завжди забезпечують успіх лікування, швидше за все, це дотримування уніфікованих клінічних протоколів медичної допомоги.

У зв'язку з цим, лишаються актуальними питання додаткового підтвердження місця в нефропротекції відомих препаратів та розкриття потенціальних нефротропних властивостей лікарських засобів з механізмами відтворення властивих організму адаптаційно-компенсаторних реакцій та поліорганної цитопротекції. З цих позицій особливий інтерес становлять класи ліків, які впливають на іонні канали клітинних мембран і тим самим забезпечують фізіологічну активність клітин. Встановлена участь іонних каналів у майже всіх фізіологічних функціях і каскадах патогенетичних реакцій є підґрунтям до дослідження ренопротективних можливостей нових фармакологічних модуляторів іонних каналів.

### **1.3. Фармакологічні аспекти застосування модуляторів іонних каналів у нефропротекції**

Враховуючи частоту виникнення і тяжкі наслідки розвитку нефрологічної патології, надзвичайно важливим є питання превентивної терапії та корекції розладів ниркових функцій. Розуміння механізмів порушення і відновлення ренальних процесів має беззаперечне значення не тільки для вдосконалення методів лікування, але і для запобігання ураження нирок у разі призначення потенційно нефротоксичних ліків. Одним із перспективних напрямків нефропротекції є використання модуляторів іонних каналів. Цитофармакологічні дослідження мембранотропних лікарських засобів довели, що різноманітні іонні канали є мішенями для переважної більшості препаратів [17, 21, 185, 498]. Функціональна роль калієвих, кальцієвих і натрієвих каналів у генерації біопотенціалів є досить великою [330]. Порушення нормальних співвідношень між вхідними та вихідними токами можуть чинити суттєвий вплив на функції клітин [232, 316, 380]. Тому ідентифікація причин каналопатій і правильний вибір терапевтичних заходів є надто важливими. Разом з тим, коли мова йде про фармакологічні модулятори іонних каналів, то, перш за все, такими є БКК і АКК. Обидва класи, незважаючи на різницю в тропності, пускових механізмах кінетики каналів, опосередковують вазодилатуючі та цінші цитопротективні ефекти через зменшення пулу іонів кальцію в клітинах.

Позаклітинна концентрація  $\text{Ca}^{2+}$  перевищує внутрішньоклітинну більше, ніж у 12000 разів завдяки низькій проникності плазматичних мембран для  $\text{Ca}^{2+}$  та активним механізмам видалення катіону із клітин, таким як  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаза, що локалізована на мембранах і в ендоплазматичному ретикулумі. Різке підвищення цитоплазматичного вмісту іону спричиняє захват  $\text{Ca}^{2+}$  мітохондріями. Подібні ситуації є сигнальними моментами за фізіологічних умов. Значна кількість зв'язаних з іонами кальцію білків, залежно від внутрішньоклітинної концентрації катіону, модулюють сполучення контрактильних протеїнів, іонний транспорт, синтез білка, секрецію

біоактивних сполук, синтез ДНК, проліферацію клітин, апоптоз. Критичне підвищення внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  призводить до пошкодження та загибелі клітин унаслідок надмірної активації клітинних функцій за умов недостатнього енергетичного забезпечення [26, 76, 77, 185]. Слід відзначити, що внутрішньоклітинний  $\text{Ca}^{2+}$  відіграє важливу роль у патогенезі нефропатій, поскільки гемодинамічні та проліферативні ефекти цитокінів, включаючи Анг II, опосередковані підвищенням вмісту  $\text{Ca}^{2+}$  всередині клітин.

До підвищення внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  в гладеньком'язових клітинах призводять біогенні аміни (катехоламіни, гістамін, серотонін), пептидні гормони (вазопресин, Анг II,  $\text{PG F}_{2\alpha}$ , PDGF, тромбін, АТФ, АДФ). Перешкоджають підвищенню рівня катіону  $\text{PG E}$ ,  $\text{PG I}_2$ , передсердний натрійуретичний гормон, які знижують концентрацію  $\text{Ca}^{2+}$  у гладеньком'язових клітинах судин; дофамін, що інгібує вхід  $\text{Ca}^{2+}$  у нервові клітини тощо. Дифузія  $\text{Ca}^{2+}$  всередину клітин відбувається через іонні канали (макромолекулярні білки), які розсікають фосфоліпідний бішар клітинної мембрани. Кожний канал пропускає біля 30 000 іонів за секунду, пік кальцієвого струму настає протягом 2-3 мс; константа часу інактивації дорівнює 5-80 мс. Кальцієві канали поділяються на 6 типів – L, T, N, P, Q, R. Канал L-типу (long-lasting) характеризується повільною кінетикою, активується при підвищеній різниці потенціалів і тривало зберігається в цьому стані. Повільні потенціалозалежні канали L-типу включають 5 субодиниць –  $\alpha 1$ ,  $\alpha 2$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ ,  $\delta$ . Субодиниця  $\alpha 1$  відповідає за відкриття каналу, його вольтаж-залежність і має рецептори до БКК. Саме цей тип каналів досить розповсюджений, хоча і нерівномірно, в межах серцево-судинної системи, активується катехоламінами, має різну щільність зв'язування з препаратами залежно від локалізації, віку, патології та тривалості лікування. Відомо, що канали типів N, P, Q, R локалізовані у нервовій тканині відіграють нейромедіаторну роль. Канали T-типу (transient) – низькопорогові зі швидкою кінетикою; приймають участь у підтримці судинного тону та активації проліферації клітин, особливо інтенсивно за умов пошкодження. Ці канали

виявлено в коронарних, ниркових і мозкових судинах; нейросекреторних клітинах, які іннервують вазомоторні центри, кірковий та мозковий шари наднирників, юстагломерулярний апарат (ЮГА) нирок [502].

Завдяки експериментальному визначенню експресії м-РНК для субодиниць каналів L-типу ( $\text{Ca}_v3.1$ ,  $\text{Ca}_v3.2$ ) і T-типу ( $\text{Ca}_v1.2$ ) було підтверджено локалізацію  $\text{Ca}^{2+}$  каналів у ренальних судинах. Потенціалозалежні канали цих типів були виявлені в кортикальних прегломерулярних судинах, юстагломерулярних еферентних артеріолах і в vasa recta (прямі судини мікрогемоциркуляції) зовнішнього поверхневого шару нирок. При цьому кортикальні еферентні артеріоли не проявляли ніяких структурно-функціональних властивостей, які б засвідчували наявність досліджуваних каналів [311].

Пріоритет відкриття сполук, які селективно блокують спрямований всередину клітини потік іонів кальцію – БКК, належить А. Fleckenstein (1964). У сучасній медичній практиці використовуються БКК L-типу. До них відносяться похідні фенілалкіламіну (верапаміл, галлопаміл, аніпаміл, девапаміл); похідні дигідропіридину (ніфедипін, амлодипін, ісрадипін, фелодипін, нісолдипін, нітретидипін, нікардипін, лацидипін, лікарнідипін); бензотіазепіну (дилтіазем, клентіазем); похідні флунаризину (цинаризин); мензімідазоліну тетраліну – мібефрадил. У «Державному реєстрі лікарських засобів України» зареєстровані та випускаються в Україні верапаміл, дилтіазем (селективні препарати першого покоління), амлодипін (друге покоління), цинаризин. Практично всі БКК не втратили інтерес для вивчення будови, типів, локалізації та функції кальцієвих каналів, а також для дослідження фармакологічних властивостей існуючих препаратів і нових представників класу модуляторів кальцієвого току [150, 153, 285].

Нефротропні ефекти БКК можуть бути опосередковані впливом на системний АТ, ниркову гемодинаміку та гломерулярну гіпертензію-гіперфільтрацію, рівень протеїнурії, захист клітин за умов пошкодження і клітинні механізми гломерулосклерозу [237-239, 354, 368, 442, 470].

Цитопротективні ефекти БКК чинять двома механізмами. Завдяки протидії звуженню судин БКК покращують кровообіг і доставку кисню до тканин. Так відбувається при звуженні ниркових артерій при артеріальній гіпертензії, а також при вазоконстрикції, індукованій лікарськими засобами, рентгеноконтрастними речовинами. По-друге, БКК захищають клітину за умов тривалого підвищення внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$  внаслідок токсичних і гіпоксичних впливів. Вважається, що пошкоджені клітини з «дірявими» мембранами втрачають мембранний потенціал і деполяризуються з активацією потенціалозалежних каналів. Ці припущення документовані в експериментальних роботах, в яких БКК виявляли цитопротективний ефект за умов початкового ураження нирок. Так, ніфедипін та бенідипін знижували долю клітинної смерті внаслідок і некрозу, і апоптозу, які були спричинені антибіотиком циклогексимідом і  $\text{TNF-}\alpha$  [250]. Виявлено ренотропну дію, опосередковану вазоактивними ефектами в експериментах нових БКК – мебудипіну і дибудипіну [469]. Існує ряд переконливих даних про нефропротективну активність лекарнідипіну [350, 451, 500].

По відношенню до ниркової гемодинаміки, ефекти БКК у значному ступені є результатом безпосереднього розширення судин при збереженні ауторегуляції гломерулярного кровотоку внаслідок переважної локалізації кальцієвих каналів L-типу в аферентних артеріолах. За умов рівномірного розподілу каналів у приносних і виносних судинах під гіпотензивним впливом БКК падав би нирковий судинний опір, знижувався тиск у клубочках і порушувався процес фільтрації. Однак, як засвідчили мікропункційні дослідження на щурах, після введення БКК нирковий кровотік і ШКФ не знижувались. В той же час, дигідропіридинові похідні порушували здатність нирок підтримувати механізм ауторегуляції, призводячи до вираженої дилатації приносної артеріоли і таким чином – до лінійної трансмісії системного АТ на капіляри клубочка. З іншого боку, недигідропіридинові БКК, подібно до ІАПФ, у меншій мірі порушували клубочковий кровотік внаслідок меншого впливу на тонус приносної артеріоли. Також встановлено,

що мібефрадил (БКК з високою і майже селективною спорідненістю до каналів Т-типу) не додавав додаткової дилатації аферентної артеріоли після застосування ніфедипіну чи дилтіазему [53]. Разом з тим, мібефрадил суттєво зменшував спричинену Анг II і ендотеліном констрикцію аферентних і еферентних артеріол.

У переважній кількості експериментальних робіт продемонстровано, що корекція АТ без супутнього зниження протеїнурії не призводить до нефропротективного ефекту при ХХН. Ряд проведених метааналізів досліджень в експериментальних і клінічних умовах, показали, що і недигідропіридинові БКК, як і ІАПФ, володіли помітним антипротеїнуричним ефектом. В той же час, дигідропіридинові БКК не зменшували протеїнурію [218]. Був проведений порівняльний аналіз ренальних ефектів різних класів вазоактивних засобів на моделі діабетичної нефропатії. Саме для цієї патології притаманні опосередковані кальцієвими каналами L-типу порушення ауторегуляції гломерулярного кровотоку, які займають провідне місце в патогенезі нефропатії. Показано, що недигідропіридинові похідні (верапаміл і дилтіазем) за антипротеїнуричною дією близькі до ІАПФ (лізиноприлу) і значно більш ефективні, ніж БАБ за сповільненням темпів зниження ШКФ [372]. У той же час ісрадіпін (похідний дигідропіридину) призводив до 50% росту протеїнурії при діабетичній нефропатії за умов цукрового діабету 2 типу. Клінічні дослідження із застосуванням кліренсу декстринів і імуноглобуліну G засвідчили, що порівняно з дигідропіридиновими препаратами, інші БКК призводили до суттєвого зниження проникності гломерулярної базальної мембрани, особливо до макромолекул. Вважається, що вибіркковість впливу пов'язана з відмінностями розподілу кальцієвих каналів клітин клубочкового фільтру, чутливістю до різних хімічних груп, різним впливом БКК на структурні компоненти гломерулярної мембрани, такі як гепаран-сульфат. Підтвердженням останньої версії є отримані на моделі діабетичної нефропатії у щурів дані, які засвідчили гальмування зниження

вмісту глікозаміногліканів у гломерулярній базальній мембрані і продукції мезангіального матріксу на тлі застосування недигідропіридинових БКК [53].

Зниження системного АТ під впливом вазоактивних сполук зменшує механічний стрес клубочкових капілярів за умов гломерулярної гіпертензії та індукує антипроліферативний ефект. Однак було продемонстровано, що БКК, як і ІАПФ, здатні знижувати ступінь клубочкової гіпертрофії незалежно від системної антигіпертензивної дії та впливу на інтрагломерулярний тиск. Відомо, що збільшення входу  $\text{Ca}^{2+}$  стимулює інкорпорацію 3Н-тимідину в мезангіоцити, а БКК пригнічують цей процес за умов стимуляції тромбіном і PDGF, а також сповільнюють мітотичну активність мезангіоцитів. Бенідипін у значному ступені блокував проліферацію мезангіальних клітин *in vitro* і в G0/G1, і в G1/S мітотичного циклу. Було показано, що фенілалкіламінові та бензотіазепінові похідні повністю блокували індуковану пероксидом водню проліферацію мезангіальних клітин. Також було виявлено, що БКК різних субкласів (ніфедипін, ісрадипін, верапаміл, дилтіазем) можуть знижувати проліферативну активність ендотеліоцитів, стимульовану фактором росту фібробластів-бета ( $\beta$ -FGF) [53].

Таким чином, ренальний захист БКК, перш за все, зумовлений механізмом попередження надмірного підвищення  $\text{Ca}^{2+}$  в цитозолі. Разом з тим, експериментальні та клінічні дослідження виявили деякі відмінності впливів представників різних субкласів БКК на функціональний стан нирок. Значна частка наукових повідомлень засвідчує нефропротективний ефект у недигідропіридинових препаратів. Однак, більшість авторів констатують відсутність ефективності монотерапії БКК і більшу результативність поєднаного застосування БКК з іншими засобами ренопротекції [71, 80]. У першу чергу це пов'язано з особливою дією препаратів на ниркову мікроциркуляцію і можливістю посилювати інтрагломерулярну гіпертензію, що переважно притаманно групі ніфедипіну. Для недигідропіридинових БКК також існує ряд обмежень до застосування, зумовлених особливостями клініки та схемами першочергової базової терапії коморбідних станів. Тому з

позицій нефропротекції становить інтерес інший клас гальмування трансмембранного току  $\text{Ca}^{2+}$  всередину клітин, який також пригнічувальним чином впливає на кінетичні властивості повільних  $\text{Ca}^{2+}$  каналів – відкривачі (активатори) калієвих іонних каналів клітинних мембран.

Одним із основних ендогенних механізмів клітинного захисту при ішемії і гіпоксії є система  $\text{K}_{\text{ATP}}$  каналів, відкритих A. Noma [333] і I. Inoue [217]. Канали такого типу кодує коекспресія білків  $\alpha$ -субодиниць Kir6.x (inward rectifier  $\text{K}^+$  channels) з  $\beta$ -субодиницями – специфічними чутливими до сульфонілсечовини рецепторами (SUR, sulfonylurea receptor) [193, 196, 216, 219, 435]. Функції названих субодиниць принципово різні. Так, Kir6.x білки відповідають за проникнення іонів калію через пору, а SUR.x визначають чутливість до нуклеотидів і вважаються первинною мішенню для фармакологічних препаратів [187]. У різних клітинах організму  $\text{K}_{\text{ATP}}$  канали відрізняються поєднанням неоднакових SUR- та Kir-субодиниць [272, 299, 325, 343]. Захисний механізм полягає в швидкому відкритті  $\text{K}_{\text{ATP}}$  каналів при зниженні енергетичного потенціалу клітин унаслідок порушення кровообігу, енергозабезпечення та відновлення балансу між метаболічним станом і електрофізіологічними властивостями клітин [342, 425, 427]. При вивченні механізмів протекції було встановлено, що ступінь антиішемічного та антигіпоксичного захисту залежить від типу активованих  $\text{K}_{\text{ATP}}$  каналів сарколемальної та мітохондріальної мембран кардіоміоцитів, гладком'язових та ендотеліальних клітин судин, нейроглії [33, 215, 261, 321, 419]. Найважливіші метаболічні датчики  $\text{K}_{\text{ATP}}$  канали за нормальних умов закриті. Висока внутрішньоклітинна концентрація АТФ інгібує, а знижений рівень АТФ активує канали. При загрозі загибелі клітини втрачають частку  $\text{K}^+$ , забезпечуючи тим самим адаптацію до несприятливих впливів з послідуєчим відновленням іонної рівноваги. Гіперполяризація, що виникає під час виходу  $\text{K}^+$  з клітин, призводить до закриття потенціалзалежних кальцієвих каналів, скорочення потенціалу дії, тривалості його плато. Отже, при застосуванні фармакологічних АКК виникає каскад характерних реакцій, опосередкованих



зменшенням входу  $\text{Ca}^{2+}$  у саркоплазму. Знижуються метаболічні процеси в клітинах, відповідно до потреб у кисні, зберігаються енергоресурси, що дуже важливо за умов дефіциту кровопостачання та гіпоксії [35, 172, 241]. Поряд з цим, зменшується активність катаболічних ферментів, що з одного боку може попереджати деградацію фосфоліпідів мембран (мембраностабілізуюча дія), а з іншого – зменшувати утворення патогенних за умов ішемії ейкозаноїдів, зокрема лейкотрієнів. Основний захисний механізм активації сарколемальних  $\text{K}_{\text{ATP}}$  каналів гладеньких м'язів і ендотеліальних клітин судин полягає у вазодилатації, збільшенні кровопостачання та притоку кисню до потребуючих цього тканин, підтриманні нормального коронарного кровотоку під час реперфузії ішемізованого міокарду. Механізми протективної дії мітохондріальних каналів також полягають у пригніченні входу  $\text{Ca}^{2+}$  у матрикс та запобіганні перевантаження мітохондрій катіоном, попередженні відкривання мітохондріальної транспортної пори, зменшенні вільнорадикальних процесів апоптозу та некрозу [125, 374].

$\text{K}_{\text{ATP}}$  канали наявні в різноманітних тканинах, включаючи скелетні м'язи, нейрони, ендокринні залози [452, 484, 485, 487]. Канали даного типу є модуляторами секреції інсуліну, холецистокініну, гормону росту, а також секреції реніну ЮГА нирок. Це пояснюється тим, що секреція реніну обернено пропорційна вмісту внутрішньоклітинної концентрації  $\text{Ca}^{2+}$ , яка знижується при гіперполяризації клітинних мембран. Крім того, в нирках  $\text{K}_{\text{ATP}}$  канали знаходяться в аферентних і еферентних артеріолах, проксимальних канальцях, приймають участь у підтримці гемодинаміки та реабсорбції електролітів [195, 329, 460]. Відомо, що такі потужні вазоконстриктори, як ендотелін, Анг II, вазопресин, фенілнефрин, нейропептид Y пригнічують активність  $\text{K}_{\text{ATP}}$  каналів гладеньком'язових клітин шляхом активування протеїнкінази C [407]. У той же час вазодилататори: аденозин, ацетилхолін, простациклін, кальцитонін ген-релаксуючий пептид, NO, арахідонова кислота, ендотелій-залежний гіперполяризуючий фактор частково реалізують свої ефекти через  $\text{K}_{\text{ATP}}$  канали.

Секреція іонів калію в дистальній частині нефрону регулюється принаймні двома типами каналів: ROMK і BK (інші типи не вивчені). Зовнішні ниркові медулярні канали ROMK: ROMK1 ( $K_{ir1.1a}$ ), ROMK2 ( $K_{ir1.1b}$ ), ROMK3 ( $K_{ir1.1c}$ ) – з родини калієвих каналів внутрішнього випрямлення  $K_{ir}$  ( $K_{ir1.1}$ ), знаходяться у висхідному коліні петлі нефрону (петлі Генле), опосередковують відтік іонів калію, необхідних  $Na^+K^+2Cl^-$ -котранспортеру (NKCC2) для абсорбції NaCl. Вони також мають відношення до трансепітеліального току у висхідному коліні петлі нефрону та різниці потенціалів для забезпечення парацелюлярної реабсорбції іонів натрію та калію. В головних клітинах кіркових збірних трубочок ці канали утворюють домінуючий у калієвому балансі секреторний шлях для  $K^+$ . У дистальному відділі нефрону ROMK1 і ROMK3 є важливими компонентами регуляції механізму секреції  $K^+$  нирками та приймають участь у контролі екскреції катіону та підтримки калієвого балансу [288].

Канал типу ROMK не є класичним  $K_{ATP}$  каналом, однак аналогічно до калієвих секреторних каналів у висхідному коліні і збірних трубочках, пригнічується цитоплазматичною АТФ. Активність ROMK прямо залежить від  $Na^+K^+ATP$ -ази. Стимуляція активності  $Na^+K^+ATP$ -ази субстратною дією іонів калію, ймовірно, знижує співвідношення внутрішньоклітинних АТФ і АДФ, таким чином звільняє ROMK від пригнічення і екскреція  $K^+$  збільшується [518].

Великі кальцій-активовані калієві канали – BK знаходяться у подоцитах, гломерулярних мезангіальних клітинах та в кількох сегментах каналців (також у головних клітинах, клітинах сполучних тубул і кіркових збірних трубочок). BK мають 4 підтипи –  $BK\beta1-\beta4$ ; відповідають за потік-індуковану секрецію  $K^+$  у дистальній частині нефрону; підтримують волюморегуляторну функцію нирок і АТ [455].

До фармакологічних АКК відносяться різні за хімічною будовою та селективністю сполуки з судинорозширювальними, атигіпертензивними, антиангіральними властивостями (існує біля 15 активаторів різнонаправленої

дії): бензопірани (кромакалім, левкромакалім); бензотіадизини (діазоксид); похідні нікотинаміду (нікорандил); похідні гуанідину (пінацидил), піримідини (міноксидил).

Згідно вищевикладених позицій, АКК відтворюють ефекти БКК, шляхом витиснення внутрішньоклітинного  $\text{Ca}^{2+}$  і створення оптимальних гемодинамічних і метаболічних умов. Беззаперечним є факт, що фармакологічна модуляція калієвих каналів є одним з напрямів терапевтичної стратегії [243, 366, 373]. Однак, синтез і впровадження в практику АКК не вплинули на пріоритетні клінічні позиції прямих блокаторів току  $\text{Ca}^{2+}$  у зв'язку з проявами певних ускладнень. Дані багатьох спостережень свідчили про негативний інотропний ефект, аритмогенну дію та навіть фібриляцію шлуночків (пінацидил, левкромакалім); пригнічення продукції інсуліну, дисглікемію, затримку іонів натрію та води, ішемію серця (діазоксид); тахікардію, важкі алергічні реакції, набряки обличчя і кінцівок, гіпертрихоз (міноксидил); активацію симпато-адреналових впливів, зменшення діурезу та натрійурезу (пінацидил); головокружіння, гіпотонію (нікорандил).

Доступні наукові повідомлення про вплив АКК на водно-сольовий обмін характеризуються неоднозначністю ефектів різних за хімічною будовою препаратів і протилежністю результатів клінічних та експериментальних досліджень. Так, встановлено, що левкромакалім зменшував добовий діурез у щурів з експериментальним стрептозоцин-індукованим діабетом, знижував рівень креатиніну плазми та підвищував вміст креатиніну сечі у здорових та діабетичних щурів, збільшував кліренс креатиніну у нормальних щурів. Активацію екскреторної функції нирок під впливом препарату автори пояснювали антигіпертензивним ефектом левкромакаліму [401].

Встановлено, що діазоксид стимулює секрецію реніну в нирках лабораторних щурів, прямо впливаючи на юктагломерулярні клітини [513]. Ймовірно, що це є одним із механізмів затримки іонів натрію та води під впливом препарату. В той же час, призначення діазоксиду послаблювало

гіпотермічне ураження нирок при підготовці до трансплантації, оскільки препарат діяв як контролюючий утворення пероксиду антиоксидант [74].

В експериментах на щурах показано, що міноксидил зменшував діурез, екскрецію іонів натрію, хлору і магнію. Вказані ефекти не супроводжувались суттєвими змінами калій- та кальційурезу. Міноксидил діяв безпосередньо на тубулярний транспорт, порушуючи реабсорбцію електролітів у висхідному коліні петлі нефрону. Підвищував реабсорбцію  $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Cl}^-$ , посилював абсорбцію води вздовж петлі Генле, порушував транспорт води в сегменті S3, тонкій висхідній частині петлі [516]. Через затримку води та перевантаження рідиною під впливом міноксидилу у хворих з рефрактерною артеріальною гіпертензією є можливим розвиток застійної серцевої недостатності, набряку легень, гідроперикарду, плеврального випоту. Підкреслювалось, що з особливою обережністю слід призначати міноксидил пацієнтам з ХХН [353].

Привертають увагу неоднозначні результати досліджень ренальних ефектів пінацидилу. Так, у спонтанно гіпертензивних щурів пінацидил зменшував вазоконстрикцію і нирковий судинний опір, збільшував проксимальний тубулярний гідростатичний тиск, індекс клубочкового капілярного тиску [250, 495]. Попереднє введення пінацидилу щурам з геморагічним шоком підтримувало нирковий кровотік і функції мітохондрій (збільшувався коефіцієнт контролю мітохондріального дихання, активність  $\text{Na}^+$ - $\text{K}^+$ -АТФази) [457]. Інтраренальне введення пінацидилу собакам призводило до дозозалежного збільшення ниркового кровотоку без порушення АТ, під впливом найвищої дози препарату збільшувалась ШКФ. Пінацидил спричиняв дозозалежне наростання діурезу, підвищував екскрецію електролітів і фракційну екскрецію фосфатів. Науковці пояснювали діуретичну реакцію судинорозширювальним ефектом препарату та пригніченням реабсорбції  $\text{Na}^+$  в проксимальних каналцях [270]. За даними тих самих авторів, після внутрішньовенного введення пінацидилу у собак зменшувався діурез, ШКФ, екскреція електролітів. На їх думку, антидіуретичний ефект був зумовлений гіпотензивним ефектом пінацидилу і

послідуючим зниженням ниркового перфузійного тиску [376]. Побічні ефекти пінацидилу – затримка рідини і тахікардія контролювались призначенням діуретиків і  $\beta$ -адреноблокаторів [206].

Фактами, що підтверджують практичну значимість фармакологічної модуляції калієвих каналів є результати досліджень препаратів L-аргініну (L-аргінін, глутаргін, кораргін). Попередник синтезу NO – основної сполуки регуляції судинного тонуусу (ендотеліальний судинорозширювальний фактор), L-аргінін опосередковує дію через відкриття калієвих каналів [81]. Препарати NO чинять вазодилатуючі, антиоксидантні, антигіпоксанти, гіполіпідемічні, антиагрегантні, антитромбогенні властивості. Після застосування L-аргініну у пацієнтів з хронічною серцевою недостатністю підвищувались ШКФ, натрійурез і рівень плазмового ендотеліну [517]. У пацієнтів з ХХН встановлено, що після прийому L-аргініну збільшувались екскреція та добовий кліренс креатиніну, знижувався вміст ендотеліну в плазмі крові та підвищувалась ШКФ. Крім того, відмічалось збільшення натрійурезу і ШКФ у відповідь на навантаження розчином NaCl [517]. Разом з тим, залежно від експериментальної патології, додавання L-аргініну викликало протилежні результати. Так, на тваринних моделях ниркової абляції (симпатичної денервації), обструкції сечоводів, ішемічної та діабетичної нефропатії спостерігався позитивний ефект. У діабетичних щурів під впливом L-аргініну знижувалась екскреція білка, пригнічувалась гіперфільтрація, незважаючи на персистуючу гіперглікемію [335]. Дослідження впливу аргініну у щурів з сулемовою нефропатією виявили підвищення ШКФ, зменшення ретенційної азотемії та протеїнурії. Було зроблено висновок, що гломерулопротективний ефект є наслідком зменшення спазму клубочкових артеріол під впливом NO, який утворюється з аргініну та протидіє Анг II [43]. В той же час, після введення L-аргініну пришвидшувався розвиток фіброзу нирок та зменшувалась тривалість життя мишей при експериментальному люпус-нефриті через надмірну продукцію NO. При цьому констатовалась альбумінурія, накопичення в нирковому матриксі TGF- $\beta$ , фібронектину,

інгібітора активатора плазміногену 1; L-аргініну в крові; L-цитруліну, азоту, оксидів азоту NO и NO<sub>2</sub> (NOx) у крові і сечі. Вказані зміни свідчили про те, що препарат не слід призначати при імуноопосередкованих захворюваннях нирок [414]. Отже, роль попередника NO в патогенезі і лікуванні нефрологічної патології остаточно ще не з'ясована та потребує подальшого вивчення [246].

Унікальний фармакологічний профіль відрізняє нікорандил [93, 189, 426]. Завдяки поєднаним властивостям донатора NO і відкривача мітохондріальних K<sub>ATP</sub> каналів, окрім антиангінального ефекту, нікорандил підвищує ендогенну фібринолітичну активність, пригнічує симпатичну стимуляцію серця, зменшує концентрацію активних форм кисню в ендотеліальних клітинах [391], гальмує оксидативний стрес-індукований апоптоз у клітинах міокарду [389]. Експериментальні дослідження показали здатність нікорандилу зменшувати протеїнурію та гломерулярні порушення при цукровому діабеті [391] та артеріальній гіпертензії [389], мезангіопроліферативному гломерулонефриті [392], а також наявність тубулопротективних властивостей при ішемії-реперфузії [390]. Вважається, що суть протекції полягає в підвищенні нікорандилом антиоксидантного захисту подоцитів, які відіграють ключову роль у виникненні протеїнурії, оскільки підтримують цілісність клубочкового фільтраційного бар'єру. Препарат стимулює K<sub>ATP</sub> канали подоцитів, проявляючи таким чином антипротеїнуричний ефект. Інший механізм дії нікорандилу – блокування тубулоінтерстиційного пошкодження шляхом інгібування ксантиноксидази макрофагів, яка генерує супероксидрадикал до зменшення оксидативного стресу [199]. Однак, інші клінічні спостереження констатували протилежні результати. Так, призначення нікорандилу пацієнтам з підвищеним АТ призводило до зниження протеїнурії та пригнічення ниркового синтезу ендотеліну-1 [352]. Водночас профілактичне призначення нікорандилу пацієнтам з нирковою дисфункцією перед проведенням коронарної ангіографії не впливало на частоту контраст-індукованого ГПН [423].

Новим активатором  $K_{ATP}$  чутливих калієвих каналів є іптакалім (2,3-диметил-N-(1-метилетил)-2-бутанамін гідрохлорид). Встановлена висока селективність препарату по відношенню до калієвих каналів серця (SUR2A/Kir6.2) та судин (SUR2B/Kir6.1 або SUR6B/Kir6.2). Іптакалім є більш потужним активатором SUR2B/Kir6.1 підтипу каналів, ніж найбільш вивчені активатори діазоксид, пінацидил і не має притаманних його попередникам побічних ефектів. Іптакалім призводить до розширення артеріол і артерій малого калібру (резистивних судин), не впливаючи на ємнісні судини та великі артерії [332]. У клінічних дослідженнях підтверджено значну антигіпертензивну ефективність іптакаліму [491]. За рахунок збалансування синтезу NO та ендотеліну-1 препарат зменшував артеріальну констрикцію, попереджував прогресування гіпертрофії лівого шлуночка [336]; пригнічував ендотелін-1 опосередковану проліферацію гладеньком'язових клітин легеневих артерій людини [282, 331]; захищав нейрони від некрозу та апоптозу, обмежуючи процеси вивільнення та рецепції глутамату в ішемічному каскаді [492]. При цьому іптакалім показав значний нефропротективний ефект у гіпертензивних щурів: зменшував протеїнурію, покращував ниркові функції, сприяв зворотному розвитку ремоделювання судин; зменшував патологічні зміни каналцевих, інтерстиційних та клубочкових фільтраційних мембран. Ці ефекти супроводжувались зниженням концентрації в крові та тканинах нирок ендотеліну-1 і TGF- $\beta$ 1, а також регуляцією надмірної експресії генів ендотеліну-1, ендотелін-перетворювального ферменту, TGF- $\beta$ 1 та субодиниць  $K_{ATP}$  каналів Kir1.1 і Kir6.1 у нирках на фоні гіпертензії. Аномальна експресія компонентів матриксу (колагену IV, фібронектину, матриксної металопротеїнази-9 та тканинного інгібітору матриксної металопротеїнази) також зазнавали суттєвого зворотного розвитку під дією іптакаліму. Результати цих досліджень довели, що тривале лікування іптакалімом знижує АТ і зберігає структурно-функціональний стан нирок у спонтанно гіпертензивних щурів. Водночас, на думку багатьох дослідників, для більш повного обґрунтування

клінічної ефективності іптакаліму необхідно провести масштабні рандомізовані контрольовані дослідження.

Слід зауважити, що за останнє десятиріччя помітно знизився науковий інтерес до клінічної оцінки монотерапії та результатів поєднаного застосування АКК у схемах лікування захворювань. Використання відомих препаратів цього класу є малопоширеним у світовій практиці та практично відсутнє в Україні. У «Державному реєстрі лікарських засобів України» АКК не зареєстровані. Парадоксальність ситуації полягає в тому, що АКК являють собою реально існуючий клас антигіпертензивних, антиангінальних, кардіопротективних засобів, механізм яких пов'язаний зі стимуляцією природних адаптивних процесів у клітинах і реалізацією власного захисту організму від пошкодження. Застосування активаторів  $K_{ATP}$  каналів відтворює захисний ефект ішемічного прекодиціонування (ішемічної перепідготовки, «загартування ішемією»), що і отримало назву фармакологічного (хімічного) прекодиціонування. Згідно з сучасними уявленнями про значущість відкриття  $K_{ATP}$  каналів, АКК у прямому сенсі слід вважати цитопротекторами. До причин протиріччя між експериментальними даними і відомостями щодо клінічної оцінки ефективності препаратів можна віднести найбільшу різноманітність типів саме калієвих іонних каналів, багатогранність їх функцій, специфічність будови тканин і місць зв'язувань з АКК, недостатню селективність препаратів, а також непередбачувані наслідки поєднаного впливу ліків на конформаційний стан білків-рецепторів і проникність каналів. Разом з тим, унікальні можливості  $K_{ATP}$  каналів, набутий досвід фармакологічної корекції їх функціонального стану та розуміння актуальності вдосконалення лікувальних можливостей класу обґрунтовують доцільність пошуку, створення та вивчення нових хімічних сполук – регуляторів трансмембранного руху іонів калію.

Безперечним є те, що екзогенна фармакологічна активація  $K_{ATP}$  каналів призводить до реалізації потужних механізмів, практичну значимість яких можна зміцнити за рахунок хімічної перебудови та збільшення селективності



препаратів. Цей факт стимулював розробку вітчизняних, більш специфічних та менш токсичних активаторів  $K_{ATF}$  каналів, зокрема фторвмісних [191, 192]. Встановлено, що нові фторовані аналоги діазоксиду і пінацидилу характеризуються меншою токсичністю, стабільнішим лікувальним ефектом, потужнішою протиокислювальною стійкістю молекули, меншим метаболізмом, більшою ліпофільністю і біодоступністю.

Грунтовними дослідженнями вітчизняних вчених показано, що одним з найперспективніших фармакологічних активаторів  $K_{ATF}$  каналів є флокалін, який був синтезований в Інституті органічної хімії НАН України під керівництвом професора Л.М. Ягупольского. Результати багаторічного аналізу фармакодинаміки нових фторвмісних сполук у порівнянні з іншими фармакологічними активаторами  $K_{ATF}$  каналів, дозволили зробити висновок, що саме флокалін є одним з ефективніших кардіопротекторів і спазмолітиків [240, 481, 482]. Водночас, наукових даних про ренальні впливи флокаліну не існує. Беручи до уваги відомості про експериментальне обґрунтування терапевтичних переваг флокаліну при серцево-судинній патології, а також малу токсичність сполуки з атомами фтору в молекулі, становило інтерес питання оцінки функціонального стану нирок після застосування флокаліну, а також нефропротективної здатності нового АКК.

#### **1.4. Біологічні та фармакодинамічні передумови нефропротективних властивостей флокаліну**

Флокалін є новим вітчизняним оригінальним кардіопротектором і міотропним спазмолітиком, специфічною дією якого є активація  $K_{ATF}$  каналів сарколемальної та мітохондріальної мембрани клітин. Фторвмісний аналог пінацидилу флокалін (N-(4-дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N''-ціаногуанідин) містить замість піридинового – бензойне кільце з дифторометокси-групою, що помітно покращило фармакологічні властивості у порівнянні з водневим закордонним прототипом пінацицилом [179]. На базі ПАТ НВЦ «Борщагівський хіміко-фармацевтичний завод» (м. Київ) була

вироблена лікарська форма флокаліну (таблетки, 10 мг) за новою технологічною схемою синтезу [146]. Дослідження показали, що нова лікарська форма за своєю специфічною дією практично не відрізняється від попередньої субстанції, яка напрацьовувалась у лабораторних умовах. Результати тривалого експериментального вивчення підтвердили дані про збільшення біологічної активності АКК завдяки введенню атому фтору в молекулу речовини, засвідчили багатогранність впливів флокаліну та стали науковим підґрунтям для організації промислового процесу виробництва препарату [100].

Передумовою до вивчення нефропротективних можливостей фторвмісного АКК стали результати досліджень екстраренальної дії флокаліну, а саме – специфічних для відкривача  $K_{ATP}$  каналів серцево-судинних впливів. Як відомо, нефрологічні хворі відносяться до групи високого ризику серцево-судинної смерті, тому профілактика і корекція структурно-функціонального стану міокарду та змін гемодинаміки займає суттєве місце в стратегії нефропротекції. З огляду на це, підґрунтям для з'ясування ренотропної дії флокаліну стали отримані експериментальні дані, які виявили вазодилататорні, метаболічні, кардіопротекторні, гемодинамічні ефекти [146, 169]. Разом з тим, привертала увагу низька органотоксичність нового представника класу АКК [88].

Центральна роль у виведенні ліків і їх метаболітів зумовлює високу чутливість нирок до несприятливої дії препаратів. Ниркова тканина піддається впливу лікарських речовин як через кров, так і внаслідок транстубулярного транспорту. Концентрації речовин у каналцях можуть бути значно вищими, ніж у крові та, відповідно, більш токсичними. По відношенню до нефрологічних пацієнтів особливої уваги вимагає навіть призначення потенційно нетоксичних ліків. Етапи фармакокінетики флокаліну ще уточнюються. Проведені попередні дослідження з визначення токсичності та нешкідливості флокаліну показали, що згідно класифікації речовин за токсичністю флокалін відноситься до III класу – малотоксичні сполуки.

Середньосмертельні дози ( $DL_{50}$ ) флокаліну у вигляді завису (на крохмальному клейстері) при введенні в шлунок білим щурам коливались у межах 1630-2180 мг/кг, проти 600 мг/кг для його аналога пінацидилу. Достовірної статевої різниці за ступенем токсичності флокаліну не було:  $DL_{50}$  лікарської форми для геронтологічних, статевозрілих і статевонезрілих самок та самців становили відповідно 1630-1720 мг/кг, 2310-2310 мг/кг, 2180-2160 мг/кг. Однак, певні відмінності показників гострої токсичності для геронтологічних щурів, зобов'язують у подальшому обережно підходити до призначення флокаліну особам похилого віку. Флокалін негативно не впливав на функціонування життєво важливих органів і систем: виживання тварин, маса, температура тіла, морфологічний склад і реологічні властивості крові залишались у межах фізіологічної норми; не змінювались основні функції серцево-судинної та нервової систем; не порушувались функції печінки та нирок. При тривалому (3 місяці) введенні щурам та собакам у дозах, які в 10 та в 50 разів перевищували максимально добові дози для людини, флокалін також не чинив суттєвої негативної дії [146].

Низька токсичність препарату дала можливість виявити дозозалежні властивості флокаліну та встановити оптимальний діапазон доз для лікування серцево-судинних захворювань. Встановлено, що після внутрішньовенного введення собакам флокаліну, який розчиняли в диметилацетаміді, ступінь зниження системного АТ і розширення коронарних судин чітко корелювала з величинами введених доз від 0,05 мг/кг до 1,5 мг/кг. Вазодилаторні реакції були швидкими і сягали свого максимуму через 2-4 хв після введення флокаліну. Судинорозширювальні ефекти фторвмісного АКК мають важливе значення при патологічних станах, які супроводжуються системним підвищенням АТ і є факторами ризику нефропатій при артеріальній гіпертензії, цукровому діабеті. Важливою особливістю флокаліну є відсутність гіперглікемічної відповіді при відкриванні  $K_{ATP}$  каналів [168]. Потужні вазодилаторні ефекти флокаліну були продемонстровані в експериментах на щурах з генетично детермінованою артеріальною

гіпертензією і дещо менш вираженими були на моделях стрептозоцинового цукрового діабету [11, 482]. Слід зауважити, що зменшення судинного тиску у гіпертензивних пацієнтів превентивно гальмує розвиток ХХН.

Кардіопротективну дію флокалін також проявляв у широкому діапазоні доз – від 0,1 мг/кг при внутрішньовенному введенні до 3,3 мг/кг при пероральному застосуванні. При інтраслунковому введенні таблеток у дозі 2,2 мг/кг флокалін запобігав значному падінню хвилинного об'єму крові; перешкоджав підвищенню загального периферичного опору судин, що стримувало навантаження на ішемізоване серце; зберігав показники скоротливості міокарда – швидкість скорочення та розслаблення лівого шлуночка. Привертала увагу відсутність вазоконстрикції коронарних судин під час реперфузії ішемізованого серця за умов попереднього введення флокаліну. При цьому коронарний перфузійний тиск був дещо зменшеним, а під кінець ішемії/реперфузії досягав контрольного рівня. Розмір некротичної ділянки серця, а отже і зони інфаркту міокарду на тлі дії флокаліну зменшувався на 42,5 % [100, 169]. Одним з показників кардіопротекторної дії флокаліну слід вважати суттєве зниження реперфузійних порушень ритму ішемізованого серця під час цих експериментальних досліджень.

Отже, враховуючи механізми зворотного зв'язку, за якими формується континуум серця, судин і нирок [57, 66, 290, 317], можливим є припущення, що позитивні гемодинамічні впливи флокаліну нададуть всій кардіо-ренальній системі патогенетичну стійкість.

Важливим механізмом цитопротекторної дії є вплив біологічно активних сполук на порушений тканинний метаболізм. У досліджах на собаках з відтворенням ішемії та реперфузії досліджувались біохімічні показники різних ділянок серця: інтактної, ризику та некрозу при внутрішньовенному введенні флокаліну в дозі 2,2 мг/кг [31]. Аналіз результатів дав змогу окреслити декілька можливих кардіопротективних механізмів, що розвиваються при відкриванні  $K_{ATP}$  каналів сарколемальної та мітохондріальної мембран. Флокалін чинив виражену антиоксидантну дію,

пригнічуючи перекисне окиснення ліпідів зменшенням пулів не тільки пероксиду водню, але і супероксид-аніону ( $O_2^-$ ) шляхом інгібування таких його генераторів, як ксантиноксидаза, ліпоксигеназа, циклооксигеназа 2 (знижувався вміст сечової кислоти,  $LTC_4$  – лейкотрієну  $C_4$ ,  $TxB_2$ ). У низьких концентраціях сечова кислота є потенційним водорозчинним антиоксидантом, у високих концентраціях – є токсичною. Ейкозаноїди приймають участь у багатьох процесах, у тому числі регулюють секрецію води та іонів натрію нирками, впливають на тромбоутворення, запалення, проліферацію. Тому вищевказані ефекти флокаліну, швидше за все, відображатимуться змінами функціонального стану нирок.

Серед багатоманітних впливів флокаліну має місце зменшення продуктів неферментативного окиснення ліпідів (дієнові кон'югати, малоновий альдегід). За умов експерименту, утворення патогенних окиснених метаболітів арахідонової кислоти знижувалось не тільки через пригнічення ліпоксигеназної та циклооксигеназної шляхів її перетворення, але і внаслідок зниження пулів самої кислоти в зонах ризику та некрозу ішемізованого серця. Було висловлено припущення, що зменшення вмісту вільної арахідонової кислоти при активації  $K_{ATP}$  каналів може відбуватися завдяки блокуванню L-типу кальцієвих каналів цитоплазматичної мембрани. Здатність флокаліну інгібувати високопорогові кальцієві канали була експериментально обґрунтована [100, 514]. Завдяки зниженню концентрації вільних іонів кальцію в цитозолі пригнічувалась активність кальційзалежних ферментів, зокрема фосфоліпази  $A_2$ . Водночас активація  $K_{ATP}$  каналів попереджала утворення дієнових кон'югатів у досліджуваних зонах серця. Про значне зменшення вільнорадикальних ланцюгів перекисного окиснення ліпідів свідчило також потужне зменшення утворення кінцевого продукту реакції – малонового діальдегіду при введенні флокаліну за умов ішемії-реперфузії. Отже, флокалін чинив антиоксидантну і антигіпоксичну дію [130, 132], що також є пріоритетним для вивчення його нефропротективних властивостей.

Після введення флокаліну значно знижувався вміст продуктів деградації пуринових нуклеотидів в міокарді при ішемії-реперфузії: АТФ і ГТФ – ксантину, гіпоксантину та інозину [169]. У той самий час флокалін посилював деградацію гему, про що свідчило збільшення утворення гемоксигеназним шляхом білірубину в досліджуваних зонах міокарду. Відомо, що продукти гемоксигеназної реакції білірубін і СО (оксид вуглецю) чинять значну нейро- і кардіопротективну дію. Інгібування деградації АТФ (шлях до апоптозу) і ГТФ (шлях до некрозу) в кардіоміоцитах та, навпаки, стимуляція гемоксигеназної реакції суттєво доповнили захисний спектр флокаліну.

Одним із важливих механізмів можна вважати попередження зростання активності індукцибельної нітрооксид синтетази в плазмі крові поряд з деяким підвищенням активності ендотеліальної нітрооксид синтетази та зниженням деградації L-аргініну аргіназою, що забезпечує збереження субстрату для конститутивного синтезу NO. Це сприяє вазодилататорним реакціям судинного русла та попереджає тромбогенні реакції. Ще одним антиішемічним механізмом флокаліну, крім збереження L-аргініну, можна вважати значне інгібуванням реутилізаційного синтезу NO, який відбувається винятково за умов ішемії. Поряд з цим, стабілізація синтезованого конститутивним шляхом NO та вищезгадані зміни в окисному метаболізмі, які унеможливають утворення цитотоксичного пероксинітриту, вказували на участь у протективному ефекті флокаліну мітохондріальної транспортної пори. Зменшення навантаження мітохондрій іонами кальцію попереджає відкривання транспортної пори та, як наслідок, індукований мітохондріальною транспортною порою апоптоз і/чи некроз пригнічується [59, 166].

Ультраструктура нефрону відрізняється тим, що найбільш багатими на мітохондрії є клітини проксимальних і дистальних звивистих каналців кіркового шару нирки, а також висхідної частки петлі Генле в зовнішньому шарі мозкової речовини. При нирковій мітохондріальній дисфункції, перш за все, порушуються процеси в цих структурах нефрону: активна реабсорбція

глюкози, амінокислот, неорганічних фосфатів у проксимальних каналцях; концентрування ультрафільтрату плазми, перетворення його на сечу в петлі Генле та в дистальних каналцях. Тому перспективним є встановлений попередніми науковими роботами мембраностабілізуючий вплив флокаліну на мітохондрії для корекції вторинної ниркової мітохондріальної депресії/дисфункції будь-якого генезу.

Підтвердженням захисних механізмів флокаліну є результати досліджень, які були проведені на інших експериментальних моделях. У досліджах на культурі ізольованих неонатальних кардіоміоцитів вивчали вплив флокаліну на виживання клітин при аноксії-реоксигенації, розвиток некрозу та апоптозу, а також оцінювали внесок у вищезазначені процеси відкриття  $K_{ATP}$  каналів і блокування високопорогових кальцієвих каналів. Виявлено, що при додаванні в середовище інкубації флокаліну в дозі 5 мкмоль/л вдвічі пригнічувався некроз та блокувався розвиток апоптозу, що був індукований аноксією-реоксигенацією неонатальних кардіоміоцитів. При додаванні в середовище інкубації дози 20 мкмоль/л ознак кардіопротекції не виявлялось. Це могло бути наслідком досить сильної активації калієвих каналів, а також і наслідком двох факторів – інгібування високопорогових кальцієвих каналів і суттєвого зменшення вмісту внутрішньоклітинного  $Ca^{2+}$  та порушення метаболічних процесів ще до аноксії-реоксигенації. Отже, саме помірне відкривання  $K_{ATP}$  каналів флокаліном значно зменшувало некроз і повністю запобігало апоптозу, які були індуковані аноксією-реоксигенацією неонатальних кардіоміоцитів [34].

Про переваги активації  $K_{ATP}$  каналів при кардіопатії, спричиненої антрацикліновими антибіотиками, свідчили висновки щодо доцільності застосування представників БКК амлодипіну та димедипіну, а також похідного гуанідину ПФ-5 (флокаліну). Активатор калієвого току ПФ-5 у дозі 1,5 мг/кг, на відміну від дигідропіридинових БКК, сприяв зниженню смертності білих щурів протягом 14 днів після завершення формування доксорубіцинової кардіоміопатії [105]. Антибіотики рубіміцинового ряду, які

включені до протоколів протипухлинної терапії, є не тільки «чемпіонами» з кардіотоксичності. Доксорубіцин викликає індуковану оксидативним стресом нефропатію, про що свідчили підвищені концентрації білкових карбонільних груп і малонового альдегіду, знижені концентрації відновленого глутатіону в нирках щурів [114, 151]. З практичних позицій корекція антиоксидантного статусу флокаліном позитивним чином відобразилася на функціональному стані нирок, що також вплинуло на виживаність щурів у вказаному дослідженні.

Враховуючи спільні механізми патологічних процесів, які паралельно кардіо-ренальному континууму розвиваються в цереброваскулярній системі [127, 247, 347], важливими були повідомлення про церебропротективні ефекти флокаліну. Встановлено, що після внутрішньоочеревинного введення щурам з гострим порушенням мозкового кровообігу флокаліну (5 днів, у дозі 5 мг/кг) нормалізувались показники біоенергетичних процесів у тканинах мозку. Так, мало місце послаблення дисбалансу в складі аденілових нуклеотидів за рахунок зростання рівнів АТФ, АДФ, креатинінфосфату, відновлення показників енергетичного заряду мозку. Паралельно з тим, під впливом флокаліну зменшувались ознаки метаболічного лактат-ацидозу, на що вказувало зниження вмісту молочної кислоти та зростання рівня пірувату в ішемізованій півкулі головного мозку. За величиною нормалізуючого впливу на біохімічні процеси при ішемії мозку флокалін зіставлявся з нейропротектором мексидолом [47]. Також було виявлено, що під впливом внутрішньовенного введення флокаліну (1 мг/кг) у наркотизованих котів за умов експериментальної тромбоемболії в 2,5 рази більше, ніж після введення відомого церебропротектора кавінтону зростав рівень об'ємної швидкості мозкового кровотоку. За тривалістю стимулювального впливу на кровопостачання мозку флокалін переважав кавінтон [48].

Свідченням інтересу науковців щодо впливу флокаліну на сечовидільну систему є лише результати досліджень детрузороселективних спазмолітичних властивостей та міорелаксуючої дії на гладенькі м'язи сечовода. Отримані in



vitro дані експериментально обґрунтовують доцільність застосування флокаліну для корекції гіперактивності сечового міхура, фармакотерапії ниркової кольки, спричиненої сечокам'яною хворобою та для проведення уретеропієлоскопії [89, 106, 107, 121].

Таким чином, експериментальні дослідження переконливо свідчать про ефективність застосування флокаліну для попередження прогресування патології серця, головного мозку, при констрикції гладеньком'язових клітин. Разом з тим, широкий спектр фармакологічної активності дозволяє окреслити достатньо значущі властивості для можливої ренальної протекції у вітчизняного відкривача  $K_{ATP}$  каналів. Так, флокалін викликає виражену спазмолітичну дію і вазодилатацію внаслідок стимуляції  $K_{ATP}$  каналів сарколеми гладеньком'язових та ендотеліальних клітин. Таким чином регулюється і покращується кровотік, що зумовлює перспективність застосування флокаліну при нирковій ендотеліальній дисфункції з переважною активністю вазоконстрикторних чинників, артеріальною гіпertenзією і дисбалансом ангіогенезу. За умов зниження підвищеного АТ під впливом флокаліну насосна функція серця не тільки зберігалась, а навіть зростала [30]. Отже, зменшується вірогідність виникнення нездатності системи кровообігу доставляти необхідну для нормальної діяльності нирок кількість крові. В той же час, збереження системного АТ у нормотензивних експериментальних тварин виключає гіпотонічну гіпоперфузію, розвиток порушення гломерулярних процесів, прогресування ниркової дисфункції. В будь якому разі, активація  $K_{ATP}$  каналів створює так зване фармакологічне прекодиціювання, що підтримує компенсаторне функціонування клітин і зменшує пошкодження тканин під час кисневого голодування.

Відсутність строго специфічних органних впливів гіпоксії внаслідок спільних ланцюгів патогенезу передбачає реалізацію багатогранних механізмів метаболічного захисту активатора  $K_{ATP}$  каналів по відношенню до нирок за умов енергодефіциту. При цьому особливу увагу заслуговує здатність флокаліну відкривати мітохондріальні калієві канали, які були також

виявлені в нирках. Активація калійселективної проникності у внутрішній мембрані мітохондрій, які є одним із головних джерел активних форм кисню і відіграють значну роль у підтримці енергетичного балансу клітин [259], дозволяє попередити окислювальний стрес і таким чином захистити, в тому ж числі, багаті мітохондріями нефроцити. Ідентифікація флокаліну як фармакологічного відкривача мітохондріальних  $K_{ATP}$  каналів підтвердила його роль як цитопротектора з антиішемічним і антиапоптичним ефектом [31, 34, 131, 132].

Також, флокалін відповідає ряду вимог щодо лікарських засобів. Для вітчизняного активатора  $K_{ATP}$  каналів притаманний швидкий розвиток дії. Оптимальний діапазон терапевтичних доз надає можливість дозозалежним чином моделювати ефект і змінювати стабілізуючу дозу залежно від клінічної реакції. Належність до класу малотоксичних сполук зумовлює зменшення ризику побічної дії при монотерапії та при комбінованому застосуванні флокаліну в схемах лікування. Особливо важливим для цитопroteкції за умов порушення гомеостатичної діяльності нирок є відсутність у флокаліну нефротоксичних впливів. Нарешті, переконливі експериментальні дані про потужні кардіопротективні властивості та захисні впливи флокаліну на головний мозок, які за величиною співставлялись з ефектами загальноновизнаних церебропротекторів, спонукали нас до оцінки змін функцій нирок та ренальних механізмів і, тим самим, розширити передумови для клінічної апробації та подальшого застосування флокаліну в якості лікарського нефропротекторного засобу.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### *Характеристика піддослідних тварин.*

Дослідження проведені на 540 лабораторних нелінійних білих статевозрілих щурах обох статей масою тіла 0,15-0,17 кг, які знаходились у стандартних умовах віварію при сталій температурі та вологості повітря. Щури були на однаковому раціоні харчування, включаючи всі необхідні харчові інгредієнти, вітаміни та мінеральні речовини. Всі експериментальні тварини до початку досліджень проходили адаптацію до гіпонатрієвої дієти. Протягом п'яти діб до проведення експериментів щури отримували лише зерно пшениці (корм з низьким вмістом іонів натрію) та відстояну водопровідну воду кімнатної температури. Всі 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 (від 18 березня 1986 року) [292].

#### *Методика введення та дози досліджуваних модуляторів іонних каналів.*

Дослідження проводили після одноразового та багаторазового (7 днів) внутрішньошлункового (за допомогою металевого зонду) введення субстанції флокаліну та препарату дилтіазем (Sanofi, Франція) на 1% крохмальному слизу в об'ємі 0,5 мл на 100 г маси тіла. Групам порівняння – інтактним щурам і експериментальним тваринам з моделями нефропатії внутрішньошлунково вводили аналогічний об'єм розчинника.

Беручи до уваги відомості про дозозалежність ефектів флокаліну [30, 34, 100], в серіях експериментів на тлі водно-сольових функціональних навантажень досліджували ренотропні властивості фторвмісного активатора  $K_{ATP}$  каналів у дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг. Слід зауважити, що саме такі дози застосовувались іншими науковцями для дослідження впливу флокаліну на скорочувальну активність сечового міхура [89]. Під впливом вказаних доз у

наших дослідженнях спостерігалась однакова тенденція змін показників функцій нирок. Однак, після введення меншої дози відмінності в порівнянні з контрольною групою були вірогідно значимі. Саме ці результати зумовили вибір для досліджень на моделях нефропатії дози 5 мг/кг, яка складає 0,23% від встановленої напівлетальної дози (LD50) флокаліну [28, 124]. Експериментальна доза дилтіазему становила 5 мг/кг, що дорівнює 0,63% від LD50 [25]. Для корекції доз, за умов семиденного введення флокаліну та дилтіазему, щурів повторно зважували. Враховуючи стабільний ритмічний характер фізіологічних процесів [50, 375, 480], у тому ж числі добре відому чітку хронозалежну організацію діяльності нирок [230, 248, 249, 341], введення модуляторів іонних каналів і проведення експериментів здійснювали в один і той самий світловий час першої половини доби.

Для визначення ролі РААС у ренальних ефектах модуляторів іонних каналів досліджували функціональний стан нирок за умов пригнічення активності Анг II в організмі щурів. З цією метою флокалін і дилтіазем у дозах по 5 мг/кг маси тіла вводили впродовж 7 днів у комбінації з блокатором РААС ІАПФ еналаприлом («Здоровье», Харків). Еналаприл вводили внутрішньошлунково в дозі 1 мг/кг в об'ємі 0,5 мл водного розчину на 100 г маси тіла. Експерименти виконували згідно методики проведення досліджень за умов водного індукованого діурезу.

#### *Методи дослідження функціонального стану нирок.*

Функціональний стан нирок досліджували за умов водного та сольового індукованого діурезу. За 12 год до початку експериментів у щурів забирали корм, воду не обмежували. Навантаження проводили через 30 хв після останнього введення флокаліну чи дилтіазему. В експериментах з водним навантаженням водопровідну воду кімнатної температури вводили щурам зондом у шлунок в об'ємі 5% від маси тіла. Це призводить до зменшення осмоляльності позаклітинної рідини і зниження в крові концентрації антидіуретичного гормону (вазопресину). Для збільшення об'єму позаклітинної рідини сольовим навантаженням (в середньому – на 1,4%)

щуром аналогічним чином вводили 0,45% розчин NaCl в кількості 3% від маси тіла. В усіх серіях експериментальних тварин поміщали на 2 години в індивідуальні обмінні клітки для збору сечі. Після евтаназії, яку виконували під 1% нембуталовим наркозом (20 мг/кг маси тіла), у щурів збирали кров і стабілізували додаванням у пробірки 0,2 мл гепарину, центрифугували при 1500 об/хв протягом 10 хвилин.

Для аналізу діяльності нирок практичне значення має оцінка функціонального стану клубочкового та каналцевого апарату за допомогою формул і розрахунків, які ґрунтуються на принципах очищення. Метод очищення (метод кліренсу) дозволяє визначити об'єм клубочкової фільтрації, оцінити екскреторну, іоно- та осморегулювальну функції нирок, транстубулярний транспорт електролітів (каналцеву реабсорбцію та секрецію), а також локалізацію дії фармакологічних засобів з визначенням переважного впливу на відділи нефрону.

Кількісна оцінка основних процесів сечоутворення – клубочкової фільтрації та каналцевої реабсорбції передбачає одночасний вимір концентрації тест-речовин у плазмі крові та сечі. В нашій роботі для характеристики функціонального стану нирок досліджувались концентрації креатиніну, іонів натрію, іонів калію в плазмі крові та сечі (діурез вимірювали за дві години). Для стандартизації величин, отримані показники перераховували на 100 г маси тіла і на 100 мкл клубочкового фільтрату. Розрахунки з визначення функцій нирок проводили за загальновизнаними кліренсовими формулами [148, 186].

Гломерулярна ультрафільтрація вирішальним чином визначає можливості нирок стосовно виконання практично всієї багатогранної гомеостатичної діяльності [112]. Зміни достатньо стабільної величини ШКФ у функціональній нефрології є еквівалентом патогенезу наявної патології нирок. Важкість (стадія) захворювань нирок визначається саме рівнями ШКФ, ступінь зниження якої міцно корелює з іншими клінічними чи метаболічними змінами при прогресуванні нефропатій. Незважаючи на постійне

вдосконалення методів визначення ШКФ [313], найбільшу уяву про клубочкові процеси можна отримати за допомогою розрахунків кліренсу інуліну, креатиніну, цистатину С [63, 137, 274, 509]. Вказані фізіологічно інертні речовини вільно фільтруються у клубочках, не реабсорбуються і не секретуються в канальцях; не зв'язуються з білками та не метаболізуються в організмі; без обмежень проникають у міжклітинні простори та мінімально потрапляють у клітини. В наших дослідженнях ШКФ розраховували за кліренсом ендogenous креатиніну – одного з продуктів азотистого обміну. В порівнянні з інуліном, природний метаболіт креатинін при низці захворювань не тільки фільтрується, але й частково реабсорбується. Зазвичай реабсорбція креатиніну за величиною дорівнює його секреції в канальцях. Тому цей метод вимірювання ШКФ та оцінка кліренсу ендogenous креатиніну практично відповідають результатам досліджень кліренсу маркеру гломерулярних процесів цистатину С і дозволяють надійно оцінити стан екскреторної функції, прогноз нефрологічної патології та ефективність потенційних нефропротекторів [117, 453].

Концентрацію креатиніну в сечі досліджували за методом Фоліна. При цьому в мірній колбі на 50 мл змішували 0,5 мл сечі, 1,5 мл води, 0,5 мл насиченого розчину пікринової кислоти, 0,5 мл 10% NaOH і через 10 хв доливали водою до позначки. Розчин відстоювали 10 хв і калориметрували на фотоелектрокалориметрі КФК-2 при зеленому світлофільтрі (довжина хвилі 540 нм) проти кювети зі стандартом (розчин, який замість сечі містить 0,5 мл води). Показники приладу порівнювали за стандартним графіком і, враховуючи розведення, знаходили екскрецію креатиніну [15].

Концентрацію креатиніну в плазмі крові досліджували за методом Поппера у пропису Мерзона А.К. [95]. Для цього до 2,5 мл 1,2% пікринової кислоти дозатором швидко вливають 0,5 мл плазми крові. Білки випадають в осад у вигляді дрібної дисперсії яскраво-жовтого кольору, що виключає необхідність ставити проби у водяну баню при 100°C для осадження білків. Після центрифугування при 3000 об/хв упродовж 15 хв відбирають по 2 мл

супернатанту, до якого додають 0,12 мл 10% NaOH. Через 15 хв вимірюють концентрацію креатиніну на спектрофотометрі СФ-46 при довжині хвилі 520 нм проти контролю, куди замість плазми крові вносять 0,5 мл дистильованої води.

Визначали ШКФ ( $C_{cr}$ ) за кліренсом ендogenous креатиніну та розраховували за формулою:

$$C_{cr} = U_{cr} \times V / P_{cr},$$

де  $U_{cr}$  і  $P_{cr}$  – концентрації креатиніну в сечі і в плазмі крові;  $V$  – діурез.

За співвідношенням  $U_{cr}/P_{cr}$ , оцінювали концентраційний індекс креатиніну.

Визначення ШКФ дозволяє одночасно вимірювати каналцеву реабсорбцію води ( $RH_2O$ ) за допомогою формули:

$$RH_2O = C_{cr} - V$$

Для оцінювання волюморегулювальної функції нирок вираховували відносну реабсорбцію води – ту частку з усієї кількості профільтрованої води, яка реабсорбувалась у тубулярному відділі нефрону:

Відносну реабсорбцію води ( $RH_2O\%$ ) розраховували за формулою:

$$RH_2O\% = (C_{cr} - V) / C_{cr} \times 100\%$$

Дослідження іонорегулювальної функції нирок проводили за класичними методиками визначення в досліджуваних біологічних рідинах (сеча та плазма крові) основних осмотично активних електролітів – іонів натрію та калію. Оцінка діяльності нирок за показниками натрійурезу об'єктивізує можливості регуляції водно-сольової рівноваги в організмі та стан основного енергозалежного процесу – реабсорбції іонів натрію з локалізацією змін у проксимальному та дистальному відділах нефрону. Аналіз калієвого балансу дозволяє доповнити характеристику транспорту речовин тубулярними клітинами в сечу – процесу каналцевої секреції, а також передбачити побічні ефекти досліджуваних фармакологічно активних сполук, які можуть бути спричинені дискаліємією.

Концентрації іонів натрію і калію в плазмі крові та сечі визначали методом фотометрії полум'я з використанням фотометра ФПЛ-1. Визначення концентрації електролітів у біологічних рідинах проводили шляхом порівняння показників полум'яного фотометру при введенні в розпилювач досліджуваних і стандартних розчинів. Стандартні розчини готували з NaCl та KCl у концентраціях електролітів по 0,5 ммоль/л [69]. Враховуючи розведення, проводили відповідні розрахунки.

Фільтраційну фракцію іонів натрію ( $FFNa^+$ ) оцінювали за формулою:

$$FFNa^+ = C_{cr} \times PNa^+,$$

де  $PNa^+$  – концентрація іонів натрію в плазмі крові.

Екскрецію іонів натрію ( $ENa^+$ ) та іонів калію ( $EK^+$ ) оцінювали за формулами:

$$ENa^+ = V \times UNa^+,$$

$$EK^+ = V \times UK^+,$$

де  $UNa^+$ ,  $UK^+$  – концентрації іонів натрію, іонів калію в сечі.

За відношенням концентрацій іонів натрію та калію в сечі ( $UNa^+/UK^+$ ) оцінювали механізми змін іоновидільної функції нирок і вплив досліджуваних речовин на стан іонного балансу.

Абсолютну реабсорбцію іонів натрію ( $RFNa^+$ ) розраховували за формулою:

$$RFNa^+ = C_{cr} \times PNa^+ - V \times UNa^+$$

Відносну реабсорбцію іонів натрію ( $RFNa^+\%$ ) розраховували за формулою:

$$RFNa^+\% = (1 - V \times UNa^+ / C_{cr} \times PNa^+) \times 100\%$$

Досліджували проксимальну реабсорбцію ( $T^pNa^+$ ) і дистальну ( $T^dNa^+$ ) реабсорбцію іонів натрію, керуючись принципами, що за умов водного діурезу відсутня реабсорбція води в дистальному відділі нефрону і збірних каналцях внаслідок різкого зниження концентрації антидіуретичного гормону в плазмі крові при ізотонічності первинної сечі в проксимальному відділі нефрону [186].



Розрахунки проводили за формулами:

$$(T^pNa^+) = (C_{cr} - V) \times PNa^+$$

$$(T^dNa^+) = (PNa^+ - UNa^+) \times V$$

Розраховували кліренси іонів натрію ( $CNa^+$ ) та безнатрієвої води ( $C^{H_2O}Na^+$ ) за формулами:

$$CNa^+ = V \times UNa^+ / PNa^+$$

$$C^{H_2O}Na^+ = V - V \times UNa^+ / PNa^+$$

Важливою умовою підтримки водно-сольової рівноваги є взаємозалежне функціонування гломерулярних і тубулярних механізмів. Стан клубочково-канальцевого, канальцево-канальцевого балансів і зворотного канальцево-клубочкового взаємозв'язку оцінювали за допомогою кореляційного аналізу між процесами клубочкової фільтрації, абсолютної, проксимальної, дистальної реабсорбції іонів натрію та відносної реабсорбції води [135, 143].

Віддзеркаленням стану базальної мембрани клубочків є протеїнурія, яка, в свою чергу, призводить до пошкодження проксимальних канальців, збільшення пасажу макромолекул у мезангій, розвитку тубулоінтерстиційного синдрому. У переважній кількості випадків позитивна клінічна динаміка без супутніх змін сечової екскреції білка не приводить до сповільнення прогресування ниркової патології. Рівень протеїнурії є прямим маркером ренальної дисфункції, кардинальною характеристикою патофізіологічних зрушень, методом індексації важкості захворювання, а також і критерієм оцінки нефропротекції. Концентрацію білка в сечі визначали за реакцією з сульфосаліциловою кислотою. Згідно з методикою, до 1,5 мл 3% розчину сульфосаліцилової кислоти додавали 0,3 мл сечі і визначали оптичну густину при довжині хвилі 590 нм проти контролю (замість сечі додавали дистильовану воду) на фотоелектроколориметрі КФК-2 [99].

Концентрацію білка в сечі визначали за формулою:

$$U_{pr} = 1,067 \times (E_{590} + 0,6),$$

де 1,067 – коефіцієнт перерахунку; 0,6 – поправка.

Екскрецію білка ( $E_{pr}$ ) визначали за формулою:

$$E_{pr} = U_{pr} \times V$$

Враховуючи те, що збільшує протеїнурію в сечі переважно втрата плазматичних білків, кількісну оцінку екскреції білка також проводили залежно від клубочкової фільтрації.

$$E_{pr}/100 \text{ мкл КФ} = 100 \times E_{pr}/100 \text{ мкл КФ}$$

Кислоторегулювальну функцію нирок оцінювали за визначеними в сечі показниками рН, концентрації іонів водню, кислот, що титруються, іонів амонію з розрахунками їх екскреції та індексів співвідношення [148]. Рівень рН сечі вимірювали на мікробіоаналізаторі «Radelkis» (Угорщина). На підставі даних рН сечі неможливо скласти уявлення про загальну кількість іонів водню, які секретуються в каналцях. Значна частка водневих іонів з'єднується з аніонами фосфатів і аміаком. Дослідження титрованої кислотності сечі дозволяє встановити кількість іонів водню, асоційованих з аніонами фосфатів і слабких органічних кислот. Аміак, джерелом якого є сечовина крові, зв'язується в каналцях з воднем і виводить аніони сильних кислот у вигляді солей амонію. Загальна екскреція іонів водню складає суму виділення нирками амонію та кислот, що титруються.

Додаванням NaOH можна, поступово зв'язуючи іони водню, спричинити повне розщеплення молекул кислоти. Тоді за кількістю лугу, що витрачено на нейтралізацію кислоти, з'ясувати величину титрованої кислотності. Для визначення кислот, що титруються (ТК), в пробірку послідовно вносили 0,5 мл сечі, додавали 1 краплю спиртового розчину фенолфталеїну (суміш 100 мл 96% спирту та 1 г фенолфталеїну) і титрували 0,01N NaOH до появи рожевого забарвлення. Після цього, для визначення вмісту аміаку ( $NH_3$ ), додавали 1 мл нейтрального формаліну (40%) і титрували 0,01N NaOH до появи рожевого забарвлення.

Функцію амоніогенезу оцінювали за амонійним коефіцієнтом – відношення екскреції аміаку ( $ENH_3$ ) до екскреції кислот (ЕТК), що титруються ( $ENH_3/ЕТК$ ) за формулою:

$$ENH_3/ETK=(V \times NH_3)/(V \times TK)$$

*Експериментальні моделі патології нирок.*

Токсичну нефропатію моделювали шляхом разового підшкірного введення 0,1% розчину дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг. Експериментальна сулемова нефропатія є класичним прототипом моделі тубулопатії з переважним пошкодженням проксимального відділу нефрону та подальшим розвитком тубуло-інтерстиційного синдрому [38]. Крім того, обрана для наших досліджень сулемова нефропатія відповідає всім вимогам, які ставляться до експериментальних моделей [60]. Слід зауважити, що ґрунтовними попередніми науковими роботами встановлені механізми сулемового ураження нирок, проведений патогенетичний аналіз стадій розвитку та хронізації процесу. Отримані результати мають важливе значення для фармакологічної оцінки, а також встановлення механізмів корекції.

Для створення моделі гіпоксичної нефропатії використовували нітрит натрію в дозі 50 мг/кг маси тіла та 2,4-динітрофенол в дозі 3 мг/кг маси тіла. Патогенетичними ланцюгами інтоксикації нітриту натрію є утворення метгемоглобіну і порушення транспортної функції крові; під впливом 2,4-динітрофенолу виникає розщеплення процесів окиснення і фосфорилування в мітохондріях, розвивається первинно-тканинна гіпоксія [52, 138, 139]. Обидва токсиканти використовуються для моделювання гемічної та гістотоксичної гіпоксичних нефропатій [13, 15, 61, 140]. Поєднання в нашій модифікації обох прогіпоксичних чинників призводило до розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії (ГГГН) з пошкодженням проксимального і дистального відділів нефрону. Для моделювання ГГГН щурам підшкірно водили розчин нітриту натрію та через 30 хв внутрішньоочеревинно вводили 2,4-динітрофенол. Наукову новизну способу моделювання підтверджено Патентом України на корисну модель і також затверджено, як нововведення, в переліку наукової (науково-технічної) продукції, призначеної для впровадження медичної науки у сферу охорони здоров'я.

Корекцію функціонального стану нирок модуляторами іонних каналів проводили з першого дня (разове і введення 7 днів) і з 30 доби (введення 7 днів) моделювання нефропатій. Вказані періоди дослідження за структурно-функціональними ознаками відповідали початковій стадії гострого ураження нирок та хронізації процесу. Перше введення флокаліну та дилтіазему щурам здійснювали через 2 год після застосування сулеми, а під час моделювання ГГН – перед введенням 2,4-динітрофенолу.

*Дослідження енергетичного обміну.*

Стан енергетичного обміну вивчали біохімічними методами визначення активності ферментів лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази [65] в тканинах нирок, які є маркерами енергодефіциту за умов каналцевої дисфункції [36]. Активність лужної фосфатази досліджували на КФК-2 згідно інструкції до набору для визначення за принципом здатності ферменту розщеплювати фенілфосфат з утворенням фенолу. Окисне сполучення фенолу з 4-амінофеназоном утворює червоний барвник, інтенсивність забарвлення якого визначається фотометрично. Для виготовлення гомогенату кіркової речовини нирок до 100 мг тканини додавали 2 мл трис-буферу та розтирали в скляному гомогенізаторі.

Активність ферменту є пропорційною прирощенню оптичної щільності розчину і розраховується за формулою:

$$SDG = \Delta E / 0,663 \times 83$$

SDG – активність лужної фосфатази в дослідному зразку, од;

$\Delta E$  – зміна оптичної щільності дослідного зразка (екстинкція);

0,663 і 83 – теоретичні чинники перерахунку.

Для визначення активності сукцинатдегідрогенази в центрифужні пробірки вносили по 0,1 мл 0,1М фосфатного буферу, 0,1 мл бурштинової кислоти, 0,1 мл етилендіамінтетраоцтової кислоти, 0,1 мл  $\text{NaN}_3$ , 0,1 мл дистильованої  $\text{H}_2\text{O}$ , 0,5 мл гомогенату (до 100 мг тканини кіркового чи мозкового шару нирок додавали 1,5 мл фосфатного буферу). В контрольних пробах замість гомогенату додавали 0,5 мл трихлороцтової кислоти (ТХО).

Після інкубації впродовж 5 хв у проби додавали по 0,1 мл фериціаніду калію та інкубували 10 хв при 30°C. Реакцію зупиняли додаванням по 2 мл 20% ТХО і поміщали на лід до охолодження. Після центрифугування (15 хв, 2000 об/хв) відбирали надосадову рідину та фотометрували при довжині хвилі 420 нм на КФК-2. Оптичним контролем слугували розчини з 2 мл 20% ТХО та з 2 мл 0,1М фосфатного буферу. Вміст білка в пробі визначали за методом Лоурі.

Активність сукцинатдегідрогенази розраховували за формулою:

$$A = 100 \times m / 2M \times b \times t$$

A – активність ферменту;

m – кількість відновленого фериціаніду в пробі (різниця між екстинкціями контролю і проби), мкг;

b – вміст білка в пробі, мг;

M – молекулярна маса фериціаніду (329,3);

t – час інкубації, хв (10 хв).

*Дослідження тканинного фібринолізу та необмеженого протеолізу.*

Дослідження біохімічних маркерів ренальної патології передбачає визначення стану протеолізу/фібринолізу, враховуючи залежність синтезу активатора плазміногену урокінази від функціонального стану нирок. Фібринолітичну активність (ФА) визначали на основі реакції з азофібрином (НВФ «Simko Ltd.», Львів), тобто фібрину, асоційованого з азобарвником оранжевого кольору, який дає в лужному середовищі яскраво-червоне забарвлення [129]. Визначали також сумарну фібринолітичну активність (СФА), ферментативну (ФФА) та неферментативну фібринолітичну активність (НФА) [51]. Для цього наважки тканин (100 мг) відмивали від домішок крові в охолоджену буфері (рН 7,4). Гомогенізацію проводили у скляному гомогенізаторі під візуальним контролем. Для визначення СФА до гомогенату чи плазми крові додавали 5 мг азофібрину, 10 од плазміногену (НВФ «Simko Ltd.», Львів) та 1 мл боратного буферу (рН 7,4). У пробірках для визначення НФА, крім того, додавали 20 мг  $\epsilon$ -мінокапронової кислоти, яка пригнічує ферментативний фібриноліз. Всі пробірки інкубували при

температурі 37°C 15 хв у водяному термостаті ТПС. За цей час проходив розпад азофібрину і звільнявся азобарвник в інкубаційний розчин відповідно до фібринолітичної активності тканин. Після інкубації пробірки охолоджували до 5°C для зупинки лізису азофібрину. В кожену пробірку додавали для залужування середовища по 20 мкл 5М розчину NaOH, фільтрували через шар вати 1 см у шприці. Вимірювали оптичну густину проб на спектрофотометрі СФ-46 в кюветах 1 см при довжині хвилі 440 нм проти розчину порівняння.

Розрахунки проводили за формулами:

$$\text{СФА(НФА)} = (E_{440} \times 4 \times 1000) / n = E_{440} / \text{год/г тканини},$$

де  $E_{440}$  – показник екстинкції для фібринолітичної активності;

n – маса наважки органа (мг).

Ферментативний фібриноліз (ФФА) визначали як різницю між сумарною та неферментативною активністю тканин за формулою:

$$\text{ФФА} = \text{СФА} - \text{НФА}$$

Для оцінки необмеженого протеолізу до 1 мг азоальбуміну (азоказеїну, азоколу) (НВФ «Simko Ltd.», Львів), додавали 0,25 мл гомогенату чи сечі і 1,5 мл боратного буферу (рН 9,0). У контрольній пробі до 1 мг азоальбуміну (азоказеїну чи азоколу Simko Ltd., Львів) додавали 0,25 мл дистильованої води, 5 мг епсилон-амінокапронової кислоти і 1,5 мл боратного буферу (рН 9,0). Проби ретельно перемішували та поміщали на 30 хв у термостат при температурі 37°C. Після чого додавали по 0,02 мл 5N NaOH, перемішували і на апараті додавали по 2 мл дистильованої води, перемішували, фільтрували і визначали оптичну густину проб при довжині хвилі 440 нм на фотоколориметрі КФК-2. Протеолітичну активність оцінювали, як і фібриноліз у  $E_{440}/\text{год/г}$  для тканин чи  $E_{440}/\text{год/мл}$  для сечі.

#### *Морфологічні дослідження тканин нирок.*

Дослідження морфологічного стану нирок проводили в лабораторії кафедри патологічної анатомії ВДНЗ України «Буковинський державний медичний університет» МОЗ України за консультативною допомогою професора І.С. Давиденка. Для морфологічного дослідження біоптати тканин

нирок фіксували в 10% розчині нейтрального формаліну. Після фіксації матеріал зневоднювали в розчинах етилового спирту і ущільнювали парафіном при температурі 58°C. Парафінові гістологічні зрізи тканин нирок товщиною 5-7 мкм виготовляли санним мікротомом МС-2, після депарафінізації зрізи фарбували гематоксиліном та еозином. Мікропрепарати вивчали в світловому мікроскопі. Цифрові копії оптичного зображення отримували за допомогою цифрового фотоапарата Olympus C740UZ та аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми "ВидеоТест-Размер 5.0" (ООО Видеотест, Россия).

*Статистичний аналіз* проводили методами параметричної статистики за допомогою програм «Statgrafіcs», «Excel 7.0». Оцінку відмінностей між вибірками проводили з використанням *t*-критерію Стьюдента. Взаємозв'язок між досліджуваними 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.

### РОЗДІЛ 3

## ФІЗІОЛОГІЧНИЙ АНАЛІЗ ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ПІД ВПЛИВОМ ФЛОКАЛІНУ ЗА УМОВ ІНДУКОВАНОГО ДІУРЕЗУ

Нирки є основним ефекторним органом системи водно-сольового обміну, який здатний у широких межах і з високою вибірковістю змінювати екскрецію води та електролітів для забезпечення постійності об'єму та складу рідин внутрішнього середовища. За умов вивчення кількісних показників функцій нирок використовують введення в організм різної за хімічним складом рідини для підвищення рівня діурезу. Збільшення сечовиділення може бути зумовлено двома переважними причинами: зменшенням проникності стінки канальців нефрону для води та/чи збільшенням екскреції розчинених речовин і необхідної для їх розчинення води. Разом з тим, в останні роки звертають увагу на роль змін ШКФ щодо вихідного режиму функціонування, як одного з важливих показників механізмів змін гомеостатичних процесів нирок [39].

Прийнято виділяти декілька типів діурезу: водний діурез, антидіурез, осмотичний діурез і салурез, який за реакцією регуляторних систем відрізняється від осмотичного діурезу [18]. Моделювання типів сечоутворення різноманітними водно-сольовими навантаженнями відтворює фізіологічні умови функціонування нирок чи клінічні прояви різних форм патології. При імітації природного надходження в організм іонів і води спрацьовують як загальні, так і високочутливі до осмотичного складу специфічні реакції, що спрямовані на підтримку гомеостазу. Аналіз результатів на тлі водно-сольових навантажень дозволяє виявити нефротропну активність сполук, встановити локалізацію і окреслити можливі механізми впливів лікарських речовин, а також оцінити межі адаптації та функціональні резерви нирок [40].

Ренальну відповідь на флокалін досліджували за умов навантаження організму щурів відстояною водопровідною водою в об'ємі 5 мл на 100 г маси тіла та 0,45% розчином натрію хлориду в об'ємі 3 мл на 100 г маси тіла.



Навантаження проводили за допомогою інтрашлункового металевго зонду через 30 хв після останнього введення флокаліну і поміщали щурів у клітки на дві години для збору сечі. Враховуючи те, що системні та внутрішньониркові регуляторні механізми взаємопов'язані з натрієвим обміном, всі щури знаходились на низьконатрієвому раціоні харчування.

Беручи до уваги встановлену іншими вітчизняними науковцями дозозалежність серцево-судинних ефектів флокаліну [11, 30], показники функцій нирок визначали після однократного та семиденного внутрішньолункового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг.

### **3.1. Вплив флокаліну на функціональний стан нирок за умов водного навантаження**

Гіпергідратація після введення щурам 5 мл води на 100 г маси тіла *per os* є стандартним методом для створення водного діурезу завдяки майже повному пригніченню ендогенної продукції антидіуретичного гормону. Фізіологічні механізми водного діурезу практично вивчені. Саме тому, за допомогою водного навантаження можна швидко виявити ренальні властивості сполук і з достатньо високою точністю спрогнозувати їх нефропротекторну спроможність.

#### **3.1.1. Зміни показників діяльності нирок після разового введення флокаліну за умов водного навантаження**

Отримані результати засвідчили, що після разового введення флокаліну за умов 5% водної гіпергідратації сечовиділення у щурів знижувалось. Під впливом дози 5 мг/кг діурез відрізнявся від вихідного рівня на 10,6%, а після застосування дози 10 мг/кг був на 14% менший, ніж у інтактних щурів. Зростала концентрація ендогенного креатиніну в сечі після введення флокаліну: різниця показників з контролем становила 17,1% і 49%, відповідно до введених доз 5 і 10 мг/кг, екскреція креатиніну зростала на 24,1% і 48%, відповідно (табл. 3.1).

Таблиця 3.1

Зміни функціонального стану нирок щурів після разового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                            | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг               | Флокалін<br>10 мг/кг                           |
|------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                  | $4,25 \pm 0,153$          | $3,80 \pm 0,121$<br>$p < 0,05$    | $3,66 \pm 0,145$<br>$p < 0,05$                 |
| Концентрація креатиніну<br>в плазмі крові, мкмоль/л  | $42,83 \pm 3,083$         | $46,00 \pm 2,333$                 | $65,66 \pm 11,500$                             |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л           | $0,70 \pm 0,023$          | $0,82 \pm 0,026$<br>$p < 0,001$   | $0,85 \pm 0,022$<br>$p < 0,001$                |
| Концентраційний індекс<br>ендогенного креатиніну, од | $16,9 \pm 1,26$           | $18,1 \pm 1,24$                   | $14,9 \pm 2,36$                                |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год                | $2,10 \pm 0,225$          | $3,13 \pm 0,161$<br>$p < 0,01$    | $3,12 \pm 0,129$<br>$p < 0,01$                 |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                     | $606,8 \pm 63,63$         | $579,1 \pm 50,47$                 | $462,1 \pm 81,27$                              |
| Відносна реабсорбція<br>води, %                      | $93,88 \pm 0,417$         | $94,36 \pm 0,361$                 | $92,32 \pm 1,226$                              |
| Концентрація білка в сечі,<br>г/л                    | $0,005 \pm 0,0003$        | $0,002 \pm 0,0004$<br>$p < 0,001$ | $0,002 \pm 0,0003$<br>$p < 0,001$              |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                    | $0,004 \pm 0,0005$        | $0,002 \pm 0,0003$<br>$p < 0,05$  | $0,002 \pm 0,0005$<br>$p < 0,05$               |
| pH сечі, од                                          | $7,13 \pm 0,150$          | $7,49 \pm 0,055$<br>$p < 0,05$    | $7,49 \pm 0,018$<br>$p < 0,05$                 |
| Концентрація $H^+$ в сечі,<br>мкмоль/л               | $0,85 \pm 0,009$          | $0,87 \pm 0,003$<br>$p < 0,05$    | $0,87 \pm 0,001$<br>$p < 0,05$                 |
| Екскреція $H^+$ ,<br>нмоль/2 год                     | $3,63 \pm 0,042$          | $3,32 \pm 0,100$<br>$p < 0,05$    | $3,20 \pm 0,121$<br>$p < 0,05$                 |
| Екскреція титрованих<br>кислот, мкмоль/2 год         | $14,11 \pm 2,439$         | $7,67 \pm 0,833$<br>$p < 0,05$    | $8,86 \pm 0,847$                               |
| Екскреція $NH_3$ ,<br>мкмоль/2 год                   | $35,7 \pm 3,96$           | $25,5 \pm 3,37$                   | $32,8 \pm 3,00$                                |
| Амонійний коефіцієнт,<br>од                          | $2,67 \pm 0,168$          | $3,27 \pm 0,120$<br>$p < 0,05$    | $3,70 \pm 0,030$<br>$p < 0,01$<br>$p_1 < 0,05$ |

Примітка. Достовірні відмінності (тут і в інших таблицях розділу 3) між групами:  $p$  – інтактного контролю;  $p_1$  – щурів, яким вводили флокалін.

Показник ШКФ достовірно не відрізнявся від контролю, але реакція клубочкового сектору відображалась зменшеним діурезом. В обох групах під впливом флокаліну знижувалась концентрація білка в сечі на 60% і на 50% зменшувалась стандартизована за 100 мкл КФ екскреція білка.

Подальший аналіз функції нирок показав (див. табл. 3.1), що рН і концентрації іонів водню в сечі зростали, його екскреція знижувалась на 8,6% і 11,9%, а амонійний коефіцієнт на 22,5% і 38,6%, відповідно до введених доз 5 мг/кг і 10 мг/кг. Екскреція титрованих кислот після застосування меншої дози зменшувалась на 45,7%.

За умов разової активації  $K_{ATF}$  каналів концентрація іонів калію в плазмі крові та в сечі вірогідно не змінювалась (таб. 3.2).

Таблиця 3.2

Зміни іонорегулювальної функції нирок щурів після разового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг             | Флокалін<br>10 мг/кг                            |
|----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в плазмі крові, ммоль/л   | $5,04 \pm 0,187$          | $5,00 \pm 0,125$                | $4,70 \pm 0,069$                                |
| Концентрація $K^+$ в сечі, ммоль/л           | $5,25 \pm 0,875$          | $3,91 \pm 0,528$                | $3,91 \pm 0,291$                                |
| Екскреція $K^+$ , мкмоль/2 год               | $22,06 \pm 3,179$         | $14,63 \pm 1,180$<br>$p < 0,05$ | $14,16 \pm 1,667$<br>$p < 0,05$                 |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі крові, ммоль/л  | $130,8 \pm 1,80$          | $128,7 \pm 2,50$                | $128,3 \pm 2,08$                                |
| Концентрація $Na^+$ в сечі, ммоль/л          | $0,20 \pm 0,0083$         | $0,24 \pm 0,013$<br>$p < 0,05$  | $0,26 \pm 0,011$<br>$p < 0,001$                 |
| Екскреція $Na^+$ , мкмоль/2 год              | $0,84 \pm 0,059$          | $0,92 \pm 0,060$                | $0,97 \pm 0,038$                                |
| Фільтраційний заряд $Na^+$ , мкмоль/хв       | $79,27 \pm 8,402$         | $74,71 \pm 6,881$               | $59,05 \pm 9,937$                               |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ , %              | $99,99 \pm 0,001$         | $99,99 \pm 0,001$               | $99,98 \pm 0,002$<br>$p < 0,05$<br>$p_1 < 0,01$ |
| Концентрація $Na^+/K^+$ в сечі, од           | $0,04 \pm 0,009$          | $0,07 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$  | $0,07 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$                  |
| Дистальний транспорт $Na^+$ , мкмоль/2 год   | $555,3 \pm 32,66$         | $488,6 \pm 16,44$               | $468,9 \pm 18,11$                               |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ , ммоль/2 год | $8,96 \pm 0,977$          | $8,47 \pm 0,812$                | $6,61 \pm 1,185$                                |
| Екскреція $Na^+$ , мкмоль/100 мкл КФ         | $0,15 \pm 0,003$          | $0,16 \pm 0,003$<br>$p < 0,05$  | $0,25 \pm 0,007$<br>$p < 0,01$<br>$p_1 < 0,01$  |

Водночас, незалежно від концентрації осмотично активного іону калію в плазмі крові, калійурез в обох групах з флокаліном знижувався на 35%.

Подальший аналіз змін показників електролітного балансу показав, що під впливом флокаліну рівень натріємії та фільтраційне завантаження нефрону іонами натрію не змінювались, а концентрація іонів натрію в сечі зростала на 20% і 30% при збільшенні дози. Відносна реабсорбція катіону зменшувалась після введення флокаліну в дозі 10 мг/кг. Показник співвідношення концентрації іонів натрію до концентрації іонів калію в сечі збільшувався на 75%.

За умов відсутності статистично значимих змін транстубулярного транспорту іонів натрію, мала місце активація натрійуретичної реакції нирок після введення більшої дози флокаліну. Стандартизований за КФ натрійурез під впливом дози 5 мг/кг зростав на 6%, а після введення більшої дози – на 66,7% і різниця між групами порівняння становила 52,6%.

Встановлена пряма кореляційна залежність ШКФ з проксимальною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,98$ ,  $p<0,001$ ) і ШКФ з абсолютною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,979$ ,  $p<0,001$ ) після введення дози 5 мг/кг, а також аналогічні кореляційні взаємозв'язки під впливом більшої дози (відповідно:  $r=0,998$ ,  $p<0,001$  та  $r=0,998$ ,  $p<0,001$ ), що вказувало на збереження клубочково-каналцевого балансу і регуляторних можливостей нирок щодо натрієвого обміну.

### **3.1.2. Зміни показників діяльності нирок після семиденного введення флокаліну за умов водного навантаження**

Після курсового введення флокаліну протягом 7 днів на тлі 5% водної гіпергідратації діурез у щурів збільшувався лише під впливом дози 5 мг/кг – на 11,2%. В обох групах з флокаліном зростала відносна реабсорбція води. Рівень креатинінемії не змінювався, концентрація креатиніну в сечі після введення дози 10 мг/кг на 45,2% перевищувала контрольний показник і на 21,6% була більше, ніж під впливом дози 5 мг/кг, концентраційний індекс ендogenous креатиніну на тлі активації  $K_{ATF}$  каналів дозозалежно зростав на 32,9% і на 50,9% (табл. 3.3).

Таблиця 3.3

Зміни функціонального стану нирок щурів після введення 7 днів флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг             | Флокалін<br>10 мг/кг                           |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $4,01 \pm 0,156$          | $4,46 \pm 0,122$<br>$p < 0,05$  | $3,98 \pm 0,227$                               |
| Концентрація креатиніну<br>в плазмі крові, мкмоль/л | $62,5 \pm 5,00$           | $54,8 \pm 4,41$                 | $60,3 \pm 5,50$                                |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $0,62 \pm 0,014$          | $0,74 \pm 0,061$                | $0,90 \pm 0,045$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,05$ |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $2,50 \pm 0,093$          | $3,31 \pm 0,243$<br>$p < 0,01$  | $3,55 \pm 0,157$<br>$p < 0,001$                |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $349,8 \pm 2,57$          | $517,0 \pm 52,12$<br>$p < 0,05$ | $508,5 \pm 38,96$<br>$p < 0,01$                |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $10,38 \pm 0,729$         | $13,80 \pm 1,037$<br>$p < 0,05$ | $15,66 \pm 1,583$<br>$p < 0,01$                |
| Відносна реабсорбція<br>води, %                     | $89,97 \pm 0,874$         | $92,50 \pm 0,461$<br>$p < 0,05$ | $93,22 \pm 0,731$<br>$p < 0,05$                |
| Концентрація білка<br>в сечі, г/л                   | $0,002 \pm 0,0003$        | $0,002 \pm 0,0003$              | $0,002 \pm 0,0003$                             |
| Екскреція білка /100 мкл<br>КФ                      | $0,0020 \pm 0,00063$      | $0,0017 \pm 0,00036$            | $0,0016 \pm 0,00019$                           |
| pH сечі, од                                         | $7,01 \pm 0,146$          | $7,05 \pm 0,058$                | $7,25 \pm 0,022$<br>$p1 < 0,01$                |
| Амонійний коефіцієнт,<br>од                         | $2,79 \pm 0,071$          | $3,44 \pm 0,184$<br>$p < 0,01$  | $3,15 \pm 0,142$<br>$p < 0,05$                 |
| Екскреція $H^+$ /100 мкл<br>КФ                      | $1,01 \pm 0,094$          | $0,76 \pm 0,046$<br>$p < 0,05$  | $0,70 \pm 0,076$<br>$p < 0,05$                 |
| Екскреція титрованих<br>кислот/100 мкл КФ           | $3,41 \pm 0,476$          | $2,09 \pm 0,159$<br>$p < 0,05$  | $2,39 \pm 0,344$                               |

Динаміка екскреції креатиніну характеризувалась підвищенням значень на 32,4% та на 42%, відповідно до дози 5 мг/кг і 10 мг/кг. В обох групах ШКФ зростала на 45%; відносна реабсорбція води підвищувалась на 4%, екскреція білка не змінювалась.

За умов активації  $K_{ATF}$  каналів підвищувався амоніогенез з переважним збільшення амонійного коефіцієнту під впливом дози 5 мг/кг. Практично однаково зменшувалась стандартизована за КФ екскреція іонів водню, а екскреція титрованих кислот знижувалась на 38,8% лише після дози 5 мг/кг.

Дослідження іонорегулювальної функції нирок після курсового застосування флокаліну на тлі гіпергідратації організму щурів виявили, що рівень каліємії підвищувався на 34,4% і на 30,9%, відповідно до зростання доз (табл. 3.4). Концентрація іонів калію в сечі зменшувалась на 43,1% під впливом меншої дози, однак калійурез в обох групах не змінювався

Таблиця 3.4

Зміни іонорегулювальної функції нирок щурів після введення

7 днів флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов

5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                       | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг              | Флокалін<br>10 мг/кг             |
|-------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Концентрація $K^+$<br>в плазмі крові, ммоль/л   | $6,08 \pm 0,333$          | $8,17 \pm 0,611$<br>$p < 0,05$   | $7,96 \pm 0,270$<br>$p < 0,01$   |
| Концентрація $K^+$<br>в сечі, ммоль/л           | $7,33 \pm 1,055$          | $4,91 \pm 0,208$<br>$p < 0,05$   | $5,30 \pm 0,250$                 |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год               | $29,87 \pm 4,990$         | $21,89 \pm 1,222$                | $21,07 \pm 1,792$                |
| Концентрація $Na^+$<br>в плазмі крові, ммоль/л  | $121,6 \pm 1,80$          | $122,1 \pm 7,94$                 | $123,7 \pm 1,04$                 |
| Концентрація $Na^+$<br>в сечі, ммоль/л          | $0,82 \pm 0,191$          | $0,32 \pm 0,029$<br>$p < 0,05$   | $0,37 \pm 0,021$<br>$p < 0,05$   |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год              | $3,35 \pm 0,845$          | $1,39 \pm 0,082$<br>$p < 0,05$   | $1,48 \pm 0,108$                 |
| Фільтраційний заряд $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв       | $42,46 \pm 3,199$         | $62,74 \pm 5,7$<br>$p < 0,01$    | $62,90 \pm 4,82$<br>$p < 0,01$   |
| Екскреторна фракція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв       | $0,028 \pm 0,0070$        | $0,011 \pm 0,0007$<br>$p < 0,05$ | $0,012 \pm 0,0009$<br>$p < 0,05$ |
| Абсолютна реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв     | $42,44 \pm 3,201$         | $62,72 \pm 5,374$<br>$p < 0,01$  | $62,89 \pm 4,825$<br>$p < 0,01$  |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ ,<br>%              | $99,93 \pm 0,016$         | $99,98 \pm 0,002$<br>$p < 0,05$  | $99,98 \pm 0,002$<br>$p < 0,05$  |
| Концентрація $Na^+/K^+$ в сечі,<br>од           | $0,11 \pm 0,019$          | $0,06 \pm 0,006$<br>$p < 0,05$   | $0,07 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$   |
| Проксимальний транспорт<br>$Na^+$ , ммоль/2 год | $4,61 \pm 0,366$          | $7,00 \pm 0,640$<br>$p < 0,01$   | $7,06 \pm 0,585$<br>$p < 0,01$   |
| Дистальний транспорт $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год   | $485,1 \pm 24,10$         | $542,7 \pm 13,47$<br>$p < 0,05$  | $489,9 \pm 26,22$                |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/100 мкл КФ         | $0,97 \pm 0,224$          | $0,28 \pm 0,035$<br>$p < 0,05$   | $0,30 \pm 0,033$<br>$p < 0,05$   |

Порівняльний аналіз стану натрієвого обміну не виявив особливих відмінностей між групами щурів, яким вводили флокалін. У порівнянні з

контролем рівень натріємії не змінювався. З однаковою інтенсивністю (на 48%) в обох групах зростали фільтраційний заряд, абсолютна та відносна реабсорбції катіону. Мав місце прямий кореляційний взаємозв'язок ШКФ з проксимальною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,98$ ,  $p<0,001$ ) і з його абсолютною реабсорбцією ( $r=0,979$ ,  $p<0,001$ ) після введення дози 5 мг/кг, а також і під впливом більшої дози (відповідно:  $r=0,998$ ,  $p<0,001$  та  $r=0,998$ ,  $p<0,001$ ). Екскреторна фракція іонів натрію зменшувалась на 60,8% і 51,2%, відповідно до збільшення введених доз. Під впливом дози 5 мг/кг зниження концентрації іонів натрію в сечі становило 61% (після введення дози 10 мг/кг – 45%) і натрійурез зменшувався на 58,6%. Зміни транстубулярного транспорту іонів натрію характеризувались посиленням проксимальної реабсорбції: різниці між вихідним рівнем і значеннями після введення флокаліну становили 50%. Дистальна реабсорбція іонів натрію зростала на 11,9% під впливом дози 5 мг/кг. Перерахунок показників на 100 мкл КФ показав зниження дистальної реабсорбції після введення обох доз.

### **3.2. Вплив флокаліну на функціональний стан нирок за умов сольового навантаження**

За умов сольового навантаження гомеостатичні реакції реалізуються нейрогормональними механізмам забезпечення виведення осмотичних речовин з організму. Екскреція іонів і води відбувається на тлі зниженої концентрації альдостерону в крові та підвищеної активності вазопресину. Співставлення показників після навантаження організму водою і 0,45% розчином NaCl дозволяє виявити впливи потенційних нефропротекторів залежно від стану гуморальних регуляторів водно-електролітного балансу.

#### **3.2.1. Зміни показників діяльності нирок після разового введення флокаліну за умов сольового навантаження**

Діурез після разового введення флокаліну на тлі сольової гфпергідратації не змінювався (див. табл. 3.5).

Таблиця 3.5

Зміни функціонального стану нирок щурів після разового введення  
флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 3% навантаження  
0,45% розчином натрію хлориду ( $\bar{x} \pm S_x$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг              | Флокалін<br>10 мг/кг                             |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|--------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $3,00 \pm 0,001$          | $3,00 \pm 0,004$                 | $3,00 \pm 0,004$                                 |
| Концентрація креатиніну<br>в плазмі крові, мкмоль/л | $46,66 \pm 1,111$         | $60,00 \pm 5,833$<br>$p < 0,005$ | $66,66 \pm 5,000$<br>$p < 0,01$                  |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $1,34 \pm 0,043$          | $1,26 \pm 0,013$                 | $1,08 \pm 0,036$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$    |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $4,03 \pm 0,131$          | $3,78 \pm 0,040$                 | $3,26 \pm 0,108$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$    |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $723,1 \pm 37,86$         | $572,4 \pm 67,36$                | $423,0 \pm 43,53$<br>$p < 0,001$                 |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од.           | $28,92 \pm 1,514$         | $22,89 \pm 2,694$                | $16,95 \pm 1,740$<br>$p < 0,001$                 |
| Відносна реабсорбція води,<br>%                     | $96,50 \pm 0,170$         | $95,23 \pm 0,465$<br>$p < 0,05$  | $93,78 \pm 0,641$<br>$p < 0,01$                  |
| Концентрація білка в сечі,<br>г/л                   | $0,020 \pm 0,0002$        | $0,009 \pm 0,0011$<br>$p < 0,01$ | $0,004 \pm 0,0006$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,01$ |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,06 \pm 0,007$          | $0,03 \pm 0,003$<br>$p < 0,01$   | $0,01 \pm 0,002$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,01$   |
| рН сечі,<br>од                                      | $6,31 \pm 0,108$          | $6,58 \pm 0,171$                 | $6,72 \pm 0,190$                                 |
| Екскреція $H^+$ /100 мкл КФ                         | $0,34 \pm 0,017$          | $0,47 \pm 0,045$<br>$p < 0,05$   | $0,61 \pm 0,072$<br>$p < 0,01$                   |
| Екскреція $NH_3^+$ /100 мкл<br>КФ                   | $12,69 \pm 2,138$         | $10,77 \pm 1,570$                | $20,37 \pm 1,770$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$   |
| Амонійний коефіцієнт,<br>од                         | $1,65 \pm 0,104$          | $1,90 \pm 0,334$                 | $2,60 \pm 0,412$<br>$p < 0,05$                   |

Концентрація креатиніну в плазмі крові дозозалежно зростала на 28,6% і 42,8%. Під впливом дози 10 мг/кг зменшення вмісту креатиніну в сечі відносно контролю становило 19,4%, що спричинило падіння на 41,5% концентраційного індексу ендogenous креатиніну. Вказані зміни відобразились зниженням на 41,5% ШКФ і екскреторної функції нирок. У цій



групі щурів екскреція креатиніну знижувалась на 19,2% у порівнянні з контролем і на 14,3% – у порівнянні з ефектом меншої дози.

Після введення флокаліну в дозі 5 мг/кг реакція клубочкового сектору нефрону не була статистично значимою, що зумовило менш виражене зниження реабсорбції води. Порівняно з інтактними щурами, відносна канальцева реабсорбція води знижувалась на 1,3% і на 2,7%, відповідно до дії доз 5 мг/кг і 10 мг/кг. Під впливом флокаліну на тлі сольового навантаження зменшувалось виділення білка нирками. Після введення дози 5 мг/кг концентрація білка в сечі знижувалась на 65%. При застосуванні дози 10 мг/кг цей показник був на 80% менший, ніж у контролі та на 63,6% нижчим, ніж після меншої дози флокаліну. Відносно значення у інтактних щурів, екскреція білка дозозалежно зменшувалась на 50% і 83,4%.

Активація  $K_{ATP}$  каналів за умов осмотичного діурезу не впливала на значення рН сечі (див. табл. 3.5), разом з тим, після введення дози 10 мг/кг зростав амоніогенез, що підтверджувалось збільшенням на 57,5% амонійного коефіцієнта. Мала місце пряма залежність інтенсивності виділення вільних іонів водню від рівня концентрації флокаліну в крові. Перерахунок за КФ показав збільшення екскреції іонів водню на 38,2% і 79,4%, відповідно до динаміки зростання доз. Екскреція амонійних солей зростала лише після введення дози 10 мг/кг – на 60,5%.

Результати дослідження змін вмісту основних осмотично активних катіонів показали, що після активації  $K_{ATP}$  каналів каліємія дозозалежно зростала на 23,3% та 36%. У всіх досліджуваних щурів майже на 50% підвищувалась концентрація іонів калію в сечі та збільшувалась екскреція цього катіону з сечею. Зменшувалось фільтраційне завантаження нефрону іонами натрію відповідно до зниженої тенденції показника ШКФ. Фільтраційний заряд іонів натрію по мірі збільшення дози флокаліну був нижче за контрольний показник на 22,3% і на 42,5%. В групах з флокаліном практично однаково (в 3,6 і в 3,5 разу) зменшувались концентрація іонів натрію в сечі і натрійурез; знижувалось у 7 разів співвідношення іонів натрію

та калію в сечі; на 73% зменшувався кліренс іонів натрію та в рівній мірі зростав кліренс безнатрієвої води (табл. 3.6).

Таблиця 3.6

Зміни іонорегулювальної функції нирок щурів після разового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 3% навантаження 0,45% розчином натрію хлориду ( $\bar{x} \pm S_x$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                          | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг                              | Флокалін<br>10 мг/кг                            |
|----------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в плазмі крові, ммоль/л         | $4,96 \pm 0,069$          | $6,12 \pm 0,250$<br>$p < 0,01$                   | $6,75 \pm 0,166$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 < 0,05$ |
| Концентрація $K^+$ в сечі, ммоль/л                 | $18,33 \pm 1,944$         | $35,58 \pm 6,361$<br>$p < 0,05$                  | $34,91 \pm 5,375$<br>$p < 0,05$                 |
| Екскреція $K^+$ , мкмоль /2 год                    | $25,00 \pm 5,833$         | $56,75 \pm 19,083$<br>$p < 0,05$                 | $54,75 \pm 16,125$<br>$p < 0,05$                |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі крові, ммоль/л        | $127,9 \pm 1,94$          | $126,6 \pm 2,36$                                 | $125,8 \pm 0,97$                                |
| Концентрація $Na^+$ в сечі, ммоль/л                | $1,34 \pm 0,094$          | $0,36 \pm 0,027$<br>$p < 0,001$                  | $0,38 \pm 0,030$<br>$p < 0,001$                 |
| Екскреція $Na^+$ , мкмоль/2 год                    | $4,02 \pm 0,283$          | $1,10 \pm 0,083$<br>$p < 0,001$                  | $1,15 \pm 0,092$<br>$p < 0,001$                 |
| Фільтраційний заряд $Na^+$ , мкмоль/хв             | $92,62 \pm 5,685$         | $72,05 \pm 7,767$<br>$p < 0,05$                  | $53,28 \pm 5,475$<br>$p < 0,001$                |
| Абсолютна реабсорбція $Na^+$ , мкмоль/хв           | $92,59 \pm 5,696$         | $72,00 \pm 7,767$<br>$p < 0,05$                  | $53,27 \pm 5,475$<br>$p < 0,001$                |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ , %                    | $99,96 \pm 0,003$         | $99,99 \pm 0,001$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 < 0,05$ | $99,98 \pm 0,002$<br>$p < 0,001$                |
| Концентрація $Na^+/K^+$ в сечі, од                 | $0,07 \pm 0,007$          | $0,01 \pm 0,002$<br>$p < 0,001$                  | $0,01 \pm 0,002$<br>$p < 0,001$                 |
| Кліренс $Na^+$ , мл/2 год                          | $0,031 \pm 0,0023$        | $0,008 \pm 0,0006$<br>$p < 0,001$                | $0,009 \pm 0,0007$<br>$p < 0,001$               |
| Кліренс безнатрієвої води, мл/2 год                | $2,96 \pm 0,002$          | $2,99 \pm 0,001$<br>$p < 0,001$                  | $2,99 \pm 0,001$<br>$p < 0,001$                 |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ , ммоль/2 год       | $10,73 \pm 0,676$         | $8,26 \pm 0,936$<br>$p < 0,05$                   | $6,01 \pm 0,657$<br>$p < 0,001$                 |
| Дистальний транспорт $Na^+$ , мкмоль/2 год         | $379,72 \pm 6,000$        | $387,90 \pm 7,075$                               | $376,35 \pm 2,950$                              |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ , мкмоль/100 мкл КФ | $12,34 \pm 0,201$         | $12,05 \pm 0,189$                                | $11,80 \pm 0,101$<br>$p < 0,05$                 |
| Дистальний транспорт $Na^+$ , мкмоль/100 мкл КФ    | $0,44 \pm 0,02$           | $0,60 \pm 0,068$<br>$p < 0,05$                   | $0,78 \pm 0,080$<br>$p < 0,01$                  |
| Екскреція $Na^+$ , мкмоль/100 мкл КФ               | $0,56 \pm 0,042$          | $0,20 \pm 0,020$<br>$p < 0,001$                  | $0,28 \pm 0,038$<br>$p < 0,001$                 |

Аналіз каналцевого транспорту іонів натрію показав дозозалежне зниження на 23,1% та на 44% проксимальної реабсорбції. На аналогічні величини зменшувався показник абсолютної реабсорбції іонів натрію. Відносна реабсорбція катіону підвищувалась. При цьому під впливом дози 5 мг/кг цей показник перевищував як контрольний рівень, так і значення після введення більшої дози флокаліну. Стандартизовані за КФ показники засвідчили пригнічення на 4,4% проксимальної реабсорбції іонів натрію після введення дози 10 мг/кг (див. табл. 3.6). Однак, статистичний аналіз показав позитивний кореляційний зв'язок між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після введення дози 5 мг/кг ( $r=0,995$ ,  $p<0,001$ ) і 10 мг/кг ( $r=0,999$ ,  $p<0,001$ ). Також було встановлено прямі кореляційні зв'язки між ШКФ і абсолютною реабсорбцією іонів натрію під впливом дози 5 мг/кг ( $r=0,997$ ,  $p<0,0001$ ) і 10 мг/кг ( $r=0,998$ ,  $p<0,0001$ ). Дистальний транспорт іонів натрію збільшувався на 36,3% та на 34,6% при зростанні дози. Екскреція іонів натрію дозозалежно зменшувалась на 64,3% і та на 50%.

### **3.2.2. Зміни показників діяльності нирок після семиденного введення флокаліну за умов сольового навантаження**

Результати досліджень показали, що за умов сольового навантаження після введення 7 днів флокаліну діурез збільшувався на 43,5% і на 8,2% після застосування доз 5 мг/кг і 10 мг/кг, інтенсивність зниження відносної реабсорбції води відповідала динаміці змін діурезу. Концентрація креатиніну в плазмі крові під впливом меншої дози підвищувалась на 36,8%. При збільшенні дози зменшувалась креатинінемія. Однак і в цьому випадку показник на 23,3% був більшим за контрольне значення. Концентрація креатиніну в сечі зменшувалась на 7% лише після введення дози 10 мг/кг. Концентрація креатиніну в плазмі крові під впливом меншої дози підвищувалась на 36,8%. При збільшенні дози зменшувалась креатинінемія. Однак і в цьому випадку показник на 23,3% був більшим за контрольне значення (табл. 3.7).

Таблиця 3.7

Зміни функціонального стану нирок щурів після введення 7 днів флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 3% навантаження 0,45% розчином натрію хлориду ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг             | Флокалін<br>10 мг/кг                          |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $1,47 \pm 0,138$          | $2,11 \pm 0,136$<br>$p < 0,01$  | $1,59 \pm 0,056$<br>$p1 < 0,01$               |
| Концентрація креатиніну<br>в плазмі крові, мкмоль/л | $39,60 \pm 1,920$         | $54,17 \pm 4,416$<br>$p < 0,01$ | $48,83 \pm 1,440$<br>$p < 0,01$               |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $0,99 \pm 0,012$          | $0,96 \pm 0,016$                | $0,92 \pm 0,014$<br>$p < 0,01$                |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $1,54 \pm 0,134$          | $2,02 \pm 0,137$<br>$p < 0,05$  | $1,47 \pm 0,061$<br>$p1 < 0,01$               |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $317,6 \pm 40,22$         | $327,7 \pm 44,88$               | $253,1 \pm 17,27$                             |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $25,48 \pm 1,730$         | $18,34 \pm 1,606$<br>$p < 0,01$ | $18,96 \pm 0,695$<br>$p < 0,01$               |
| Відносна реабсорбція води,<br>%                     | $95,98 \pm 0,217$         | $94,33 \pm 0,491$<br>$p < 0,01$ | $94,68 \pm 0,195$<br>$p < 0,001$              |
| Концентрація білка в сечі, г/л                      | $0,003 \pm 0,0005$        | $0,002 \pm 0,0003$              | $0,001 \pm 0,0003$                            |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,004 \pm 0,0008$        | $0,004 \pm 0,0005$              | $0,002 \pm 0,0005$                            |
| pH сечі, од                                         | $6,36 \pm 0,106$          | $7,00 \pm 0,141$<br>$p < 0,01$  | $7,25 \pm 0,129$<br>$p < 0,001$               |
| Екскреція титрованих кислот,<br>мкмоль/2 год        | $26,95 \pm 3,670$         | $15,15 \pm 2,915$<br>$p < 0,05$ | $20,66 \pm 2,449$<br>$p < 0,01$               |
| Концентрація $H^+$ в сечі,<br>мкмоль/л              | $0,80 \pm 0,007$          | $0,84 \pm 0,008$<br>$p < 0,01$  | $0,86 \pm 0,007$<br>$p < 0,001$               |
| Екскреція $H^+$ ,<br>нмоль/2 год                    | $1,18 \pm 0,106$          | $1,78 \pm 0,099$<br>$p < 0,01$  | $1,37 \pm 0,056$<br>$p < 0,01$                |
| Екскреція $H^+$ /100 мкл КФ                         | $1,38 \pm 0,022$          | $0,57 \pm 0,056$<br>$p < 0,05$  | $0,55 \pm 0,017$<br>$p < 0,05$                |
| Екскреція амонійних солей,<br>мкмоль/2 год          | $40,03 \pm 5,591$         | $15,15 \pm 2,915$<br>$p < 0,05$ | $20,66 \pm 2,450$<br>$p < 0,05$               |
| Екскреція амонійних солей,<br>мкмоль/100 мкл КФ     | $12,99 \pm 1,371$         | $4,48 \pm 0,333$<br>$p < 0,05$  | $8,57 \pm 1,422$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ |
| Амонійний коефіцієнт, од                            | $1,52 \pm 0,110$          | $1,00 \pm 0,001$<br>$p < 0,01$  | $2,93 \pm 0,102$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$ |

Концентрація креатиніну в сечі зменшувалась на 7% лише після введення дози 10 мг/кг. Зниження концентраційного індексу креатиніну становило 28,1% і 25,6% у відповідності до введених доз. Разом з тим,

екскреція креатиніну зростала на 31,2 % під впливом дози 5 мг/кг і знижувалась на 4,6% після застосування дози 10 мг/кг. Виявлений факт, що екскреція креатиніну позитивно корелювала з ШКФ після введення меншої ( $r=0,889$ ,  $p<0,05$ ) та більшої дози ( $r=0,958$ ,  $p<0,01$ ) підтверджував нормальний стан екскреторної функції нирок. Зберігався нормальний рівень клубочкових процесів. Не втрачався білок з сечею, що підтверджували практично незмінні значення концентрації білка в сечі та протеїнурії.

Показники кислоторегулювальної функції нирок характеризувались дозозалежним збільшенням рН сечі під впливом флокаліну (див. табл. 3.7). Екскреція титрованих кислот зменшувалась на 43,8% і на 23,3% відповідно до введення доз 5мг/кг і 10 мг/кг. В обох досліджуваних групах на 5% підвищувалась концентрація вільних іонів водню в сечі, а екскреція протону збільшувалась на 50,8% і 16,1% згідно послідовності зростання доз.

Дослідження іонорегулювальної функції нирок виявили, що після введення 7 днів флокаліну на тлі сольового навантаження організму щурів збільшувалось виділення іонів натрію та калію з сечею за відсутності змін вмісту вказаних осмотично активних електролітів у плазмі крові (табл. 3.8).

Таблиця 3.8

Зміни іонорегулювальної функції нирок щурів після семиденного введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 3% навантаження 0,45% розчином натрію хлориду ( $\bar{x} \pm S_x$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                  | Контроль<br>інтактні щури | Флокалін<br>5 мг/кг             | Флокалін<br>10 мг/кг                          |
|--------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1                                          | 2                         | 3                               | 4                                             |
| Концентрація $K^+$ в плазмі крові, ммоль/л | $4,95 \pm 0,130$          | $4,75 \pm 0,083$                | $4,87 \pm 0,145$                              |
| Концентрація $K^+$ в сечі, ммоль/л         | $11,00 \pm 0,900$         | $16,50 \pm 2,330$<br>$p < 0,01$ | $13,16 \pm 0,666$                             |
| Екскреція $K^+$ , мкмоль/2 год             | $15,70 \pm 0,882$         | $36,48 \pm 6,324$<br>$p < 0,01$ | $20,93 \pm 1,248$<br>$p < 0,01$<br>$p < 0,05$ |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі, ммоль/л      | $125,0 \pm 1,000$         | $127,5 \pm 2,08$                | $126,2 \pm 1,25$                              |
| Концентрація $Na^+$ в сечі, ммоль/л        | $0,42 \pm 0,022$          | $0,52 \pm 0,033$<br>$p < 0,05$  | $0,56 \pm 0,036$<br>$p < 0,01$                |

Продовження табл. 3.8

| 1                                                         | 2                   | 3                                 | 4                                 |
|-----------------------------------------------------------|---------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Екскреція $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/2 год                 | $0,61 \pm 0,056$    | $1,12 \pm 0,119$<br>$p < 0,01$    | $0,90 \pm 0,068$<br>$p < 0,01$    |
| Фільтраційний заряд $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/хв          | $40,01 \pm 5,41$    | $41,83 \pm 5,855$                 | $31,97 \pm 2,287$                 |
| Відносна реабсорбція $\text{Na}^+$ ,<br>%                 | $99,98 \pm 0,001$   | $99,97 \pm 0,001$<br>$p < 0,001$  | $99,97 \pm 0,001$<br>$p < 0,01$   |
| Концентрація $\text{Na}^+/\text{K}^+$<br>в сечі, од       | $0,03 \pm 0,002$    | $0,03 \pm 0,005$                  | $0,04 \pm 0,002$                  |
| Кліренс $\text{Na}^+$ ,<br>мл/2 год                       | $0,005 \pm 0,0004$  | $0,008 \pm 0,0009$<br>$p < 0,01$  | $0,007 \pm 0,0005$<br>$p < 0,01$  |
| Кліренс безнатрієвої води,<br>мл/2 год                    | $1,46 \pm 0,138$    | $2,11 \pm 0,135$<br>$p < 0,01$    | $1,58 \pm 0,564$<br>$p1 < 0,01$   |
| Проксимальний транспорт<br>$\text{Na}^+$ , ммоль/2 год    | $4,61 \pm 0,633$    | $4,74 \pm 0,687$                  | $3,63 \pm 0,267$                  |
| Дистальний транспорт $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/2 год      | $183,98 \pm 18,609$ | $269,70 \pm 18,856$<br>$p < 0,01$ | $200,61 \pm 7,359$<br>$p1 < 0,01$ |
| Дистальний транспорт $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/100 мкл КФ | $0,49 \pm 0,024$    | $0,72 \pm 0,060$<br>$p < 0,01$    | $0,66 \pm 0,026$<br>$p < 0,001$   |
| Екскреція $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/100 мкл КФ            | $0,20 \pm 0,018$    | $0,34 \pm 0,013$<br>$p < 0,001$   | $0,36 \pm 0,027$<br>$p < 0,001$   |

Концентрація іонів калію в сечі під впливом меншої дози зростала на 50%, а екскреція катіону підвищувалась на 132,3%. У порівнянні з цією групою калійурез після введення дози 10 мг/кг був нижчий на 42,6%, однак був вищий за значення у інтактних щурів на 33,3%

Після застосування флокаліну фільтраційний заряд іонів натрію не змінювався. На тлі зменшення завантаження каналців іонами натрію відносна реабсорбція катіону рівнозначно зменшувалась в обох групах. Концентрація іонів натрію в сечі дозозалежно зростала на 23,8% та 33,3%. Екскреція іонів натрію підвищувалась на 83,6% після дози 5 мг/кг, тоді як збільшення дози спричинило підвищення двохгодинного натрійурезу на 47,5%. Кліренс іонів натрію зостав практично однаково в обох групах. Під впливом дози 5 мг/кг екскреція вільної від катіону води була на 44,5% більшою, ніж у контролі та на 33,5% перевищувала значення після ведення дози 10 мг/кг.

Дослідження функціональних змін каналцевого відділу нефрону не виявили статистично значимих відмінностей проксимальної реабсорбції іонів

натрію під впливом флокаліну. 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 ( $r=0,995$ ,  $p<0,001$ ). Дистальний транспорт катіону після введення дози 5 мг/кг зростав на 46,9%, порівняно з інтактними щурами, і на 25,6% – у співставленні зі значенням другої досліджуваної групи. Стандартизація показників за КФ засвідчила зниження дистальної реабсорбції іонів натрію на 46,9% і на 34,6%, а також збільшення екскреції катіону на 70% і 80%, відповідно до введення доз 5 мг/кг і 10 мг/кг.

Отже, результати досліджень показали, що під впливом активатора  $K_{ATF}$  каналів флокаліну змінюються показники основних ниркових (волюмо-, іоно-, осмо-, кислоторегулювальної) функцій, спрямованих на підтримку водно-сольового балансу. За фізіологічних умов, наявність міцно взаємопов'язаних гомеостатичних механізмів дає можливість організму точно співвідносити інтенсивність надходження в організм і виведення нирками солей та рідини. У зв'язку з цим, навіть за умов гіпонатрієвої дієти, індукція діурезу водою та сольовими розчинами призводить до суттєвих відмінностей у функціональному стані нефроцитів [86]. Саме тому, в інтактних щурів після введення флокаліну спостерігались залежні від модуляції типу сечоутворення кількісні відмінності діурезу, екскреції осмотично активних іонів натрію і калію. Виходячи з характеру ренальних відповідей, можна вважати, що флокалін за умов водного та сольового навантажень не порушував роботу клубочкового апарату та каналцевих транспортних систем. Разом із тим, узагальнений аналіз результатів дозволяє припустити, що флокалін здатний впливати на діяльність нирок на тлі патологічних зрушень об'єму та складу позаклітинної рідини.

Нирки відрізняє наявність як швидкодіючих механізмів виведення з організму будь-якої чужорідної (в тому ж числі і лікарської) сполуки, так і низки адаптивно-компенсаторних функціональних перебудов при тривалих фармакологічних впливах на нейрогуморальну регуляцію. У зв'язку з цим, ренальні ефекти залежали від кратності введення відкривача  $K_{ATF}$  каналів.

Флокаліну притаманна виражена вазодилатуюча дія, і, швидше за все, відповідні функціональні реакції організму на перше введення потужних судинорозширювальних засобів. Відповідно до стану гемодинаміки, після разового і семиденного введення флокаліну у щурів змінювалась діяльність нирок, що відображали досліджувані показники. В зв'язку з цим можна передбачити неодноманітні ренальні впливи після разового і семиденного введення флокаліну щурам з моделями нефрологічної патології.

Після введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов водного і сольового навантаження показники функціонального стану нирок характеризувались однонаправленими змінами переважно без статистично значимих дозозалежних відмінностей. Порівняльний аналіз показників функцій нирок під впливом різних доз флокаліну був також проведений за допомогою статистичного тесту Манна-Уїтні, і значення непараметричного U-критерію були недостовірні. Враховуючи думку інших науковців про небезпечність дозозалежного зниження системного АТ під впливом флокаліну, а також більшої ефективності менших доз в експериментальній кардіопротекції [167], ми вважали доцільним застосовувати в подальших експериментальних дослідженнях флокалін у дозі 5 мг/кг.



## РОЗДІЛ 4

### РОЛЬ РЕНІН-АНГІОТЕНЗИН-АЛЬДОСТЕРОНОВОЇ СИСТЕМИ В РЕНАЛЬНИХ ЕФЕКТАХ ФЛОКАЛІНУ ТА ДИЛТІАЗЕМУ

Ключовим елементом нейрогуморальної регуляції водно-сольового балансу є РААС – багатокомпонентна (ензимо-гормональна) фізіологічна система, яка здатна забезпечувати швидкі та тривалі адаптативні реакції нирок у відповідь на численні зміни гомеостазу. Клінічне значення РААС зумовлене, насамперед, важливою роллю її перманентної гіперактивації у виникненні та розвитку кардіовазоренальних дисфункцій. Циркулююча та локальна (тканинна) РААС беруть участь у регуляції тонусу судин, АТ, внутрішньогломерулярного тиску та пористості клубочкового фільтру, реабсорбції осмотично активних електролітів, продукції амонію, синтезу мезангіального матриксу, колагену. За сучасними уявленнями, основну роль як у процесах адаптації серця до гемодинамічних перевантажень або первинного пошкодження серцевого м'яза, так і у формуванні характерних для серцевої недостатності змін відіграє активація декількох нейроендокринних систем, найважливішою з яких є РААС. Все це обґрунтовує провідні позиції РААС серед патогенетичних ланцюгів прогресування взаємозалежної патології серця, судин і нирок, та, відповідно, серед «терапевтичних мішеней» у нефрологічних хворих [62, 111, 119].

Медикаментозна корекція ефектів РААС, що індукують початок і хронізацію патології нирок, досягається переважно шляхом використання ІАПФ і БРА, які безпосередньо блокують внутрішньонирковий синтез Анг II та забезпечують несприйнятливність рецепторів до цього гормону. Суттєвим доповненням терапевтичного спектру нефропротекторів з іншими механізмами дії є посилення впливів антагоністу вазоконстрикторів – NO. Факти наявності як взаємозв'язку між станом калієвих іонних каналів з активністю потужного вазодилататора NO [81], так і впливів флокаліну на вміст NO дозволяють припустити зміни діяльності нирок на тлі їх

комбінованого застосування [170]. Крім того, такий методичний підхід дозволить з'ясувати роль РААС у ренальних механізмах досліджуваних модуляторів іонних каналів. Таким чином, аналіз непрямих показників активності РААС, як і оцінка діяльності нирок на тлі зниження ангіотензинових впливів, після введення модуляторів іонних каналів дадуть змогу ідентифікувати їх механізми та оцінити перспективність комбінування нового АКК флокаліну з фармакологічними блокаторами активності РААС.

#### **4.1. Роль ренін-ангіотензин-альдостеронової системи в ренальних ефектах флокаліну**

Потужна вазодилатація, зменшення системного АТ – встановлені ефекти флокаліну [82], механізми яких завжди сполучені з активацією нейрогуморальної системи з судинорозширювальною і з натрійвидільною активністю. Характеристику стану вазоконстрикторних систем з натрійзатримувальною дією (до яких відноситься РААС), наряду з показниками клубочкових і транспортних процесів, доповнює залежне від активності альдостерону співвідношення концентрацій іонів натрію та калію в сечі (натрій-калієвий коефіцієнт). Слід ще раз зазначити, що функціональні водно/сольові навантаження дозволяють моделювати активність основних іоно-, осмо-, волюморегуляторів (альдостерон, вазопресин) і досліджувати механізми фармакологічних (також і побічних) ефектів через призму гормональних впливів. Тому значення натрій-калієвого коефіцієнту після застосування модуляторів іонних каналів аналізувались залежно від типу різного за механізмом дії індукованого водного та сольового діурезу.

Отримані результати, свідчили що за умов 5% водного навантаження після разової активації калієвих каналів флокаліном зростання натрій-калієвого коефіцієнту було статистично значущим під впливом більшої дози (10 мг/кг), і різниця у порівнянні з інтактними щурами становила 75%. Після застосування флокаліну 7 днів спостерігалась протилежна тенденція змін. Так,

практично без дозозалежних відмінностей, співвідношення концентрацій в сечі осмотично активних катіонів зменшувалось на 45% (табл. 4.1).

Таблиця 4.1

Співвідношення концентрацій іонів натрію та калію в сечі щурів після введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов водно-сольових навантажень ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Разове введення флокаліну                  |                           |                           | Семикратне введення флокаліну |                          |                          |
|--------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|-------------------------------|--------------------------|--------------------------|
| Контроль інтактні щури                     | Флокалін 5 мг/кг          | Флокалін 10 мг/кг         | Контроль інтактні щури        | Флокалін 5 мг/кг         | Флокалін 10 мг/кг        |
| Водне навантаження, 5% від маси тіла, од   |                           |                           |                               |                          |                          |
| 0,04±0,008                                 | 0,06±0,010                | 0,07±0,003<br>$p < 0,05$  | 0,11±0,019                    | 0,06±0,006<br>$p < 0,05$ | 0,07±0,002<br>$p < 0,05$ |
| Сольове навантаження, 3% від маси тіла, од |                           |                           |                               |                          |                          |
| 0,07±0,007                                 | 0,01±0,002<br>$p < 0,001$ | 0,01±0,002<br>$p < 0,001$ | 0,04±0,002                    | 0,03±0,005               | 0,04±0,002               |

Примітка:  $p$  – достовірність різниць порівняно з контрольною групою.

Разове введення флокаліну щурам на тлі 3% сольового навантаження призвело до семикратного зниження натрій-калієвого коефіцієнту (див. табл. 4.1). Однак, цей показник не відрізнявся від контрольних значень після збільшення об'єму позаклітинної рідини 0,45% NaCl у щурів, яким сім днів вводили активатор  $K_{ATF}$  каналів.

Отже, під впливом АКК величина співвідношення концентрацій іонів натрію та калію в сечі різнилась залежно від кратності введення флокаліну та типу індукованого діурезу без наявності виражених дозозалежних відмінностей. У той же час варіабільність непрямого показника активності РААС після застосування флокаліну за умов фізіологічних водно-сольових навантажень слугували підґрунтям для подальшого встановлення ролі ангіотензинових ланцюгів у механізмах дії фторвмісного АКК.

Наступним етапом дослідження стало вивчення змін діяльності нирок після поєднаного застосування флокаліну з ІАПФ еналаприлом та аналіз основних гомеостатичних процесів нирок під впливом активатора  $K_{ATP}$  каналів за умов блокади РААС.

Відомо, що рівень Анг II в організмі під час чи після застосування ІАПФ є достатньо нестабільним і залежить від тривалості введення вазоактивних лікарських засобів такого механізму дії. Разом з тим, порівняльна оцінка фармакодинаміки за однакових умов активності Анг II – основного ефектору РААС, може дозволити встановити роль цієї нейрогуморальної системи в ренальних ефектах досліджуваних сполук.

Варто зауважити, що останнім часом в експериментальній та практичній медицині домінує тенденція поєднувати більш успішні, з метаболічної точки зору, представники різних фармакологічних класів з вираженими органопротективними властивостями. Особливо важливим є оцінка ефективності при поєднаному призначенні ліків у кардіо- та нефропротекції. В зв'язку з цим, зіставлення показників функцій нирок після введення лише еналаприлу з результатами застосування кардіопротектора флокаліну на тлі пригнічення еналаприлом синтезу Анг II є також актуальним для вибору комбінованої терапії нефрологічної патології у клінічній практиці.

Функціональний стан нирок на сьомий день введення еналаприлу в дозі 1 мг/кг характеризувався збільшенням ШКФ на 174%, зменшенням відносної реабсорбції води, активацією екскреторної функції нирок, зниженням екскреції білка при перерахунку показника на 100 мкл КФ без змін двохгодинної протеїнурії. За рахунок активації фільтраційних процесів рівень креатиніну в плазмі крові зменшувався на 27,4%, концентрація креатиніну в сечі зростала на 91,3%, концентраційний індекс ендogenous креатиніну збільшувався в 2,6 разу, а його екскреція збільшувалась удвічі. Відсутність змін діурезу після введення препарату було зумовлено значним завантаженням нефрону первинною сечею та збільшенням реабсорбції води,

переважно в проксимальному відділі нефрону, за механізмом клубочково-канальцевого балансу (табл. 4.2).

Таблиця 4.2

Показники функцій нирок у щурів після введення еналаприлу 7 днів  
у дозі 1 мг/кг за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури | Еналаприл                        |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $3,1 \pm 0,05$            | $3,2 \pm 0,05$                   |
| Концентрація креатиніну в<br>плазмі крові, мкмоль/л | $85,6 \pm 1,20$           | $62,2 \pm 1,38$<br>$p < 0,001$   |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $1,04 \pm 0,041$          | $1,99 \pm 0,081$<br>$p < 0,001$  |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $12,2 \pm 0,61$           | $32,1 \pm 1,58$<br>$p < 0,001$   |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $3,3 \pm 0,87$            | $6,2 \pm 0,52$<br>$p < 0,05$     |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $311,1 \pm 15,65$         | $852,5 \pm 42,51$<br>$p < 0,001$ |
| Відносна реабсорбція<br>води, %                     | $91,71 \pm 0,401$         | $96,84 \pm 0,152$<br>$p < 0,001$ |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,05 \pm 0,006$          | $0,05 \pm 0,008$                 |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                   | $0,016 \pm 0,0013$        | $0,006 \pm 0,0010$<br>$p < 0,01$ |
| Екскреція титрованих<br>кислот, мкмоль/2 год        | $31,2 \pm 2,31$           | $38,0 \pm 2,05$<br>$p < 0,05$    |

Примітка:  $p$  – достовірність різниць порівняно з контрольною групою.

У наших дослідженнях на тлі зниження активності РААС спостерігалось збільшення виділення іонів калію нирками без змін рівня каліємії. Підвищений калійурез за умов зниженої активності мінералокортикоїдного гормону альдостерону міг бути спричинений змінами кислоторегулювальної функції нирок, на що вказувало збільшення екскреції титрованих кислот на 21,8% під впливом еналаприлу (див. табл. 4.2).

У порівнянні з інтактними щурами, на сьомий день застосування еналаприлу концентрація іонів калію в сечі зростала на 75%, екскреція іонів калію збільшувалась на 80,% (табл. 4.3).

Таблиця 4.3

Зміни транспорту електролітів у щурів після введення еналаприлу  
7 днів у дозі 1 мг/кг за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm S_x$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                            | Контроль<br>інтактні щури | Еналаприл                         |
|------------------------------------------------------|---------------------------|-----------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в сечі,<br>ммоль/л                | $3,6 \pm 0,19$            | $6,3 \pm 0,38$<br>$p < 0,01$      |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                    | $11,0 \pm 0,54$           | $19,9 \pm 1,54$<br>$p < 0,01$     |
| Концентрація $K^+$ в плазмі крові,<br>ммоль/л        | $6,6 \pm 0,27$            | $7,3 \pm 0,33$                    |
| Концентрація $Na^+$ в сечі,<br>ммоль/л               | $0,42 \pm 0,046$          | $0,87 \pm 0,062$<br>$p < 0,01$    |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год                   | $1,29 \pm 0,140$          | $2,76 \pm 0,202$<br>$p < 0,01$    |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі крові,<br>ммоль/л       | $124,5 \pm 0,93$          | $126,5 \pm 1,070$                 |
| Фільтраційна фракція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв           | $38,7 \pm 2,04$           | $107,6 \pm 5,52$<br>$p < 0,001$   |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ ,<br>%                   | $99,97 \pm 0,002$         | $99,99 \pm 0,003$<br>$p < 0,01$   |
| Концентрація $Na^+$ в сечі/<br>в плазмі крові, од    | $0,003 \pm 0,0004$        | $0,007 \pm 0,0005$<br>$p < 0,001$ |
| Концентрація $Na^+/K^+$ в сечі,<br>од                | $0,12 \pm 0,011$          | $0,14 \pm 0,012$                  |
| Проксимальна реабсорбція $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год     | $4,3 \pm 0,24$            | $12,5 \pm 0,66$<br>$p < 0,001$    |
| Дистальна реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год       | $380,7 \pm 8,34$          | $399,3 \pm 5,96$                  |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/100 мкл КФ | $11,4 \pm 0,09$           | $12,2 \pm 0,11$<br>$p < 0,01$     |
| Дистальний транспорт $Na^+$ ,<br>мкмоль/100 мкл КФ   | $1,03 \pm 0,09$           | $0,39 \pm 0,018$<br>$p < 0,05$    |

Примітка:  $p$  – достовірність різниць порівняно з контрольною групою.

Аналіз змін транспорту іонів натрію показав (див. табл. 4.3), що після введення еналаприлу концентрація цього осмотично активного катіону в сечі підвищувалась на 107,1% і натрійурез збільшувався на 113,9%. Концентрація іонів натрію в плазмі крові не змінювалась. За рахунок підвищення ШКФ зростало фільтраційне натрієве завантаження нефрону на 178%, збільшувався на 133% коефіцієнт відношення концентрації іонів натрію в сечі до його концентрації в плазмі крові. Відносна реабсорбція іонів натрію зростала.

Встановлено, що під впливом еналаприлу на 190,7% підвищувалась реабсорбція іонів натрію в проксимальному відділі нефрону (див. табл. 4.3). Дистальний транспорт іонів натрію суттєво не відрізнявся від контрольних значень. Враховуючи взаємозв'язок реабсорбції іонів натрію з його фільтраційним зарядом, вивчались стандартизовані за ШКФ показники каналцевого транспорту катіону. При цьому проксимальна реабсорбція іонів натрію підвищувалась на 7%, однак дистальний транспорт іонів натрію в нефронах зменшувався на 62,2%, що і відображалось посиленням натрійурезу.

Таким чином, після введення 7 днів еналаприлу виявлялись притаманні класу блокаторів РААС функціональні нефротропні ефекти, механізм яких опосередкований як зниженням вазоконстрикторних реакцій та впливів Анг II на лужність середовища в просвіті збірних каналців, так і пригніченням залежного від альдостерону транспорту іонів натрію.

Зміни клубочкових і каналцевих процесів дозволяли виключити в наших дослідженнях резистентність організму щурів до еналаприлу і в наступних серіях експериментів за допомогою цього представника класу ІАПФ оцінити роль РААС у ренальних механізмах флокаліну.

Зміни функціонального стану нирок щурів після застосування 7 днів активатора  $K_{ATP}$  каналів відповідали попередньо виявленим за аналогічних умов уведення ренальним ефектам флокаліну в дозі 5 мг/кг (див. розділ 3). Після поєднаного семиденного введення флокаліну та еналаприлу діурез у щурів зменшувався на 30,4%, порівняно з контролем, і на 39,5% був нижчим, ніж під впливом флокаліну. Відносна реабсорбція води під впливом обох вазоактивних сполук зростала. Концентрація креатиніну в плазмі крові не змінювалась, у сечі – збільшувалась на 119,7% у порівнянні з інтактними щурами і в 1,8 разу перевищувала значення після введення активатора  $K_{ATP}$  каналів. Співставлення з ефектами флокаліну показало, що сполучення АКК та ІАПФ призвело до збільшення концентраційного індексу ендogenous креатиніну в 1,6 разу і до зростання цього показника в 2,3 разу, порівняно з вихідним рівнем (табл. 4.4).

Таблиця 4.4

Показники функцій нирок у щурів після введення 7 днів  
флокаліну (5 мг/кг) та сполучення флокаліну з еналаприлом (1 мг/кг)  
за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури<br>n = 6 | Флокалін<br>n = 6               | Флокалін<br>та еналаприл<br>n = 12              |
|-----------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $3,3 \pm 0,15$                     | $3,8 \pm 0,13$<br>$p < 0,05$    | $2,3 \pm 0,20$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,001$    |
| Концентрація креатиніну в<br>плазмі крові, мкмоль/л | $53,8 \pm 2,68$                    | $44,5 \pm 2,31$                 | $54,5 \pm 6,75$                                 |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $0,76 \pm 0,034$                   | $0,92 \pm 0,084$                | $1,66 \pm 0,13$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,001$  |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $14,4 \pm 1,29$                    | $20,9 \pm 1,40$<br>$p < 0,01$   | $32,6 \pm 3,96$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$    |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $2,55 \pm 0,162$                   | $3,48 \pm 0,355$<br>$p < 0,05$  | $3,75 \pm 0,400$<br>$p < 0,05$                  |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $405,9 \pm 40,20$                  | $656,8 \pm 71,94$<br>$p < 0,01$ | $624,2 \pm 94,00$<br>$p < 0,05$                 |
| Відносна реабсорбція<br>води, %                     | $92,78 \pm 0,713$                  | $95,08 \pm 0,308$<br>$p < 0,05$ | $96,64 \pm 0,434$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,05$ |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,08 \pm 0,005$                   | $0,08 \pm 0,005$                | $0,11 \pm 0,007$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$   |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                   | $0,021 \pm 0,0028$                 | $0,018 \pm 0,0020$              | $0,020 \pm 0,0032$                              |

Примітка. Достовірні відмінності: p – з контрольною групою; p1 – з групою щурів, яким вводили лише флокалін.

Зберігалось підвищене флокаліном значення ШКФ і різниця, порівняно з контролем, становила 53,8%. Екскреція креатиніну у щурів збільшувалась і прямо корелювала з ШКФ ( $r=0,819$ ,  $p<0,05$ ). На тлі дії еналаприлу збільшувалась екскреція білка з сечею (на 37,5%) за умов відсутності змін стандартизованої за 100 мкл КФ протеїнурії. На тлі пригнічення активності РААС спостерігалось збільшенням на 97,5% концентрації іонів калію і на 462,5% – концентрації іонів натрію в сечі щурів (табл. 4.5).



Таблиця 4.5

Зміни транспорту електролітів у нирках щурів після введення (7 днів)  
флокаліну (5 мг/кг) та сполучення флокаліну з еналаприлом (1 мг/кг) за  
умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ )

| Показники                                            | Контроль<br>інтактні щури<br>n = 6 | Флокалін<br>n = 6               | Флокалін +<br>еналаприл<br>n = 12               |
|------------------------------------------------------|------------------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в сечі,<br>ммоль/л                | $12,2 \pm 1,08$                    | $9,4 \pm 0,44$<br>$p = 0,05$    | $24,1 \pm 4,13$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$    |
| Екскреція $K^+$ ,<br>ммоль/2 год                     | $40,5 \pm 4,90$                    | $37,7 \pm 2,02$                 | $53,4 \pm 8,54$                                 |
| Концентрація $K^+$ в плазмі крові,<br>ммоль/л        | $11,8 \pm 0,27$                    | $12,3 \pm 0,85$                 | $12,7 \pm 0,56$                                 |
| Концентрація $Na^+$ в сечі,<br>ммоль/л               | $0,24 \pm 0,024$                   | $0,16 \pm 0,052$                | $1,35 \pm 0,191$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,01$  |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі крові,<br>ммоль/л       | $140,0 \pm 3,00$                   | $153,3 \pm 9,58$                | $138,3 \pm 10,14$                               |
| Фільтраційна фракція $Na^+$ ,<br>ммоль/хв            | $56,1 \pm 4,85$                    | $100,4 \pm 13,00$<br>$p < 0,05$ | $85,9 \pm 12,62$<br>$p < 0,05$                  |
| Екскреторна фракція $Na^+$ ,<br>ммоль/хв             | $0,006 \pm 0,0007$                 | $0,009 \pm 0,0021$              | $0,027 \pm 0,0070$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ ,<br>%                   | $99,98 \pm 0,001$                  | $99,99 \pm 0,001$<br>$p < 0,05$ | $99,96 \pm 0,007$<br>$p < 0,05$                 |
| Концентрація $Na^+$ в сечі/<br>в плазмі крові, од    | $0,002 \pm 0,0002$                 | $0,001 \pm 0,0004$              | $0,010 \pm 0,001$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$  |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год      | $6,3 \pm 0,58$                     | $11,4 \pm 1,52$<br>$p < 0,05$   | $10,0 \pm 1,72$<br>$p < 0,05$                   |
| Дистальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год         | $462,8 \pm 15,54$                  | $566,0 \pm 36,57$<br>$p < 0,05$ | $308,2 \pm 31,34$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,001$ |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/100 мкл КФ | $12,9 \pm 0,19$                    | $14,6 \pm 0,69$<br>$p < 0,05$   | $13,3 \pm 0,98$                                 |
| Дистальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/100 мкл КФ    | $1,02 \pm 0,121$                   | $0,75 \pm 0,059$                | $0,46 \pm 0,072$<br>$p < 0,01$                  |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>ммоль/100 мкл КФ               | $0,20 \pm 0,015$                   | $0,15 \pm 0,016$<br>$p < 0,05$  | $0,53 \pm 0,100$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$   |

Примітка. Достовірні відмінності: p – з контрольною групою; p1 – з групою щурів, яким вводили лише флокалін.

За умов поєднання флокаліну з еналаприлом показник каліємії не змінювався. Стабільний рівень натріємії на тлі введення АКК разом з ІАПФ зумовлював підвищення в 5 разів коефіцієнта співвідношення концентрацій іонів натрію в сечі/ в плазмі крові.

Аналіз транспорту іонів натрію в нефроні показав, що після комбінування флокаліну з еналаприлом фільтраційне завантаження іонами натрію лишалось вищим за контроль, і ця різниця становила 53,1%. Відносна реабсорбція іонів натрію на тлі ІАПФ, на відміну від активуючого впливу на цей показник відкривача калієвих каналів, була нижче, ніж у контрольної групи. Екскреторна фракція іонів натрію підвищувалась у 3 рази та була в 4,5 разу більше, ніж у контрольної групи. Проксимальна реабсорбція іонів натрію зростала, і цей показник був вище, ніж у інтактних щурів на 59,5%. Були виявлені позитивні кореляційні залежності ( $p < 0,05$ ): між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію ( $r = 0,889$ ), між ШКФ і абсолютною реабсорбцією цього катіону ( $r = 0,887$ ).

Дистальна реабсорбція іонів натрію на тлі зниження активності РААС значно зменшувалась. Стандартизовані за 100 мкл КФ величини каналцевого транспорту електроліту, порівняно з контролем, характеризувались зниженням на 55% реабсорбції в дистальному сегменті нефрону та збільшенням на 165% екскреції іонів натрію. При цьому натрійурез був у 3,5 разу більшим, ніж після монотерапії флокаліном.

Отже, співставлення ренальної дії активатора  $K_{ATF}$  каналів за різних умов функціонування РААС показало неоднакову динаміку показників волюмо- та іонорегуляції при збереженні стимулювального впливу флокаліну на клубочкові процеси і екскреторну функцію нирок. На тлі гіпоактивності РААС флокалін збільшував відносну реабсорбцію води та, відповідно, не проявляв діуретичного ефекту, а за рахунок пригнічувального впливу на транстубулярний транспорт у дистальному відділі нефрону посилював екскрецію іонів натрію.

#### **4.2. Роль ренін-ангіотензин-альдостеронової системи в ренальних ефектах дилтіазему**

Впродовж тривалого часу БКК і ІАПФ з успіхом застосовуються у клініці внутрішніх хвороб. За цей період препарати стали не тільки невід'ємною частиною фармакотерапії, але й завдяки численним клінічно доведеним фактам високої ефективності є препаратами вибору при серцево-судинній та нефрологічній патології. Це зумовлено широким фармакологічним спектром обох класів і, насамперед, здатністю позитивно впливати на зміни нейрогуморальної регуляції при серцевій недостатності, стенокардії та гіпертонічній хворобі. Прогресуванню гемодинамічних зрушень сприяє погіршення ренальної перфузії внаслідок зменшення кардіального викиду чи (та) вазоконстрикція судин і, відповідно, ретенція іонів натрію та води.

Здатність впливати на діяльність нирок вигідно відрізняє БКК та ІАПФ від інших вазоактивних засобів [71, 80, 85, 97]. Тому, з огляду на вищесказане, становлять інтерес ренальні ефекти при монотерапії БКК та при спільній дії БКК з ІАПФ за умов зайвої рідини в організмі як для порівняльної оцінки ролі РААС у ефектах досліджуваних модуляторів іонних каналів, так і для розширення їх фармакодинаміки.

Отримані дані свідчать, що за умов введення препаратів в обох групах змінювалась водовидільна функція нирок. Після введення дилтіазему діурез збільшувався на 14,8%, під впливом комбінації БКК з ІАПФ діурез дещо зменшувався у порівнянні з контролем і був менше на 19,6% у порівнянні з ефектом дилтіазему. Концентрація креатиніну в плазмі крові та його концентраційний індекс не змінювались в обох групах щурів. Введення дилтіазему на тлі ІАПФ спричинило збільшення на 8,8% концентрації креатиніну в сечі відносно монотерапії БКК. Однак, екскреція креатиніну за умов комбінування ліків була на 13,3% нижче, ніж під впливом дилтіазему, тоді як БКК збільшував цей показник на 9%. Протеїнурія в групах з препаратами не змінювалась. Мали місце неоднозначні зміни ШКФ:

збільшення на 5,6% після введення дилтіазему і тенденція до зменшення при поєднанні БКК з ІАПФ. Порівняно з дією дилтіазему, під впливом обох вазоактивних препаратів ШКФ знижувалась на 13,1% (табл. 4.6).

Таблиця 4.6

Показники функцій нирок у щурів після введення 7 днів  
дилтіазему (5 мг/кг) та сполучення дилтіазему з еналаприлом (1 мг/кг)  
за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури | Дилтіазем                      | Дилтіазем<br>та еналаприл        |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|----------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $4,0 \pm 0,11$            | $4,6 \pm 0,12$<br>$p < 0,01$   | $3,7 \pm 0,19$<br>$p1 < 0,01$    |
| Концентрація креатиніну в<br>плазмі крові, мкмоль/л | $63,0 \pm 1,67$           | $65,1 \pm 1,91$                | $65,4 \pm 2,97$                  |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $0,95 \pm 0,017$          | $0,91 \pm 0,019$               | $0,99 \pm 0,030$<br>$p1 < 0,05$  |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $15,3 \pm 0,56$           | $14,1 \pm 0,48$                | $15,5 \pm 1,06$                  |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $3,88 \pm 0,134$          | $4,23 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$ | $3,67 \pm 0,196$<br>$p1 < 0,05$  |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $515,4 \pm 10,94$         | $544,3 \pm 7,31$<br>$p < 0,05$ | $473,4 \pm 31,12$<br>$p1 < 0,05$ |
| Відносна реабсорбція<br>води, %                     | $93,39 \pm 0,243$         | $92,84 \pm 0,235$              | $93,38 \pm 0,440$                |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,013 \pm 0,0016$        | $0,017 \pm 0,0024$             | $0,017 \pm 0,0017$               |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                   | $0,003 \pm 0,0004$        | $0,003 \pm 0,0004$             | $0,004 \pm 0,0004$               |

Примітка. Достовірні відмінності:  $p$  – з контрольною групою;  $p1$  – з групою щурів, яким вводили лише дилтіпзем.

Отримані дані свідчать, що під впливом дилтіазему, незалежно від активності РААС, збільшувалась екскреція іонів калію. У порівнянні з вихідним рівнем збільшення калійурезу становило 52% при монотерапії та 33,2% після комбінації препаратів, при цьому рівень каліємії не змінювався.

У всіх досліджуваних щурів концентрація іонів натрію в плазмі крові залишалась на рівні контролю, тому більш виражені зміни вмісту іонів натрію в сечі при додаванні ІАПФ (66,7% проти 46,7% після введення БКК)

відобразились в цій групі щурів підвищенням індексу концентрацій електроліту в сечі/в плазмі крові (табл. 4.7).

Таблиця 4.7

Зміни транспорту електролітів у нирках щурів після введення (7 днів) дилтіазему (5 мг/кг) та сполучення дилтіазему з еналаприлом (1 мг/кг) за умов 5% водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                            | Контроль<br>інтактні щури | Дилтіазем                        | Дилтіазем<br>та еналаприл        |
|------------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в сечі,<br>ммоль/л                | $5,0 \pm 0,21$            | $6,4 \pm 0,47$                   | $7,4 \pm 0,57$<br>$p < 0,01$     |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                    | $20,2 \pm 0,81$           | $30,7 \pm 1,77$<br>$p < 0,01$    | $26,9 \pm 1,47$<br>$p < 0,01$    |
| Концентрація $K^+$ в плазмі крові,<br>ммоль/л        | $6,6 \pm 0,23$            | $7,2 \pm 0,23$                   | $6,2 \pm 0,40$                   |
| Концентрація $Na^+$ в сечі, ммоль/л                  | $0,45 \pm 0,017$          | $0,66 \pm 0,056$<br>$p < 0,001$  | $0,75 \pm 0,072$<br>$p < 0,001$  |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год                   | $1,84 \pm 0,055$          | $3,08 \pm 0,237$<br>$p < 0,01$   | $2,73 \pm 0,018$<br>$p < 0,001$  |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі крові,<br>ммоль/л       | $128,6 \pm 1,07$          | $128,9 \pm 1,71$                 | $129,6 \pm 1,92$                 |
| Фільтраційна фракція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв           | $66,2 \pm 2,39$           | $70,1 \pm 2,09$                  | $61,5 \pm 4,23$                  |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ ,<br>%                   | $99,97 \pm 0,008$         | $99,96 \pm 0,010$                | $99,96 \pm 0,006$                |
| Концентрація $Na^+$ в сечі/в плазмі<br>крові, од     | $0,004 \pm 0,0001$        | $0,005 \pm 0,0005$               | $0,006 \pm 0,0005$<br>$p < 0,01$ |
| Концентрація $Na^+$ в сечі/ $K^+$ в<br>сечі, од      | $0,09 \pm 0,0033$         | $0,10 \pm 0,008$                 | $0,10 \pm 0,003$<br>$p < 0,05$   |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год      | $7,4 \pm 0,28$            | $7,8 \pm 0,24$                   | $6,9 \pm 0,50$                   |
| Дистальний транспорт $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год        | $519,7 \pm 14,84$         | $597,31 \pm 19,87$<br>$p = 0,01$ | $474,7 \pm 23,51$<br>$p1 < 0,01$ |
| Проксимальний транспорт $Na^+$ ,<br>ммоль/100 мкл КФ | $12,0 \pm 0,09$           | $11,9 \pm 0,14$                  | $12,1 \pm 0,22$                  |
| Дистальний транспорт $Na^+$ ,<br>мкмоль/100 мкл КФ   | $0,84 \pm 0,035$          | $0,91 \pm 0,038$                 | $0,85 \pm 0,049$                 |
| Екскреція $Na^+$ , мкмоль/100 мкл<br>КФ              | $0,36 \pm 0,009$          | $0,56 \pm 0,035$<br>$p < 0,01$   | $0,60 \pm 0,075$<br>$p < 0,05$   |

Примітка. Достовірні відмінності:  $p$  – з контрольною групою;  $p1$  – з групою щурів, яким вводили лише дилтіпзем.

На тлі зниженої активності РААС також зростає коефіцієнт співвідношення концентрацій іонів натрію/калію в сечі, і ця різниця з

інтактними щурами становила 11,1% (див. табл. 4.7). Екскреція іонів натрію в обох досліджуваних групах щурів збільшувалась. За рахунок значно виражених змін сечовиділення натрійурез після введення БКК зростав на 67,4%, а під впливом сполучення дилтіазему з еналаприлом – на 48,4%. Фільтраційний заряд іонів натрію мав аналогічну до зазначеної вище динаміки ШКФ тенденцію змін, відносна реабсорбція цього електроліту не змінювалась.

Результати дослідження локалізації змін транстубулярного транспорту іонів натрію роказали, що його проксимальна реабсорбція не змінювалась, включаючи стандартизований за КФ показник (див. табл. 4.7). Дистальний транспорт іонів натрію за дві години зростав під впливом дилтіазему на 14,9%, однак на тлі сполучення БКК та ІАПФ різниця в порівнянні з контролем зменшувалась і становила лише 8,7%. Стандартизована за КФ екскреція іонів натрію під впливом дилтіазему зростала на 55,5%, а після застосування дилтіазему з еналаприлом – на 66,6%.

На 7 день поєднаного застосування БКК і ІАПФ було встановлено позитивні кореляційні зв'язки між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,948$ ,  $p<0,01$ ), між ШКФ і абсолютною реабсорбцією цього катіону ( $r=0,981$ ,  $p<0,05$ ), між ШКФ і екскрецією креатиніну ( $r=0,768$ ,  $p<0,05$ ).

Отже, внаслідок пригнічення еналаприлом системної РААС і падіння АТ гальмується стимульована вазодилататором дилтіаземом реакція клубочкового сектору нефрону. Зниження ШКФ на тлі ІАПФ спричиняє зменшення діуретичної реакції дилтіазему та активуючого впливу БКК на екскреторну функцію нирок. У той же час, сполучення з еналаприлом не перешкоджає калійуретичній дії БКК, а внаслідок зниження альдостеронозалежних процесів у дистальному відділі нефрону сприяє суттєвішому натрійуретичному ефекту.

## РОЗДІЛ 5

### **ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ПІД ВПЛИВОМ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ СУЛЕМОВОЇ НЕФРОПАТІЇ**

Загальним механізмом нефрологічних захворювань тривалий час традиційно вважалось ураження та загибель клубочків з послідуєчим зменшенням маси функціонуючої паренхіми. Дослідженнями останніх років було показано, що при патології нирок одночасно зі змінами клубочкових процесів знижується каналцева реабсорбція води, осмотично активних речовин і зменшується секреція іонів водню. Підґрунтям для переорієнтації гломерулярного патогенезу нефропатій на тубулярний, а також і для визначення провідної ролі каналцевих дисфункцій у гомеостатичних зрушеннях стали результати вивчення функціональних, біохімічних, гістохімічних, морфологічних і мікродиссекційних змін у кірковій речовині нирок. Припущення, що пошкодження каналців є загальним механізмом формування ренальної патології, з часом підтвердилось патофізіологічними, фармакологічними та клінічними дослідженнями діяльності нирок за умов розвитку токсичної, медикаментозної, гіпоксичної, аутоімунної нефропатії [14, 37, 102].

Беручи до уваги отримані нами дані про вплив флокаліну на каналцеві процеси, становило інтерес вивчення функцій нирок після застосування активатора  $K_{ATP}$  каналів за умов тубулопатії. Одним з відомих способів експериментального відтворення ураження проксимального відділу нефрону та формування тубуло-інтерстиційного синдрому є модель сулемової нефропатії [43, 144, 159]. В наших дослідженнях токсичну нефропатію створювали підшкірним введенням 0,1% розчину дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг маси тіла щурів. Ренальні ефекти флокаліну та препарату порівняння дилтіазему вивчали на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії та на

стадії хронізації процесу за умов індукованого діурезу 5% водним навантаженням.

Варто зазначити, що для встановлення корисної новизни нових лікарських сполук як на доклінічному, так і на клінічних етапах вивчення використовують препарати порівняння з встановленими і добре відомими подібними властивостями. Слід ще раз зауважити, що на сьогодні відсутні переконливі дані про нефропротективну здатність АКК, у тому ж числі і у прототипу флокаліну – препарату пінацидил. Враховуючи цей факт, оцінка ефективності нового відкривача  $K_{ATP}$  каналів проводилась методом порівняльного аналізу з ренальними ефектами дилтіазему. Представник бензотіазепінових БКК дилтіазем не є компаратором (Comparator Product – прототип, препарат порівняння) та ідеальним референсним препаратом (Reference product – еталон, взірець, препарат порівняння). Однак факти, які засвідчують переважну нефропротективну активність недигідропіридинових похідних БКК [53, 110, 157] та наявність спільних з флокаліном ознак: належність до класу модуляторів іонних каналів, кальцій-опосередкований механізм дії, кардіотропні ефекти, вазолітична активність і низька токсичність слугували підґрунтям для вибору дилтіазему в якості препарату порівняння.

### **5.1. Зміни функціонального стану нирок після застосування флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії**

Відомо, що пошкодження проксимальних канальців і пригнічення транспорту води, неорганічних і органічних речовин спостерігається вже в перші години впливу сулеми з поступовим зростанням важкості ренальної дисфункції протягом 3-4 днів [135, 144]. Виходячи з патогенезу сулемової нефропатії та враховуючи важливість раннього призначення ефективного лікування, нами були вивчені зміни функціонального стану нирок після застосування модуляторів іонних каналів на початковій стадії розвитку гострої ниркової недостатності. З цією метою введення флокаліну та



дилтіазему розпочинали через дві години після моделювання сулемової нефропатії підшкірним введенням щурам 0,1% розчину дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг.

### 5.1.1. Зміни функціонального стану нирок після разового введення флокаліну на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії

Отримані експериментальні дані після разового введення флокаліну на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії наведені в табл. 5.1.

Таблиця 5.1

Показники функціонального стану нирок щурів  
на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після разового  
введення флокаліну в дозі 5 мг/кг ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія           | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін             |
|-----------------------------------------------------|---------------------------|----------------------------------|---------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2год                                  | $3,5 \pm 0,52$            | $2,0 \pm 0,20$<br>$p < 0,05$     | $3,1 \pm 0,12$<br>$p1 < 0,001$                    |
| Концентрація креатиніну в<br>плазмі крові, мкмоль/л | $39,5 \pm 2,75$           | $55,7 \pm 0,33$<br>$p < 0,001$   | $43,5 \pm 2,50$<br>$p1 < 0,001$                   |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $0,57 \pm 0,044$          | $1,04 \pm 0,082$<br>$p < 0,001$  | $0,97 \pm 0,049$<br>$p < 0,001$                   |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $1,9 \pm 0,30$            | $2,2 \pm 0,03$<br>$p < 0,05$     | $3,1 \pm 0,17$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,001$    |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $15,1 \pm 2,01$           | $18,7 \pm 1,49$                  | $22,8 \pm 1,35$<br>$p < 0,01$                     |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $390,5 \pm 70,30$         | $303,7 \pm 30,30$                | $602,4 \pm 56,89$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,001$ |
| Відносна реабсорбція<br>води, %                     | $92,6 \pm 1,02$           | $94,5 \pm 0,39$                  | $95,4 \pm 0,27$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$    |
| Концентрація білка в сечі,<br>г/л                   | $0,005 \pm 0,0017$        | $0,05 \pm 0,007$<br>$p < 0,001$  | $0,01 \pm 0,004$<br>$p1 < 0,01$                   |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,02 \pm 0,007$          | $0,09 \pm 0,013$<br>$p < 0,01$   | $0,03 \pm 0,012$<br>$p1 < 0,05$                   |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                   | $0,005 \pm 0,0018$        | $0,030 \pm 0,0060$<br>$p < 0,01$ | $0,006 \pm 0,0021$<br>$p1 < 0,01$                 |

Примітка. Достовірні відмінності:  $p$  – з контрольною групою;  $p1$  – між групами щурів з сулемовою нефропатією.

Початковий період розвитку гострої ниркової недостатності характеризувався зниженням діурезу на 42,9%, зростанням креатинінемії на 39,5%, збільшенням концентрації креатиніну в сечі на 82,5%. Факт підвищення на 15,8% виділення з сечею ендogenous креатиніну дозволяв припущення про збереження стану екскреторної функції нирок. Разом з тим, через дві години після введення сулеми протеїнурія – індикатор патології нирок, збільшувалась у 4,5 разу, а перерахований на 100 мкл КФ показник екскреції білка зростав у 6 разів.

За даних умов уведення флокалін проявляв сечогінну дію: у порівнянні з нелікованими щурами діурез підвищувався на 55% (див. табл. 5.1). Завдяки майже дворазовому збільшенню ШКФ під впливом АКК креатинінемія у щурів з сулемовою нефропатією знижувалась на 22%.

Важливо відмітити, що ШКФ після введення флокаліну зростала до величин, які перевищували показники у інтактних щурів. При цьому ШКФ на 54,3% була вищою, ніж у інтактних щурів. Концентрація креатиніну в сечі після введення флокаліну на 70,2% перевищувала контрольне значення. Був встановлений прямий кореляційний зв'язок між ШКФ і виділенням креатиніну з сечею ( $r=0,867$ ,  $p<0,05$ ). Збільшення у щурів з патологією нирок на 21,9% концентраційного індексу і на 63,1% екскреції креатиніну, а також і підвищення креатинінурії на 63,2%, порівняно з контролем, вказували на стимуляцію флокаліном екскреторної функції нирок.

Ефективність фторвмісного відкривача калієвих каналів при токсичному ураженні нирок підтверджували знижений у 5 разів показник концентрації білка в сечі, зменшена в тричі двохгодинна протеїнурія (див. табл. 5.1). При перерахунку на 100 мкл КФ екскреція білка під впливом флокаліну зменшувалась у 5 разів і практично досягала значення показника у інтактних щурів.

Кислоторегулювальна функція нирок через дві години після введення дихлориду ртуті у щурів характеризувалась зниженням рН сечі, зростанням на 32,2% амонійного коефіцієнту, зменшенням концентрації та екскреції вільних

іонів водню на 3,7% і 42%, відповідно, збільшенням на 37,5% екскреції амонійних солей у перерахунку на 100 мкл КФ (табл. 5.2).

Таблиця 5.2

Показники кислоторегулювальної функції нирок щурів  
на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після разового  
введення флокаліну в дозі 5 мг/кг ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія         | Сулемова<br>нефропатія та<br>флокалін           |
|----------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|-------------------------------------------------|
| pH сечі,<br>од                               | $6,6 \pm 0,07$            | $6,3 \pm 0,04$<br>$p < 0,01$   | $6,3 \pm 0,09$<br>$p < 0,05$                    |
| Екскреція титрованих<br>кислот, мкмоль/2 год | $53,5 \pm 8,12$           | $41,2 \pm 1,55$                | $58,4 \pm 4,75$<br>$p1 < 0,01$                  |
| Екскреція аміаку,<br>мкмоль/2 год            | $32,5 \pm 5,03$           | $32,3 \pm 2,44$                | $50,5 \pm 2,66$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,001$ |
| Амонійний коефіцієнт,<br>од                  | $0,59 \pm 0,040$          | $0,78 \pm 0,067$<br>$p < 0,05$ | $0,89 \pm 0,079$<br>$p < 0,01$                  |
| Концентрація $H^+$ в сечі,<br>мкмоль/л       | $0,82 \pm 0,004$          | $0,79 \pm 0,002$<br>$p < 0,01$ | $0,80 \pm 0,006$<br>$p < 0,05$                  |
| Екскреція $H^+$ ,<br>нмоль/2 год             | $2,8 \pm 0,43$            | $1,6 \pm 0,16$<br>$p < 0,05$   | $2,5 \pm 0,11$<br>$p1 < 0,001$                  |
| Екскреція $H^+$ /100 мкл КФ                  | $0,73 \pm 0,102$          | $0,52 \pm 0,037$               | $0,43 \pm 0,025$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$ |
| Екскреція титрованих<br>кислот/100 мкл КФ    | $13,7 \pm 2,09$           | $14,3 \pm 1,35$                | $10,1 \pm 0,89$<br>$p1 < 0,05$                  |
| Екскреція аміаку/100 мкл<br>КФ               | $8,0 \pm 1,06$            | $11,0 \pm 1,02$<br>$p < 0,05$  | $9,1 \pm 1,16$                                  |

Примітка. Достовірні відмінності (тут і в табл. розділу 5):  $p$  – з контрольною групою;  $p1$  – між групами щурів з сулемовою нефропатією.

Після разової активації калієвих каналів у щурів з сулемовою нефропатією амонійний коефіцієнт, концентрації іонів водню в сечі лишилися вищими за контроль. Разом з тим, у пролікованих щурів збільшувалась на 41,7% екскреція титрованих кислот, на 56,3% зростала екскреція аміаку. Стандартизовані за КФ показники екскреції іонів водню та титрованих кислот під впливом флокаліну зменшувались на 17,4% і 43,8%, а екскреція аміаку досягала контрольного рівня.

Оцінка іонорегулювальної функції нирок щурів показала що у щурів на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії на тлі збереження рівня каліємії концентрація іонів калію в сечі збільшувалась у 2,6 разу, концентрація іонів натрію в сечі підвищувалась на 9,4% (табл. 5.3).

Таблиця 5.3

Показники іонорегулювальної функції нирок щурів  
на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після разового  
введення флокаліну в дозі 5 мг/кг ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                        | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія          | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін           |
|--------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-------------------------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в плазмі<br>крові, ммоль/л    | $6,2 \pm 0,30$            | $5,9 \pm 0,69$                  | $6,6 \pm 0,58$                                  |
| Концентрація $K^+$ в сечі,<br>ммоль/л            | $6,4 \pm 0,77$            | $16,6 \pm 0,53$<br>$p < 0,001$  | $18,7 \pm 0,73$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,05$ |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                | $22,8 \pm 3,46$           | $32,7 \pm 3,55$<br>$p = 0,05$   | $58,5 \pm 3,56$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,01$ |
| Концентрація $Na^+$ в плазмі<br>крові, ммоль/л   | $127,9 \pm 5,28$          | $140,4 \pm 1,46$<br>$p < 0,05$  | $120,0 \pm 13,33$                               |
| Фільтраційний заряд $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв        | $49,9 \pm 7,50$           | $42,8 \pm 4,55$                 | $69,2 \pm 5,59$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$  |
| Концентрація $Na^+$ в сечі,<br>ммоль/л           | $0,27 \pm 0,037$          | $0,19 \pm 0,014$                | $0,38 \pm 0,097$                                |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год               | $1,02 \pm 0,25$           | $0,39 \pm 0,06$<br>$p < 0,05$   | $1,22 \pm 0,32$<br>$p1 < 0,05$                  |
| Екскреція $H_2O$ $Na^+$ ,<br>мл/2 год            | $3,4 \pm 0,52$            | $1,9 \pm 0,20$<br>$p < 0,05$    | $3,1 \pm 0,11$<br>$p1 < 0,001$                  |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ ,<br>%               | $99,98 \pm 0,003$         | $99,99 \pm 0,001$<br>$p < 0,05$ | $99,98 \pm 0,005$                               |
| Проксимальна реабсорбція<br>$Na^+$ , ммоль/2 год | $5,5 \pm 0,88$            | $4,8 \pm 0,52$                  | $7,9 \pm 0,66$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$   |
| Дистальна реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год   | $457,0 \pm 70,69$         | $277,6 \pm 30,11$<br>$p < 0,05$ | $367,3 \pm 27,18$<br>$p1 < 0,05$                |
| Проксимальна реабсорбція<br>$Na^+$ /100 мкл КФ   | $11,8 \pm 0,34$           | $13,2 \pm 0,18$<br>$p < 0,01$   | $11,4 \pm 0,23$                                 |
| Дистальна реабсорбція<br>$Na^+$ /100 мкл КФ      | $0,97 \pm 0,180$          | $0,76 \pm 0,049$                | $0,55 \pm 0,094$<br>$p < 0,05$                  |

Примітка. Достовірні відмінності:  $p$  – з контрольною групою;  $p1$  – між групами щурів з сулемовою нефропатією.

Екскреція іонів натрію зменшувалась на 31,8%, виділення нирками безнатрієвої води знижувалось на 44,2%, відносна реабсорбція іонів натрію зростала. За умов дії сулеми транспорт іонів натрію зазнавав змін у всіх відділах нефрону. Дистальна реабсорбція електроліту зменшувалась на 39,3%, стандартизована за КФ проксимальна реабсорбція збільшувалась на 11,9%.

Після введення флокаліну екскреція іонів калію не зменшувалась і калійурез, порівняно з нелікованими щурами, був вищий на 12,6% (див. табл. 5.3). Калійурез і ШКФ після разової активації калієвих каналів за умов гострої сулемової нефропатії позитивно корелювали між собою ( $r=0,875$ ,  $p<0,05$ ). Під впливом флокаліну натріємія досягала вихідного рівня, фільтраційний заряд іонів натрію перевищував контрольні показники і значення у нелікованих щурів на 38,7% і на 61,7%, відповідно. Відкриття калієвих каналів спричинило збільшення натрійурезу в 3,1 разу та в 1,6 разу екскреції вільної від іонів натрію води. Були встановлені позитивні кореляційні зв'язки концентрації іонів натрію в сечі та його екскреторною фракцією ( $r=0,988$ ,  $p<0,001$ ), а також зі стандартизованою за КФ екскрецією цього катіону ( $r=0,988$ ,  $p<0,001$ ). Під впливом флокаліну проксимальний транспорт іонів натрію у щурів з сулемовою нефропатією збільшувався на 64,6%. Між показниками абсолютної і проксимальної реабсорбції іонів натрію встановлено прямий кореляційний зв'язок ( $r=0,935$ ,  $p<0,01$ ). Дистальний транспорт іонів натрію після введення флокаліну був на 32,3% більше, ніж у нелікованих щурів. Зменшення стандартизованої за КФ дистальної реабсорбції та відсутність кореляційної залежності з екскрецією іонів калію ( $r=-0,534$ ,  $p>0,05$ ) виключали надмірні впливи РААС за умов дії флокаліну.

### **5.1.2. Зміни функціонального стану нирок після разового введення дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії**

Під впливом дилтіазему у щурів з гострою сулемовою нефропатією знижувалась на 5% концентрація креатиніну в сечі, однак рівень креатинінемії і кліренс ендогенного креатиніну не змінювались (табл. 5.4).

Показники функціонального стану нирок щурів  
на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після разового введення  
дилтіазему в дозі 5 мг/кг ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                           | Сулемова нефропатія | Сулемова нефропатія<br>та дилтіазем |
|-----------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                 | $1,60 \pm 0,336$    | $2,00 \pm 0,312$                    |
| Концентрація креатиніну<br>в плазмі крові, мкмоль/л | $75,0 \pm 4,50$     | $72,6 \pm 6,11$                     |
| Концентрація креатиніну<br>в сечі, мкмоль/л         | $1,01 \pm 0,015$    | $0,96 \pm 0,012$<br>$p < 0,05$      |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $1,61 \pm 0,342$    | $1,91 \pm 0,296$                    |
| Концентраційний індекс<br>креатиніну, од            | $13,8 \pm 0,98$     | $13,6 \pm 0,85$                     |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв                    | $186,2 \pm 41,46$   | $241,0 \pm 50,83$                   |
| Відносна реабсорбція води,<br>%                     | $92,5 \pm 0,49$     | $92,4 \pm 0,56$                     |
| Концентрація білка в сечі, г/л                      | $0,021 \pm 0,0020$  | $0,009 \pm 0,0012$<br>$p < 0,01$    |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                        | $0,034 \pm 0,0065$  | $0,017 \pm 0,0030$<br>$p < 0,05$    |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                   | $0,019 \pm 0,0016$  | $0,007 \pm 0,0011$<br>$p < 0,01$    |

Примітка.:  $p$  – достовірність порівняно з сулемовою нефропатією.

Зміни ШКФ не були статистично значущими і можна вважати, що БКК не впливав на екскреторну функцію нирок при гострому токсичному ураженні нирок. Разом з тим, введення дилтіазему через 2 год після моделювання токсичної патології нирок призвело до зниження концентрації білка в сечі в 2,3 разу, а також і до зменшення в 2,7 разу двохгодинної протеїнурії та стандартизованого за КФ екскреції білка що підтверджувало виявлений іншими дослідниками антипротеїнуричний ефект у БКК [183].

Аналіз кислоторегулювальної функції нирок показав що після застосування дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією зростало значення

pH сечі, збільшувався на 15,2% амонійний коефіцієнт, на 2,5% підвищувалась екскреція з сечею вільних іонів водню (табл. 5.5).

Таблиця 5.5

Показники кислоторегулювальної функції нирок щурів  
на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після разового введення  
дилтіазему в дозі 5 мг/кг ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                    | Сулемова нефропатія | Сулемова нефропатія<br>та дилтіазем |
|----------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| pH сечі,<br>од                               | $6,4 \pm 0,05$      | $6,7 \pm 0,07$<br>$p < 0,05$        |
| Екскреція титрованих кислот,<br>мкмоль/2 год | $14,3 \pm 1,99$     | $18,7 \pm 3,10$                     |
| Екскреція аміаку,<br>мкмоль/2 год            | $20,9 \pm 3,52$     | $31,2 \pm 5,20$                     |
| Амонійний коефіцієнт,<br>од                  | $1,44 \pm 0,045$    | $1,66 \pm 0,036$<br>$p < 0,01$      |
| Концентрація $H^+$ в сечі,<br>мкмоль/л       | $0,81 \pm 0,003$    | $0,83 \pm 0,004$<br>$p < 0,01$      |
| Екскреція $H^+$ ,<br>нмоль/2 год             | $1,3 \pm 0,27$      | $1,6 \pm 0,25$                      |
| Екскреція<br>$H^+/100$ мкл КФ                | $0,72 \pm 0,046$    | $0,75 \pm 0,590$                    |
| Екскреція титрованих<br>кислот/100 мкл КФ    | $8,5 \pm 0,83$      | $8,7 \pm 0,91$                      |
| Екскреція<br>аміаку/100 мкл КФ               | $12,1 \pm 0,19$     | $14,4 \pm 1,43$                     |

Примітка.:  $p$  – достовірність порівняно з сулемовою нефропатією.

При цьому посилена динаміка виділення нирками титрованих кислот і аміаку вказувала на здатність дилтіазему впливати на кислотно-лужну рівновагу. Однак слабка діуретична реакція у щурів за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії відобразилась на експериментальних даних, які залежать від об'єму сечі, і тому різниці екскреції досліджуваних показників кислоторегулювальної функції нирок не були статистично значимими.

На тлі розвитку гострого ураження нирок дихлоридом ртуті дилтіазем впливав на показники електролітного балансу. Концентрація іонів калію в плазмі крові та в сечі зменшувалась на 24,7% і на 43,2%, відповідно, калійурез зростав на 82,% (табл. 5.6).

Таблиця 5.6

Показники іонорегулювальної функції нирок щурів  
на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після разового введення  
дилтіазему в дозі 5 мг/кг ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                        | Сулемова нефропатія | Сулемова нефропатія<br>та дилтіазем |
|--------------------------------------------------|---------------------|-------------------------------------|
| Концентрація $K^+$<br>в плазмі крові, ммоль/л    | $6,9 \pm 0,13$      | $5,2 \pm 0,12$<br>$p < 0,001$       |
| Концентрація $K^+$<br>в сечі, ммоль/л            | $4,4 \pm 0,29$      | $6,3 \pm 0,33$<br>$p < 0,01$        |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                | $6,7 \pm 1,17$      | $12,2 \pm 1,44$<br>$p < 0,05$       |
| Концентрація $Na^+$<br>в плазмі крові, ммоль/л   | $145,4 \pm 1,45$    | $127,9 \pm 2,29$<br>$p < 0,001$     |
| Фільтраційний заряд $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв        | $27,0 \pm 5,94$     | $31,3 \pm 7,09$                     |
| Концентрація $Na^+$<br>в сечі, ммоль/л           | $0,35 \pm 0,017$    | $0,55 \pm 0,333$<br>$p < 0,001$     |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год               | $0,55 \pm 0,118$    | $1,05 \pm 0,124$<br>$p < 0,05$      |
| Екскреція $H_2O$ $Na^+$ ,<br>мл/2 год            | $1,5 \pm 0,33$      | $2,0 \pm 0,31$                      |
| Відносна реабсорбція $Na^+$ ,<br>%               | $99,98 \pm 0,001$   | $99,96 \pm 0,005$<br>$p < 0,05$     |
| Проксимальна реабсорбція $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год | $3,01 \pm 0,66$     | $3,5 \pm 0,80$                      |
| Дистальна реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год   | $231,1 \pm 47,74$   | $259,9 \pm 44,57$                   |
| Проксимальна реабсорбція<br>$Na^+/100$ мкл КФ    | $13,5 \pm 0,17$     | $11,8 \pm 0,27$<br>$p < 0,01$       |
| Дистальна реабсорбція<br>$Na^+/100$ мкл КФ       | $1,08 \pm 0,074$    | $0,96 \pm 0,055$                    |

Примітка:  $p$  – достовірність порівняно з сулемовою нефропатією.

Рівень натріємії зменшувався на 12,1%, концентрація цього катіону в сечі підвищувалась на 57,1%, його відносна реабсорбція зменшувалась, і натрійурез збільшувався на 90,9%, Аналіз каналцевих процесів показав зниження проксимального транспорту іонів натрію в нефронах: під впливом БКК стандартизований за КФ показник зменшувався на 12,6% (див. табл. 5.6).



### **5.1.3. Зміни функціонального стану нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії**

Результати попередніх дослідження показали, що флокалін є потенційним засобом корекції в перший день розвитку сулемової нефропатії. Також була підтверджена роль модуляції калієвого і кальцієвого току в патогенезі гострого токсичного ураження нирок та важливе значення клітинних механізмів транспорту іонів кальцію у модифікації ренальних функцій.

Однак експериментальна та клінічна апробація лікарських засобів обов'язково передбачає дослідження ефектів, індукованих багаторазовим (курсним) введенням фармакологічних сполук. Отримані дані, які засвідчили здатність флокаліну впливати на водно-сольовий обмін, кислотно-лужний баланс, ниркову екскрецію білка стали підґрунтям для порівняльного аналізу показників після семиденного застосування активатора  $K_{ATP}$  каналів і дилтіазему за умов розвитку гострої сулемової нефропатії.

На сьомий день після пошкодження нирок дихлоридом ртуті діурез у щурів знижувався на 38,7%, креатинінемія зростала на 74,9%, креатинін у сечі збільшувався на 23,9%. На користь прогресування нефропатії, крім гіперкреатинінемії, також свідчило збільшення у 2,2 разу концентрації білка в сечі та зростання у 22,7 разу стандартизованого за КФ показника протеїнурії. За умов введення 7 днів флокаліну у щурів з сулемовою нефропатією зменшувалась концентрація креатиніну в сечі (на 15,6%) та екскреція креатиніну (на 49,1%), порівняно з інтактними щурами зниження екскреції креатиніну становило 37,3%. Крім цього, у щурів з токсичним ураженням нирок зменшувалась ретенційна азотемія – концентрація креатиніну в плазмі крові падала на 28,3%. Корекція флокаліном привела до зниження концентрації білка в сечі, а також і до зменшення на 40,9% двогодинної протеїнурії і на 88% стандартизованої за КФ екскреції білка (табл. 5.7).

Таблиця 5.7

Показники функціонального стану нирок щурів  
після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на  
початковій стадії розвитку сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                              | Контроль<br>інтактні<br>щери | Сулемова<br>нефропатія          | Сулемова<br>нефропатія та<br>флокалін             | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем                            |
|--------------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|---------------------------------------------------|-------------------------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                    | $4,7 \pm 0,11$               | $2,9 \pm 0,25$<br>$p < 0,01$    | $3,0 \pm 0,46$<br>$p < 0,05$                      | $3,9 \pm 0,16$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,01$                     |
| Концентрація<br>креатиніну в плазмі<br>крові, мкмоль/л | $73,2 \pm 9,48$              | $128,0 \pm 13,66$<br>$p < 0,01$ | $91,9 \pm 1,13$<br>$p1 < 0,05$                    | $119,9 \pm 9,83$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,05$                   |
| Концентрація<br>креатиніну<br>в сечі, ммоль/л          | $0,88 \pm 0,073$             | $1,09 \pm 0,361$<br>$p < 0,05$  | $0,92 \pm 0,017$<br>$p1 < 0,05$                   | $0,86 \pm 0,880$<br>$p1 < 0,05$                                   |
| Екскреція<br>креатиніну,<br>мкмоль/2 год               | $4,3 \pm 0,39$               | $5,3 \pm 0,77$                  | $2,7 \pm 0,42$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$     | $3,4 \pm 0,37$<br>$p1 < 0,05$                                     |
| Концентраційний<br>індекс креатиніну,<br>од            | $12,9 \pm 1,18$              | $16,1 \pm 3,57$                 | $10,7 \pm 0,73$                                   | $7,5 \pm 1,00$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,05$    |
| Клубочкова<br>фільтрація, мкл/хв                       | $514,6 \pm 39,25$            | $382,5 \pm 72,76$               | $289,7 \pm 27,14$                                 | $244,1 \pm 29,37$<br>$p < 0,001$ ;                                |
| Відносна<br>реабсорбція<br>води, %                     | $91,8 \pm 0,70$              | $92,2 \pm 1,62$                 | $90,2 \pm 0,92$                                   | $85,6 \pm 1,61$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,05$   |
| Концентрація білка<br>в сечі, г/л                      | $0,018 \pm 0,0013$           | $0,04 \pm 0,006$<br>$p < 0,01$  | $0,008 \pm 0,0009$<br>$p1 < 0,001$                | $0,010 \pm 0,0030$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,001$                |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                           | $0,09 \pm 0,005$             | $0,13 \pm 0,027$                | $0,02 \pm 0,004$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,01$  | $0,04 \pm 0,012$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$                   |
| Екскреція білка,<br>мг/100 мкл КФ                      | $0,018 \pm 0,0022$           | $0,41 \pm 0,093$<br>$p < 0,05$  | $0,009 \pm 0,0012$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$ | $0,16 \pm 0,005$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,001$ |

Примітка. Достовірність відмінностей порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з сулемовою нефропатією,  $p2$  – між групами з флокаліном і дилтіаземом.

Аналіз змін функцій нирок після введення дилтіазему показав, що діурез у щурів з сулемовою нефропатією зростав на 34,5%. Значення відносної

реабсорбції води під впливом БКК було нижчим, ніж у всіх інших досліджуваних груп щурів. Дія дилтіазему у щурів з моделлю патології також характеризувалась зменшенням концентрації креатиніну в сечі та його екскреції на 21,2% і на 37,1%, відповідно. Однак рівень креатинінемії лишався на 63,8% вищим за контроль і на 30,4% був більше, ніж під впливом флокаліну. Концентраційний індекс креатиніну зменшувався на 53,5% і був нижчий за значення як у пролікованих флокаліном, так і у інтактних щурів, відповідно на 30% і на 41,9%. Мав місце антипротеїнуричний ефект: концентрація білка в сечі зменшувалась у 4 рази, екскреція білка та перерахована за КФ протеїнурія знижувалась, відповідно, у 3,2 та в 2,6 разу.

Через сім днів після введення сулеми екскреція титрованих кислот, аміаку, концентрація іонів водню в сечі зменшувались, відповідно, на 46,3%, на 28,2% і на 5,6%, а амонійний коефіцієнт зростав у 1,5 разу (табл. 5.8).

Таблиця 5.8

Показники кислотно-лужного балансу після введення 7 днів  
флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на початковій стадії розвитку  
сулемової нефропатії у щурів ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                       | Контроль<br>інтактні<br>щери | Сулемова<br>нефропатія         | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін            | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем                         |
|-------------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|--------------------------------------------------|----------------------------------------------------------------|
| 1                                               | 2                            | 3                              | 4                                                | 5                                                              |
| рН сечі,<br>од                                  | $7,5 \pm 0,10$               | $6,8 \pm 0,12$<br>$p < 0,01$   | $7,5 \pm 0,05$                                   | $7,6 \pm 0,08$<br>$p1 < 0,01$                                  |
| Екскреція<br>титрованих кислот,<br>мкмоль/2 год | $49,3 \pm 1,82$              | $26,5 \pm 3,77$<br>$p < 0,001$ | $69,1 \pm 11,8$<br>$p1 < 0,01$                   | $31,3 \pm 1,82$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,01$                |
| Екскреція аміаку,<br>мкмоль/2 год               | $97,2 \pm 3,21$              | $69,8 \pm 5,82$<br>$p < 0,01$  | $181,2 \pm 29,87$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$ | $99,5 \pm 3,80$<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,05$                |
| Амонійний<br>коефіцієнт, од                     | $1,98 \pm 0,093$             | $2,95 \pm 0,442$<br>$p < 0,05$ | $2,63 \pm 0,031$<br>$p < 0,001$                  | $3,1 \pm 0,09$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$                |
| Концентрація $H^+$ в<br>сечі, моль/л            | $0,87 \pm 0,005$             | $0,83 \pm 0,007$<br>$p < 0,01$ | $0,87 \pm 0,002$<br>$p1 < 0,001$                 | $0,88 \pm 0,004$<br>$p1 < 0,001$                               |
| Екскреція $H^+$ ,<br>нмоль/2 год                | $4,2 \pm 0,08$               | $2,4 \pm 0,22$                 | $2,5 \pm 0,39$<br>$p < 0,01$                     | $3,5 \pm 0,13$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,05$ |

Продовження табл. 5.8

| 1                                            | 2                | 3                | 4                                                 | 5                                                                  |
|----------------------------------------------|------------------|------------------|---------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Екскреція<br>$\text{H}^+$ /100 мкл КФ        | $0,85 \pm 0,069$ | $0,78 \pm 0,159$ | $1,02 \pm 0,093$                                  | $1,51 \pm 0,169$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p_1 < 0,01$ ;<br>$p_2 < 0,05$ |
| Екскреція<br>титрованих<br>кислот/100 мкл КФ | $10,1 \pm 0,99$  | $9,2 \pm 2,44$   | $27,8 \pm 2,81$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p_1 < 0,001$ | $13,4 \pm 1,15$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p_1 < 0,001$                   |
| Екскреція<br>аміаку/100 мкл КФ               | $19,8 \pm 1,60$  | $22,2 \pm 3,97$  | $73,1 \pm 7,22$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p_1 < 0,001$ | $43,2 \pm 4,42$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p_1 < 0,01$ ;<br>$p_2 < 0,01$ |

Примітка. Достовірність відмінностей порівняно:  $p$  – з контролем,  $p_1$  – з сулемовою нефропатією,  $p_2$  – між групами з флокаліном і дилтіаземом.

Застосування флокаліну привело до відновлення рН сечі, збільшення на 160% екскреції титрованих кислот і аміаку, підвищення на 4,8% концентрації іонів водню в сечі. В порівнянні з контролем на 86,4% зросло виділення нирками амонійних солей, що відображалось збільшенням значення амонійного коефіцієнта на 32,8%.

Після введення 7 днів дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією зростав показник рН сечі, збільшувалась на 42,5% екскреція аміаку, концентрація та екскреція іонів водню зростали на 6% і 45,8%, відповідно. Перераховані за КФ величини екскреції іонів водню, титрованих кислот і аміаку збільшувались, відповідно, на 93,5%, на 23,3% і на 94,6%. Під впливом БКК показники кислотно-лужного балансу змінювались відносно рівня у інтактних щурів: зниження екскреції титрованих кислот становило 36,6%, амонійний коефіцієнт зростав на 56,6%, екскреція іонів водню зменшувалась на 16,7%, суттєвою була різниця і стандартизованих за КФ показників. Дилтіазем підвищував на 17,9% амонійний коефіцієнт, знижував на 55% екскрецію іонів водню у складі титрованих кислот і амонійних солей, на 40% збільшував виділення вільних протонів. Співставлення стандартизованих за КФ показників у групах з корекцією показало, що під впливом БКК на 48% підвищувалась екскреція іонів водню, зменшувалась на 41% екскреція аміаку.

Зміни іонорегулювальної функції нирок через сім днів після введення сулеми характеризувались зниженням каліємії на 17,5% і на 64,2% калійурезу. Концентрація іонів натрію в плазмі крові зростала на 8,9%, у сечі – зменшувалась на 44,2%, натрійурез і екскреторна фракція катіону знижувались на 66,1% і на 33,3%, відповідно. Дистальна реабсорбція іонів натрію зменшувалась на 33,5%, стандартизований за КФ проксимальний транспорт збільшувався на 9,4% (табл. 5.9).

Таблиця 5.9

Показники іонорегулювальної функції нирок після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії у щурів ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                           | Контроль<br>інтактні<br>щери | Сулемова<br>нефропатія          | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін              | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем            |
|-----------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------------------------|---------------------------------------------------|
| Концентрація $K^+$<br>в плазмі крові, ммоль/л       | $6,3 \pm 0,23$               | $5,2 \pm 0,41$<br>$p < 0,05$    | $6,8 \pm 0,25$<br>$p1 < 0,01$                      | $6,1 \pm 0,21$<br>$p2 < 0,05$                     |
| Концентрація $K^+$<br>в сечі, ммоль/л               | $7,2 \pm 0,72$               | $5,4 \pm 0,06$<br>$p < 0,05$    | $3,4 \pm 0,63$<br>$p < 0,05$<br>$p1 = 0,01$        | $3,7 \pm 0,21$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$   |
| Екскреція $K^+$ ,<br>ммоль/2 год                    | $34,7 \pm 3,78$              | $15,9 \pm 1,48$<br>$p < 0,001$  | $12,3 \pm 1,03$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$     | $14,8 \pm 1,04$<br>$p < 0,001$                    |
| Концентрація $Na^+$ в<br>плазмі крові, ммоль/л      | $115,5 \pm 3,2$              | $125,8 \pm 3,88$<br>$p < 0,05$  | $135,8 \pm 4,44$<br>$p < 0,01$                     | $129,5 \pm 3,47$<br>$p < 0,05$                    |
| Фільтраційний заряд<br>$Na^+$ , ммоль/хв            | $59,0 \pm 4,60$              | $47,3 \pm 8,73$                 | $34,1 \pm 4,11$<br>$p < 0,01$                      | $31,8 \pm 4,24$<br>$p < 0,01$                     |
| Екскреторна фракція<br>$Na^+$ , ммоль/хв            | $0,03 \pm 0,004$             | $0,01 \pm 0,001$<br>$p < 0,01$  | $0,005 \pm 0,0009$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,01$ | $0,02 \pm 0,003$<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,001$ |
| Концентрація $Na^+$<br>в сечі, ммоль/л              | $0,77 \pm 0,102$             | $0,43 \pm 0,011$<br>$p < 0,01$  | $0,21 \pm 0,022$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$  | $0,65 \pm 0,091$<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,001$ |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год                   | $3,74 \pm 0,529$             | $1,27 \pm 0,129$<br>$p < 0,01$  | $0,63 \pm 0,109$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,01$   | $2,5 \pm 0,36$<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,001$   |
| Відносна реабсорбція<br>$Na^+$ , %                  | $91,94 \pm 0,010$            | $99,97 \pm 0,006$<br>$p < 0,05$ | $99,98 \pm 0,001$<br>$p < 0,01$                    | $99,92 \pm 0,015$<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,01$ |
| Проксимальна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год | $6,5 \pm 0,54$               | $5,3 \pm 1,06$                  | $3,4 \pm 0,45$<br>$p < 0,01$                       | $3,3 \pm 0,51$<br>$p < 0,01$                      |
| Дистальна реабсорбція<br>$Na^+$ , ммоль/2 год       | $551,5 \pm 26,51$            | $367,1 \pm 34,20$<br>$p < 0,05$ | $398,8 \pm 72,08$                                  | $506,7 \pm 19,80$<br>$p1 < 0,01$                  |

Продовження табл. 5.9

| 1                                                  | 2                | 3                             | 4                                               | 5                                                                |
|----------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|-------------------------------------------------|------------------------------------------------------------------|
| Проксимальна реабсорбція $\text{Na}^+$ /100 мкл КФ | $10,6 \pm 0,21$  | $11,6 \pm 0,33$<br>$p < 0,05$ | $12,2 \pm 0,34$<br>$p < 0,01$                   | $11,1 \pm 0,47$                                                  |
| Дистальна реабсорбція $\text{Na}^+$ /100 мкл КФ    | $0,94 \pm 0,104$ | $0,99 \pm 0,107$              | $1,33 \pm 0,107$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$ | $1,83 \pm 0,190$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,05$ |

Примітка. Достовірність відмінностей порівняно: p – з контролем, p1 – з сулемовою нефропатією, p2 – між групами з флокаліном і дилтіаземом.

Після введення 7 днів флокаліну у щурів з гострою токсичною нефропатією рівень каліємії зменшувався на 30,8% і досягав свого значення в контрольній групі (див. табл. 5.9). Концентрація іонів калію в сечі та калійурез, порівняно з контролем були нижчими на 52,8% і на 64,6%, відповідно. Разом з тим, флокалін зменшував на 22,7% калійурез.

Аналіз стану натрієвого балансу показав, що застосування протягом семи днів флокаліну не призвело до відновлення частки показників. Так, у порівнянні з контролем, збільшення натріємії становило 17,5%; зменшення фільтраційного заряду іонів натрію – 49,3%; зниження концентрації катіону в сечі, його екскреції та екскреторної фракції – 72,3%, 81,2% і 83,4%, відповідно. Проксимальний транспорт іонів натрію був менше за рівень у інтактних щурів на 47,7%, але на 15,1% був більшим за перерахунку показника на 100 мкл КФ, стандартизований показник дистальної реабсорбції катіону зростав на 41,5%. Була виявлена прямо пропорційна залежність між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після семиденного введення флокаліну ( $r=0,987$ ,  $p<0,001$ ). Завдяки захисному впливу флокаліну на іонорегулювальну функцію, у щурів з токсичною патологією нирок зменшувались втрати іонів натрію внаслідок активації його дистального транспорту. Дистальна реабсорбція іонів натрію у перерахунку за КФ зростала на 34,3%, концентрація катіону в сечі знижувалась на 51,2%, натрійурез та екскреторна фракція іонів натрію зменшувались на 50%.

На тлі семиденного введення дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією відновлювався рівень каліємії, концентрація іонів калію в сечі знижувалась на 31,5% і на 48,7% була нижче, ніж у інтактних щурів, калійурез не змінювався (див. табл. 5.9). Концентрація іонів натрію в плазмі крові лишалась вищою, ніж у контролі, концентрація іонів натрію в сечі збільшувалась на 51,2%. Після введення дилтіазему відносна реабсорбція іонів натрію була значно менше, ніж у інших груп щурів з сулемовою нефропатією. Дистальна реабсорбція катіону підвищувалась на 39,1% і досягала контрольного рівня, збільшення цього показника за перерахунку на 100 мкл КФ становило 84,8%. Також, стандартизований за КФ дистальний транспорт іонів натрію на 37,6% був вищим, ніж після застосування АКК. Мав місце позитивний кореляційний зв'язок між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після семиденного введення дилтіазему ( $r=0,985$ ,  $p<0,001$ ). Однак, на відміну від дії флокаліну, для дилтіазему був притаманний натрійуретичний ефект. Натрійурез зростав на 96,8%, і вдвічі підвищувалась екскреторна фракція катіону. Показники натрієвого балансу суттєво різнились у пролікованих групах: концентрація в сечі, екскреція та екскреторна фракція іонів натрію після застосування дилтіазему були більше, ніж під впливом флокаліну на 209,5%, на 296,8% і на 300%, відповідно.

## **5.2. Зміни функціонального стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії**

У теперішній час найбільшу увагу дослідників привертають два найважливіших фактора прогресування ХХН: артеріальна гіпертензія і протеїнурія. Виявлені нами у попередніх дослідженнях антипротеїнуричні властивості флокаліну разом з вже раніше встановленими вазолітичним і антигіпертензивним ефектами [30, 167] вказують на нефропротекторну здатність активатора  $K_{ATP}$  каналів. Однак, впровадження нових підходів до лікування в практичній нефрології неможливе без ґрунтовної оцінки ефективності курсової терапії, яка спрямована на сповільнення прогресування

ХХН і віддалення термінальної ниркової недостатності. В зв'язку з цим, наступним етапом нашої роботи було вивчення ренальної дії флокаліну за умов хронізації сулемової нефропатії. Завдяки ретельним дослідженням внутрішньоренальних механізмів регуляції нефрону і морфологічного стану нирок встановлено [135, 149], що через місяць з моменту введення 0,1% розчину сулеми в дозі 5 мг/кг структурно-функціональна перебудова нирок відтворює період хронізації патологічного процесу в експерименті, що характеризується як пізній період поліуричної стадії розвитку сулемової нефропатії та формування тубуло-інтерстиційного синдрому.

В наступній серії експериментів показники діяльності нирок вивчали у щурів, яким протягом семи днів вводили флокалін і дилтіазем, починаючи з 30 дня після моделювання сулемової нефропатії (табл. 5.10-5.12).

Таблиця 5.10

Показники функціонального стану нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг за умов хронізації сулемової нефропатії у щурів на тлі водного навантаження ( $\bar{x} \pm S_x$ ,  $n = 8$ )

| Показники                                     | Контроль<br>інтактні<br>щури | Сулемова<br>нефропатія          | Сулемова<br>нефропатія та<br>флокалін            | Сулемова<br>нефропатія та<br>дилтіазем                             |
|-----------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| 1                                             | 2                            | 3                               | 4                                                | 5                                                                  |
| Діурез,<br>мл/2 год                           | $3,4 \pm 0,26$               | $4,1 \pm 0,07$<br>$p < 0,05$    | $2,3 \pm 0,27$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$    | $4,9 \pm 0,21$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,001$    |
| Концентрація<br>креатиніну<br>в сечі, ммоль/л | $0,78 \pm 0,051$             | $0,76 \pm 0,023$                | $1,55 \pm 0,128$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,01$  | $0,59 \pm 0,070$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,001$  |
| Екскреція<br>креатиніну,<br>мкмоль/2 год      | $2,63 \pm 0,124$             | $3,08 \pm 0,130$<br>$p < 0,05$  | $3,44 \pm 0,107$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$  | $2,89 \pm 0,389$                                                   |
| Концентраційний<br>індекс<br>креатиніну, од   | $9,1 \pm 0,43$               | $9,4 \pm 0,56$                  | $16,3 \pm 0,39$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ | $4,28 \pm 0,39$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$ |
| Клубочкова<br>фільтрація,<br>мкл/хв           | $256,9 \pm 13,46$            | $319,2 \pm 21,39$<br>$p < 0,05$ | $306,7 \pm 28,60$                                | $174,0 \pm 20,65$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,05$  |



Продовження табл. 5.10

| 1                              | 2                  | 3                                 | 4                                                  | 5                                                                  |
|--------------------------------|--------------------|-----------------------------------|----------------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------|
| Відносна реабсорбція води, %   | $88,8 \pm 0,53$    | $89,1 \pm 0,58$                   | $93,8 \pm 0,15$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$   | $75,7 \pm 2,23$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,001$   |
| Концентрація білка в сечі, г/л | $0,019 \pm 0,0018$ | $0,028 \pm 0,0017$<br>$p < 0,01$  | $0,043 \pm 0,0022$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,01$ | $0,019 \pm 0,0017$<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,001$                |
| Екскреція білка, мг/2 год      | $0,064 \pm 0,0062$ | $0,115 \pm 0,0084$<br>$p < 0,001$ | $0,099 \pm 0,0135$<br>$p < 0,05$                   | $0,090 \pm 0,0055$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$                  |
| Екскреція білка, мг/100 мкл КФ | $0,025 \pm 0,0017$ | $0,037 \pm 0,0022$<br>$p < 0,01$  | $0,031 \pm 0,0017$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1=0,05$    | $0,055 \pm 0,0068$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,05$ |

Примітка. Достовірність відмінностей (тут і в табл. 5.11-5.12) порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з сулемовою нефропатією,  $p2$  – між групами з флокаліном і дилтіаземом.

Функціональний стан нирок на 30 день після введення сулеми характеризувався збільшенням показників діурезу на 20,6%, екскреції ендogenous креатиніну – на 17,1%, ШКФ – на 52,6%. За умов токсичного пошкодження канальцевого відділу нефрону збільшувались втрати білка з сечею (див. табл. 5.10). На 47,3% підвищувалась концентрація білка в сечі, на 79,6% зростала екскреція білка і на 48% підвищувався стандартизований за КФ показник протеїнурії. Після введення флокаліну нормалізувались діурез, ШКФ, збільшувалась відносна реабсорбція води, підвищувався на 73,4% концентраційний індекс креатиніну. Під впливом дилтіазему за рахунок зниження реабсорбції води спостерігалась значна діуретична реакція. У щурів з сулемовою нефропатією БКК спричинив зниження ШКФ на 45%, і аналогічним чином змінювався концентраційний індекс креатиніну. На відміну від дії флокаліну, після введення дилтіазему у щурів з хронічним пошкодженням нирок збільшувалась на 48,6% стандартизована за КФ екскреція білка, що разом з пригніченням клубочкових процесів виключало захисний вплив БКК за цих умов експерименту.

Результати досліджень щодо вивчення змін кислоторегулювальної функції нирок після введення модуляторів іонних каналів за умов хронізації сулемової нефропатії надані в таблиці 5.11.

Таблиця 5.11

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

| Показники                                       | Контроль<br>інтактні<br>щери | Сулемова<br>нефропатія          | Сулемова<br>нефропатія<br>та флоккалін           | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем                              |
|-------------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| pH сечі,<br>од                                  | $7,5 \pm 0,10$               | $6,6 \pm 0,09$<br>$p < 0,01$    | $7,4 \pm 0,07$<br>$p1 < 0,001$                   | $7,2 \pm 0,04$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,01$      |
| Екскреція<br>титрованих кислот,<br>мкмоль/2 год | $43,4 \pm 1,82$              | $24,3 \pm 1,66$<br>$p < 0,001$  | $29,8 \pm 1,73$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,05$  | $23,2 \pm 1,41$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,05$                     |
| Екскреція аміаку,<br>мкмоль/2 год               | $97,2 \pm 3,20$              | $67,6 \pm 4,81$<br>$p < 0,01$   | $25,0 \pm 3,52$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ | $161,0 \pm 6,65$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$ |
| Амонійний<br>коефіцієнт, од                     | $1,98 \pm 0,093$             | $2,95 \pm 0,342$<br>$p < 0,05$  | $1,98 \pm 0,961$<br>$p1 = 0,05$                  | $7,09 \pm 0,392$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$ |
| Концентрація $H^+$ в<br>сечі, мкмоль/л          | $0,87 \pm 0,005$             | $0,61 \pm 0,006$<br>$p < 0,001$ | $0,87 \pm 0,004$<br>$p1 < 0,001$                 | $0,85 \pm 0,002$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,01$   |
| Екскреція $H^+$ ,<br>ммоль/2 год                | $4,19 \pm 0,079$             | $2,20 \pm 0,111$<br>$p < 0,001$ | $1,99 \pm 0,244$<br>$p < 0,001$                  | $4,16 \pm 0,179$<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$                  |
| Екскреція<br>$H^+$ /100 мкл КФ                  | $0,85 \pm 0,069$             | $0,56 \pm 0,148$                | $0,63 \pm 0,408$                                 | $2,48 \pm 0,227$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$  |
| Екскреція<br>титрованих<br>кислот/100 мкл КФ    | $10,1 \pm 0,99$              | $7,9 \pm 1,33$                  | $9,6 \pm 2,92$                                   | $14,2 \pm 1,76$<br>$p1 < 0,05$                                      |
| Екскреція аміаку/<br>100 мкл КФ                 | $19,8 \pm 1,60$              | $20,0 \pm 2,86$                 | $8,5 \pm 1,24$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,001$   | $97,4 \pm 10,18$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ ;<br>$p2 < 0,001$ |

За умов хронізації сулемової нефропатії показник рН сечі знижувався, зменшувалась екскреція титрованих кислот і аміаку на 44,1% і 30,5%, відповідно, зростав на 49% амонійний коефіцієнт (див. табл. 5.11). Зменшувалась на 29,9% концентрація іонів водню в сечі, ниркова екскреція протону знижувалась на 47,5%.

Під впливом курсового застосування активатора  $K_{ATF}$  каналів рівень рН у щурів з сулемовою нефропатією підвищувався і практично досягав контрольного значення. Екскреція титрованих кислот дещо зростала, і різниця у порівнянні з нелікованими щурами становила 24,8%. Екскреція аміаку зменшувалась на 61,2%, також цей показник за перерахунку на 100 мкл КФ знижувався на 42,2%. Унаслідок переважання ацидогенезу за умов введення флокаліну амонійний коефіцієнт зменшувався на 32,9% і дорівнював значенню в інтактних щурів.

Після семиденного введення дилтіазему показник рН сечі зростав, однак був нижчим у порівнянні як з контролем, так і з пролікованими флокаліном щурами (див. табл. 5.11). Екскреція титрованих кислот за умов сулемової нефропатії не змінювалась і була на 22,2% менше, ніж після застосування флокаліну. Амонійний коефіцієнт збільшувався в 2,4 разу, порівняно з нелікованими щурами і в 3,5 разу в порівнянні як з групою пролікованих флокаліном, так і з контрольною групою щурів. Вказані зміни засвідчували переважання амоніогенезу над ацидогенезом, що підтверджувалось збільшеними значеннями екскреції амонійних солей під впливом дилтіазему. Так, співставлення різниць з групами нелікованих, пролікованих флокаліном та інтактних щурів показало, що після введення БКК екскреція аміаку відповідно підвищувалась у 2,4 разу, 6,4 разу та 1,6 разу; стандартизований за КФ показник зростав у 4,8 разу, 11,5 разу та 4,9 разу, відповідно. Під впливом дилтіазему за умов хронізації токсичного ураження нирок концентрація іонів водню в сечі на 39,3% збільшувалась, хоча і статистично значимо (на 2,3%) була нижче, ніж у пролікованих флокаліном і інтактних щурів. Разом з тим, у щурів екскреція іонів водню зростала на 89% і вдвічі перевищувала рівень у

щурів, яким вводили флокалін. Стандартизація цього показника за КФ також демонструвала активацію виділення вільних іонів водню нирками після застосування дилтіазему: в послідовності до порівняння різниць (р, р1, р2) екскреція протону збільшувалась у 2,9 разу, 4,4 разу, 3,9 разу.

Оцінка іонорегулювальної функції нирок показала, що при хронізації процесу рівень каліємії зменшувався на 13,5% (табл. 5.12).

Таблиця 5.12

Показники іонорегулювальної функції нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг за умов хронізації сулемової нефропатії у щурів на тлі водного навантаження ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 8$ )

| Показники                                      | Контроль<br>інтактні<br>щури | Сулемова<br>нефропатія           | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін               | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем                              |
|------------------------------------------------|------------------------------|----------------------------------|-----------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| 1                                              | 2                            | 3                                | 4                                                   | 5                                                                   |
| Концентрація $K^+$ в<br>плазмі крові, ммоль/л  | $12,6 \pm 0,23$              | $10,9 \pm 0,61$<br>$p < 0,05$    | $13,7 \pm 0,48$                                     | $13,6 \pm 0,75$                                                     |
| Концентрація $K^+$ в<br>сечі, ммоль/л          | $4,57 \pm 0,711$             | $6,21 \pm 0,793$                 | $4,33 \pm 0,194$<br>$p1 < 0,05$                     | $5,83 \pm 0,222$<br>$p2 < 0,01$                                     |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год              | $20,7 \pm 2,52$              | $18,7 \pm 2,98$                  | $9,6 \pm 0,65$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$       | $28,4 \pm 2,04$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,001$    |
| Концентрація $Na^+$ в<br>плазмі крові, ммоль/л | $130,1 \pm 4,60$             | $122,2 \pm 3,72$                 | $135,8 \pm 6,25$                                    | $137,1 \pm 1,94$                                                    |
| Фільтраційний заряд<br>$Na^+$ , мкмоль/хв      | $30,03 \pm 1,554$            | $37,11 \pm 1,160$<br>$p < 0,05$  | $41,55 \pm 1,180$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$    | $23,83 \pm 2,540$<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,01$                   |
| Екскреторна фракція<br>$Na^+$ , мкмоль/хв      | $0,037 \pm 0,0014$           | $0,033 \pm 0,0007$<br>$p < 0,05$ | $0,006 \pm 0,0005$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,001$ | $0,030 \pm 0,0009$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p2 < 0,001$                  |
| Абсолютна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв | $29,9 \pm 1,55$              | $37,1 \pm 2,37$<br>$p < 0,05$    | $41,5 \pm 3,80$<br>$p < 0,05$                       | $23,8 \pm 2,54$<br>$p2 < 0,001$                                     |
| Концентрація $Na^+$ в<br>сечі, ммоль/л         | $1,21 \pm 0,436$             | $1,01 \pm 0,430$                 | $0,32 \pm 0,016$<br>$p1 < 0,001$                    | $0,75 \pm 0,050$<br>$p2 < 0,001$                                    |
| Концентраційний<br>індекс $Na^+$ , од          | $0,007 \pm 0,0007$           | $0,009 \pm 0,0026$               | $0,002 \pm 0,0006$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p1 < 0,05$   | $0,005 \pm 0,0003$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,01$ ;<br>$p2 < 0,001$ |
| Кліренс $Na^+$ ,<br>мл/2 год · 100 г           | $0,32 \pm 0,004$             | $0,034 \pm 0,0134$               | $0,005 \pm 0,0005$<br>$p < 0,001$ ;<br>$p1 < 0,05$  | $0,026 \pm 0,0020$<br>$p2 < 0,001$                                  |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год             | $4,55 \pm 1,935$             | $3,99 \pm 1,517$                 | $0,71 \pm 0,058$<br>$p1 = 0,05$                     | $3,64 \pm 0,348$<br>$p2 < 0,001$                                    |

Продовження табл. 5.12

| 1                                                    | 2                  | 3                  | 4                                                 | 5                                                                   |
|------------------------------------------------------|--------------------|--------------------|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------|
| Відносна реабсорбція $\text{Na}^+$ , %               | $99,87 \pm 0,054$  | $99,91 \pm 0,040$  | $99,98 \pm 0,001$                                 | $99,86 \pm 0,018$<br>$p_2 < 0,001$                                  |
| Кліренс $\text{Na}^+$ , мл/2 год·100 г               | $0,041 \pm 0,0188$ | $0,034 \pm 0,0134$ | $0,005 \pm 0,0005$<br>$p_1 = 0,05$                | $0,026 \pm 0,0024$<br>$p_2 < 0,001$                                 |
| Проксимальна реабсорбція $\text{Na}^+$ , ммоль/2 год | $3,20 \pm 0,171$   | $3,98 \pm 0,280$   | $4,67 \pm 0,123$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p_1 < 0,05$  | $2,19 \pm 0,288$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p_1 < 0,01$ ;<br>$p_2 < 0,001$ |
| Проксимальна реабсорбція $\text{Na}^+$ /100 мкл КФ   | $10,41 \pm 0,316$  | $10,38 \pm 0,168$  | $12,74 \pm 0,591$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p_1 < 0,01$ | $10,37 \pm 0,284$<br>$p_2 < 0,01$                                   |
| Дистальна реабсорбція $\text{Na}^+$ /100 мкл КФ      | $1,29 \pm 0,056$   | $1,25 \pm 0,069$   | $0,83 \pm 0,042$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p_1 < 0,01$  | $3,31 \pm 0,318$<br>$p < 0,01$ ;<br>$p_1 < 0,01$ ;<br>$p_2 < 0,001$ |
| Екскреція $\text{Na}^+$ /100 мкл КФ                  | $1,67 \pm 0,643$   | $1,33 \pm 0,573$   | $0,23 \pm 0,011$<br>$p < 0,05$                    | $2,21 \pm 0,298$<br>$p_2 < 0,001$                                   |

Застосування флокаліну 7 днів з 30 доби після введення сулеми призводило до зниження калійурезу на 48,% і показник на 63,7% був нижче, ніж у контролі, разом з тим, каліємія досягала рівня інтактних тварин.

У щурів з сулемовою нефропатією на 12% підвищувалось фільтраційне завантаження нефрону іонами натрію. Концентрація іонів натрію в сечі зменшувалась на 68,4%, концентраційний індекс знижувався у 4,5 разу. Натрійурез зменшувався на 82,1%, і аналогічним чином змінювалась екскреторна фракція катіону, кліренс іонів натрію знижувався на 85,3%.

Слід зазначити, що результатом внутрішньониркових механізмів флокаліну була позитивна динаміка показників натрієвого обміну. Так, фільтраційний заряд іонів натрію був вище на 38,4%, екскреторна фракція катіону – нижче на 83,8%, реабсорбована фракція – більше на 38,8%, стандартизований за КФ показник екскреції іонів натрію знижувався на 86,3%. Мала місце пряма кореляційна залежність між абсолютною реабсорбцією іонів натрію з екскрецією креатиніну ( $r=0,845$ ,  $p<0,05$ ).

У порівнянні з інтактними щурами мали місце і вірогідні відмінності показників транспорту іонів натрію в каналцевих відділах нефрону. Проксимальна реабсорбція катіону була вище на 45,9%, стандартизовані за

КФ показники проксимального транспорту іонів натрію були більше на 22,4%, а дистальної реабсорбції – менші на 35,7%. Разом з тим, можна вважати, що збереження іонів натрію в організмі щурів з хронізацією патології було результатом збалансованого впливу флокаліну на процеси каналцевої реабсорбції. Встановлено позитивний кореляційний зв'язок між проксимальною каналцевою реабсорбцією та ШКФ ( $r=0,913$ ,  $p<0,05$ ). Проксимальний транспорт іонів натрію у щурів з сулемовою нефропатією зростав на 17,3%, реабсорбція катіону в дистальному відділі нефрону зменшувалась на 33,3%. Аналіз стандартизованих за об'ємом КФ показників трансканальцевого переносу іонів натрію також засвідчив зростання на 22,7% проксимальної та зниження на 33,6% дистальної реабсорбції електроліту. Після введення активатора  $K_{ATP}$  каналів екскреція креатиніну зростала та була більшою за рівень у інтактних щурів, при цьому прямо-пропорційно корелювали показники концентрації креатиніну в сечі з ШКФ ( $r=0,933$ ,  $p<0,01$ ).

Вплив дилтіазему на калієвий баланс в організмі щурів з моделлю хронізації токсичної нефропатії характеризувався збільшенням на 34,6% концентрації іонів у сечі та зростанням калійурезу на 51,9% (див. табл. 5.12). Калійуретичний ефект дилтіазему був суттєвим і відносно показників у інших досліджуваних груп: у порівнянні з контролем калійурез збільшувався на 37,2%, а у порівнянні з пролікованими флокаліном щурами – на 196%.

Після введення дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією на 35,8% зменшувалось фільтраційне завантаження іонами натрію каналцевого відділу нефрону, концентраційний індекс електроліту знижувався на 44,5%, натрійурез не змінювався (див. табл. 5.12). У порівнянні з інтактними щурами під впливом дилтіазему знижувався на 28,6% концентраційний індекс іонів натрію та на 19% зменшувалась екскреторна фракція електроліту. Разом з тим, співставлення показників натрієвого балансу між пролікованими групами демонструвало натрійуретичну активність дилтіазему. Порівняно з дією флокаліну, фільтраційний заряд іонів натрію зменшувався на 42,7%, однак

концентрація катіону в сечі збільшувалась на 134,3%, концентраційний індекс іонів натрію зростав у 2,5 разу, кліренс іонів натрію, його екскреторна фракція та натрійурез були вище в 5 разів. Відповідно до тенденції змін фільтраційного заряду, абсолютна реабсорбція іонів натрію зменшувалась на 42,3% і суттєво знижувалась його відносна реабсорбція.

Дослідження каналцевих процесів показали, що під впливом дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією зменшувалась на 45% проксимальна реабсорбція іонів натрію. При цьому показник був нижчий на 31,6% за контрольне значення і на 53,2% був менше, ніж під впливом флокаліну. За даних умов експерименту, дилтіазем у значній мірі підвищував дистальний транспорт катіону в функціонуючих нефронах: стандартизований за КФ показник зростав на 164,8% у щурів з патологією нирок і на 166,6% був вищий за контроль. Також статистично значущі різниці перерахованих на 100 мкл КФ показників мали місце в групах пролікованих щурів. Так, порівняно з дією флокаліну, після застосування БКК натрійурез був в 9,6 разу більше, проксимальна реабсорбція іонів натрію менше на 18,7%, а дистальна реабсорбція катіону збільшувалась майже в 4 рази.

Отже, досліджувані модулятори іонних каналів завдяки своїм, власне біологічним, властивостям пригнічують індуковані кальцієвим перевантаженням патологічні реакції. Разом з тим, АКК і БКК різним чином змінювали інтегративне функціонування ренальних процесів на тлі токсичного ураження нирок. Виявлена за допомогою разового введення флокаліну регуляторна участь мембранних  $K_{ATP}$  каналів на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії проявлялася змінами водо-, іоно-, кислоторегулювальної функцій нирок. Про коригувальні властивості флокаліну свідчили інтенсивне зростання ШКФ, зниження ретенційної азотемії, збереження рівня натрій- та каліємії, посилення транстубулярного транспорту іонів натрію, антипротеїнурична дія. Незважаючи на подібність фармакологічних ефектів обох модуляторів іонних каналів, опосередкованих зменшенням внутрішньоклітинного пулу іонів кальцію, ренотропна дія після

разового введення дилтіазему різнилась за характеристикою змін процесів і, відповідно, функцій нирок. Так, ШКФ не змінювалась, а збільшена проксимальна реабсорбція іонів натрію у функціонуючих нефронах не стримувала натрійуретичний ефект препарату. Привертав увагу підвищений калійурез, що зазвичай є застереженням щодо побічної дії терапії серцево-судинними засобами. Разом з тим, слід відзначити, що на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії разове застосування дилтіазему призводило до активації амоніогенезу та до зменшення екскреції білка з сечею.

За умов пролонгації тривалості відкритого стану калієвих каналів семиденним введенням флокаліну, позитивна динаміка традиційних маркерів гострого ураження нирок – креатинінемії та протеїнурії, супроводжувалась відновленням показника рН сечі, зменшенням втрат іонів калію та натрію з організму. Введення за аналогічних умов дилтіазему спричинило лише діуретичну реакцію, зменшення двохгодинної протеїнурії та відновлення рівня рН сечі. Також, активація реабсорбції іонів натрію у дистальному відділі нефрону на тлі зниженої ШКФ не запобігала натрійуретичній дії дилтіазему.

Варто відзначити, що на моделі хронізації процесу в періоді пізньої поліуричної стадії сулемової нефропатії після семиденного введення флокаліну у щурів за умов незмінного об'єму фільтрації знижувався діурез, збільшувалось виділення креатиніну, відновлювалось значення рН сечі, зменшувалась екскреція осмотично активних катіонів. Для нефротропної дії дилтіазему за аналогічних умов введення було характерним підвищення діурезу, зниження ШКФ, активація ацидогенезу, калійуретичний ефект. Пригнічення транспортних процесів у проксимальних каналцях домінувало над компенсаторним посиленням дистальної реабсорбції, що підтверджувалось збільшенням натрій-, калійурезу та протеїнурії під впливом дилтіазему. В той же час, регуляторний вплив флокаліну на іонний баланс, зумовлений покращенням каналцевих процесів та антипротеїнуричний ефект свідчили про цитопротекторні властивості флокаліну в періоді хронізації токсичної нефропатії.



## РОЗДІЛ 6

### ПОРІВНЯЛЬНА ОЦІНКА ФУНКЦІОНАЛЬНОГО СТАНУ НИРОК ПІД ВПЛИВОМ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ГІПОКСИЧНОЇ ГІСТОГЕМІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

Одним із найбільш розповсюджених патологічних станів з одночасним залученням усіх життєво важливих органів є гіпоксія. Завдяки величезним компенсаторним властивостям нирок, впливи гіпоксичних стресорів тривалий час не відображаються на діяльності і гістоструктурі органу внаслідок проявів інших енергодефіцитних ушкоджень, які, насамперед, формують клініку кардіо- та цереброваскулярних дисфункцій. Разом з тим, навіть легкі порушення гомеостатичних ренальних реакцій зумовлюють патофізіологічні механізми незворотних наслідків гіпоксії. Тому перспективним є формування нових напрямків ренальної цитопротекції на підґрунті чіткого уявлення як про функціональний стан нирок, так і про ефективність потенційних нефропротекторів на тлі впливу гіпоксичних чинників.

Для вирішення завдання щодо вивчення ренальних ефектів модуляторів іонних каналів за умов розвитку гіпоксичного ураження нирок експерименти проводили на модифікованій нами моделі, яка поєднувала гемічну і гістотоксичну нефропатію.

Моделювали ГГГН за допомогою підшкірного введення 1% розчину метгемоглобінутворювача нітриту натрію в дозі 50 мг/кг маси тіла і через 30 хвилин вводили внутрішньоочеревинно 0,1% розчин 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг маси тіла. Після введення нітриту натрію в дозі 50 мг/кг розвивається гемічна гіпоксія середнього ступеня важкості [139]; 2,4-динітрофенол є класичним агентом, який викликає розвиток тканинної гіпоксії внаслідок розщеплення процесів окиснення і фосфорилування [145].

Динаміка структурних і функціональних зрушень при гіпоксії, а також і фармакологічної ефективності, взаємопов'язана з станом компенсаторно-адаптивних і патогенетичних реакцій, які залежать від часу з моменту впливу

прогіпоксичних чинників. У зв'язку з цим, дослідження ренальної дії модуляторів іонних каналів проводились за умов початкової стадії розвитку гострого гіпоксичного ураження нирок і в періоді хронізації ГГГН.

### **6.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на функціональний стан нирок за умов початкової стадії розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Дослідження функціонального стану нирок за умов гострої ГГГН проводили після разового та семиденного введення модуляторів іонних каналів за умов індукованого 5% водного діурезу у щурів. Перше внутрішньошлункове введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг здійснювали під час моделювання ГГГН перед введенням 2,4-динітрофенолу.

#### **6.1.1. Функціональний стан нирок після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

У результаті проведених експериментальних досліджень було встановлено, що розвиток ГГГН характеризувався зниженням на 17,% діурезу, збільшенням концентрації креатиніну в сечі, концентраційного індексу та його екскреції на 101,2%, 95,9%, 65,6%, відповідно. Під впливом прогіпоксичних чинників у щурів на 52,4% збільшувалась ШКФ, на 75% зростала відносна реабсорбція води. Концентрація білка в сечі підвищувалась на 152,9%, протеїнурія збільшувалась на 105,4%. Після разового введення флокаліну у щурів з гіпоксичним ушкодженням організму активувалась волюморегулювальна функція нирок і показник діурезу досягав рівня інтактних щурів, а відносна реабсорбція води була вищою за контрольне значення. Спостерігалось посилення екскреторної функції нирок під впливом відкривача  $K_{ATP}$  каналів за умов гострої ГГГН. У порівнянні з інтактними щурами мало місце підвищення більше, ніж на 70% концентраційного індексу креатиніну, його концентрації та екскреції з сечею (табл. 6.1).

Таблиця 6.1

Показники функцій нирок після разового введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг щурам з гострою гістогемічною гіпоксією ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 10$ )

| Показники                                             | Контроль           | ГГН                               | ГГН<br>та флокалін                               | ГГН<br>та дилтіазем               |
|-------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|--------------------------------------------------|-----------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                   | $3,26 \pm 0,147$   | $2,69 \pm 0,164$<br>$p < 0,05$    | $3,35 \pm 0,260$                                 | $2,99 \pm 0,503$                  |
| Концентрація<br>креатиніну в плазмі<br>крові, ммоль/л | $36,0 \pm 8,00$    | $31,5 \pm 3,75$                   | $25,5 \pm 4,00$                                  | $39,0 \pm 8,02$                   |
| Концентрація<br>креатиніну в сечі,<br>ммоль/л         | $0,82 \pm 0,106$   | $1,65 \pm 0,085$<br>$p < 0,01$    | $1,40 \pm 0,139$<br>$p < 0,01$                   | $1,36 \pm 0,154$<br>$p < 0,05$    |
| Екскреція<br>креатиніну,<br>мкмоль/2 год              | $2,65 \pm 0,268$   | $4,39 \pm 0,140$<br>$p < 0,001$   | $4,72 \pm 0,820$<br>$p < 0,05$                   | $3,91 \pm 0,402$<br>$p < 0,05$    |
| Концентраційний<br>індекс креатиніну,<br>од           | $28,2 \pm 6,09$    | $55,4 \pm 4,83$<br>$p < 0,01$     | $57,5 \pm 4,20$<br>$p < 0,01$                    | $54,0 \pm 18,73$                  |
| Клубочкова<br>фільтрація,<br>мкл/хв                   | $752,2 \pm 157,93$ | $1146,3 \pm 68,95$<br>$p < 0,05$  | $1560,0 \pm 166,04$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $1204,6 \pm 382,38$               |
| Відносна<br>реабсорбція води,<br>%                    | $95,41 \pm 1,003$  | $98,11 \pm 0,159$<br>$p < 0,05$   | $98,21 \pm 0,135$<br>$p < 0,05$                  | $96,86 \pm 0,708$                 |
| Концентрація білка<br>в сечі, г/л                     | $0,017 \pm 0,0018$ | $0,043 \pm 0,0034$<br>$p < 0,001$ | $0,020 \pm 0,0022$<br>$p1 < 0,001$               | $0,024 \pm 0,0049$<br>$p1 < 0,01$ |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год                          | $0,056 \pm 0,0062$ | $0,115 \pm 0,0084$<br>$p < 0,001$ | $0,067 \pm 0,0107$<br>$p1 < 0,01$                | $0,067 \pm 0,0134$<br>$p1 < 0,01$ |
| Екскреція білка<br>мг/100 мкл КФ                      | $0,008 \pm 0,0012$ | $0,012 \pm 0,0023$                | $0,004 \pm 0,0004$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$  | $0,009 \pm 0,0025$                |

Примітка. Достовірність відмінностей (тут і надалі в таблицях 6.2-6.9):

$p$  – з контрольною групою (інтактні щури),  $p1$  – з гіпоксичною нефропатією,  $p2$  – між групами щурів з флокаліном і дилтіаземом.

Показник ШКФ збільшувався на 36,1%, порівняно з нелікованою групою і на 107,4%, порівняно з інтактними щурами. Оцінка протеїнурії показала, що активація  $K_{ATP}$  каналів призводила до зниження у щурів з ГГН концентрації білка в сечі на 53,5% і до зменшення на 41,8% екскреція білка, а перерахований на 100 мкл КФ показник протеїнурії знижувався на 66,7%.

Під впливом разового застосування дилтіазему у щурів з ГГГН концентрація в сечі та екскреція креатиніну лишались вищими, ніж у інтактних щурів на 65,8% та на 47,2%, ШКФ не змінювалась. Концентрація білка в сечі знижувалась на 44,2%, екскреція білка зменшувалась на 42,8%, однак, на відміну від дії флокаліну, стандартизована за клубочковою фільтрацією протеїнурія у щурів з ГГГН не змінювалась.

Кислоторегулювальна функція нирок через 2 години після моделювання ГГГН характеризувалась підвищенням показника рН сечі (табл. 6.2).

Таблиця 6.2

Показники кислоторегулювальної функції нирок  
після разового введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг  
щурам з гострою гістогемічною гіпоксією ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 10$ )

| Показники                                       | Контроль          | ГГГН                            | ГГГН<br>та флокалін                           | ГГГН<br>та дилтіазем                                          |
|-------------------------------------------------|-------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| рН сечі,<br>од                                  | $6,7 \pm 0,13$    | $7,9 \pm 0,08$<br>$p < 0,05$    | $6,8 \pm 0,11$                                | $6,1 \pm 0,11$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,001$<br>$p2 < 0,01$   |
| Екскреція<br>титрованих кислот,<br>мкмоль/2 год | $85,9 \pm 8,27$   | $126,2 \pm 6,60$<br>$p < 0,01$  | $83,3 \pm 18,41$<br>$p1 < 0,05$               | $141,0 \pm 7,65$<br>$p < 0,01$<br>$p2 < 0,05$                 |
| Екскреція аміаку,<br>мкмоль/год                 | $36,1 \pm 2,39$   | $79,8 \pm 1,94$<br>$p < 0,001$  | $43,5 \pm 6,97$<br>$p1 < 0,001$               | $47,5 \pm 3,20$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,001$                 |
| Амонійний<br>коефіцієнт, од                     | $0,43 \pm 0,023$  | $0,63 \pm 0,019$<br>$p < 0,001$ | $0,57 \pm 0,072$                              | $0,34 \pm 0,018$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,001$<br>$p2 < 0,01$ |
| Концентрація $H^+$<br>в сечі, мкмоль/л          | $0,82 \pm 0,008$  | $0,84 \pm 0,005$<br>$p < 0,05$  | $0,83 \pm 0,007$                              | $0,78 \pm 0,008$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,001$<br>$p2 < 0,01$ |
| Екскреція $H^+$ ,<br>нмоль/2 год                | $2,69 \pm 0,150$  | $2,28 \pm 0,152$                | $2,71 \pm 0,195$                              | $2,37 \pm 0,420$                                              |
| Екскреція $H^+$<br>/100 мкл КФ                  | $0,45 \pm 0,098$  | $0,23 \pm 0,044$                | $0,17 \pm 0,012$<br>$p < 0,05$                | $0,29 \pm 0,070$                                              |
| Екскреція<br>титрованих кислот<br>/100 мкл КФ   | $14,06 \pm 3,044$ | $12,99 \pm 2,256$               | $5,47 \pm 1,112$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ | $18,23 \pm 3,431$<br>$p2 < 0,01$                              |
| Екскреція аміаку<br>/100 мкл КФ                 | $5,84 \pm 1,072$  | $8,29 \pm 1,426$                | $2,89 \pm 0,557$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$ | $5,87 \pm 1,050$<br>$p2 < 0,05$                               |

Екскреція титрованих кислот збільшувалась на 46,9%, виділення аміаку зростало на 120,7%, амонійний коефіцієнт підвищувався на 46,5%. Збільшувалась на 2,4% концентрація іонів водню в сечі, а екскреція вільних іонів водню не змінювалась.

Після разової фармакологічної активації  $K_{ATF}$  каналів у щурів з моделлю гострої гіпоксії значення рН сечі досягало контрольного рівня. В порівнянні з нелікованими щурами екскреція титрованих кислот і аміаку під дією флокаліну знижувалась на 34,1% і 45,4%, відповідно, що практично наблизило показники до величин контрольної групи. Стандартизовані за КФ показники кислотно-лужного балансу під впливом флокаліну були нижчими за їх рівень у інтактних щурів. Виділення нирками іонів водню у вільному стані зменшувалось на 62,3%, екскреція кислот, що титруються – на 61,1%, екскреція аміаку – на 50,6%. Співставлення з групою нелікованих щурів показало, що після введення флокаліну екскреції титрованих кислот і аміаку знижувались на 57,9% і на 65,1%.

Під впливом дилтіазему у щурів з гострим гіпоксичним ураженням нирок зменшувався рівень рН сечі, знижувались екскреція аміаку та амонійний коефіцієнт на 40,5% та на 46,1%, відповідно, концентрація іонів водню в сечі падала на 7,2% (див. табл. 6.2). У порівнянні з ефектами флокаліну, після застосування БКК екскреція титрованих кислот зростала на 69,3%, виділення аміаку зменшувалось на 9,2%, амонійний коефіцієнт понижувався на 40,4%, концентрація іонів водню в сечі зменшувалась на 63,8%. Вказані відмінності разом зі змінами стандартизованих за КФ показників (екскреція титрованих кислот і аміаку збільшувались на 66,7% і на 103,1%) відображались меншим значенням рН сечі, порівняно з пролікованими флокаліном щурами. Співставлення з контрольними даними показало збільшення екскреції титрованих кислот на 33,9%, аміаку – на 31,6%, зниження амонієвого коефіцієнту і екскреції вільних іонів водню, відповідно на 21% і 5%, що відобразилось суттєвим зниженням рН сечі.

На початковій стадії розвитку гострої ГГН на 48,4% зростала концентрація іонів калію в плазмі крові (табл. 6.3).

Таблиця 6.3

Показники іонорегулювальної функції нирок  
після разового введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг  
щурам з гострою гістогемічною гіпоксією ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 10$ )

| Показники                                             | Контроль           | ГГН                              | ГГН<br>та флокалін                             | ГГН<br>та дилтіазем              |
|-------------------------------------------------------|--------------------|----------------------------------|------------------------------------------------|----------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в<br>плазмі крові,<br>ммоль/л      | $9,37 \pm 0,268$   | $13,91 \pm 0,277$<br>$p < 0,001$ | $12,29 \pm 0,687$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $11,33 \pm 1,083$<br>$p1 < 0,05$ |
| Концентрація $K^+$ в<br>сечі, ммоль/л                 | $13,08 \pm 1,54$   | $28,5 \pm 6,75$<br>$p < 0,05$    | $23,6 \pm 0,94$<br>$p < 0,001$                 | $21,66 \pm 1,666$<br>$p < 0,01$  |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                     | $42,35 \pm 4,892$  | $75,18 \pm 12,012$<br>$p < 0,05$ | $77,91 \pm 8,607$<br>$p < 0,01$                | $62,58 \pm 8,220$<br>$p < 0,05$  |
| Концентрація $Na^+$ в<br>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<br>фракція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв         | $107,1 \pm 25,20$  | $162,9 \pm 8,49$<br>$p < 0,05$   | $220,2 \pm 22,58$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ | $159,2 \pm 50,76$                |
| Концентрація $Na^+$ в<br>сечі, ммоль/л                | $0,61 \pm 0,088$   | $1,20 \pm 0,258$<br>$p < 0,05$   | $0,86 \pm 0,131$                               | $0,88 \pm 0,238$                 |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год                    | $1,97 \pm 0,287$   | $3,25 \pm 0,392$<br>$p < 0,05$   | $2,77 \pm 0,453$                               | $2,78 \pm 0,890$                 |
| Екскреторна фракція<br>$Na^+$ , мкмоль/хв             | $0,016 \pm 0,0023$ | $0,026 \pm 0,0039$<br>$p < 0,05$ | $0,023 \pm 0,0037$                             | $0,023 \pm 0,0074$               |
| Абсолютна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв        | $107,1 \pm 25,21$  | $162,9 \pm 10,55$<br>$p < 0,05$  | $220,2 \pm 22,58$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $159,1 \pm 50,75$                |
| Концентраційний<br>індекс $Na^+$ , од                 | $0,004 \pm 0,0007$ | $0,008 \pm 0,0006$<br>$p < 0,01$ | $0,006 \pm 0,0009$                             | $0,006 \pm 0,0015$               |
| Кліренс $Na^+$ ,<br>мл/2 год                          | $0,014 \pm 0,0024$ | $0,022 \pm 0,0027$<br>$p < 0,05$ | $0,019 \pm 0,0031$                             | $0,020 \pm 0,0058$               |
| Кліренс вільної від<br>іонів натрію води,<br>мл/2 год | $3,25 \pm 0,148$   | $2,66 \pm 0,159$<br>$p < 0,05$   | $3,24 \pm 0,258$                               | $2,97 \pm 0,498$                 |
| Проксимальна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год   | $12,40 \pm 3,012$  | $19,17 \pm 1,103$<br>$p < 0,05$  | $25,96 \pm 2,684$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $18,70 \pm 6,098$                |
| Дистальна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год     | $455,9 \pm 34,08$  | $380,5 \pm 10,34$<br>$p < 0,05$  | $457,9 \pm 38,65$                              | $395,3 \pm 66,44$                |

Концентрація іонів калію в сечі збільшувалась на 118%, калійурез підвищувався на 77,5%. Під впливом флокаліну та дилтіазему у щурів з ГГН

концентрація іонів калію в плазмі крові знижувалась на 11,7% і 18,6%, відповідно. Однак, значення каліємії, концентрації в сечі та екскреції іонів калію після введення обох модуляторів іонних каналів лишались вищими за контрольний рівень.

Після введення прогіпоксичних чинників у щурів підвищувався на 52% фільтраційний заряд іонів натрію, концентрація в сечі та концентраційний індекс катіону збільшувались на 96,7% і на 100%. Екскреція, екскреторна фракція та кліренс іонів натрію зростали відповідно на 65%, 62,5% і 57,1%, а виділення осмотично вільної води змешувалось на 18,2%. Аналіз транспорту іонів натрію показав, що у щурів з ГГН проксимальна реабсорбція збільшувалась на 54,6%, дистальна реабсорбція зменшувалась на 16,6%, абсолютна реабсорбція збільшувалась на 52,1%.

Показники стану натрієвого балансу після застосування дилтіазему не мали статистично значимих відмінностей. Однак, під впливом флокаліну зростав фільтраційний заряд іонів натрію на 35,2% у щурів з ГГН і був на 105,5% вище, ніж в контрольній групі. Крім цього, за умов активації  $K_{ATP}$  каналів абсолютна і проксимальна реабсорбція іонів натрію у щурів з ГГН збільшувалась на 35,2% і на 51,7%, а підвищення цих значень у порівнянні з інтактними щурами становило 105,6% і 109,3%, відповідно.

Встановлені позитивні кореляційні зв'язки між ШКФ і абсолютною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,995$ ,  $p<0,0001$ ), між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,848$ ,  $p<0,05$ ) слугували на користь ефективності флокаліну за умов ГГН.

#### **6.1.2. Функціональний стан нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Для функціонального стану нирок на сьомий день розвитку ГГН було характерно підвищення діурезу на 23,3%, концентрації креатиніну в сечі – на 29,3%, а екскреції ендogenous креатиніну – на 61,9%; концентрація білка в

сечі збільшувалась у 9,5 разу, екскреція зростала в 5,6 разу, а стандартизована за КФ показник протеїнурія підвищувався в 5,3 разу (табл. 6.4).

Таблиця 6.4

Показники функцій нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на початковій стадії розвитку гострої гістогемічної гіпоксії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                           | Контроль           | ГГГН                              | ГГГН<br>та<br>флокалін            | ГГГН<br>та дилтіазем              |
|-----------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год.                                | 3,0 $\pm$ 0,15     | 3,7 $\pm$ 0,16<br>$p < 0,05$      | 3,6 $\pm$ 0,21                    | 3,7 $\pm$ 0,13<br>$p < 0,05$      |
| Концентрація<br>креатиніну плазми крові,<br>ммоль/л | 75,8 $\pm$ 3,66    | 85,7 $\pm$ 7,44                   | 84,8 $\pm$ 4,91                   | 89,4 $\pm$ 4,96                   |
| Концентрація<br>креатиніну<br>в сечі, ммоль/л       | 0,92 $\pm$ 0,015   | 1,19 $\pm$ 0,071<br>$p < 0,01$    | 1,04 $\pm$ 0,075                  | 1,23 $\pm$ 0,070<br>$p < 0,01$    |
| Екскреція креатиніну,<br>мкмоль/л                   | 2,76 $\pm$ 0,208   | 4,47 $\pm$ 0,335<br>$p < 0,01$    | 3,79 $\pm$ 0,268<br>$p < 0,05$    | 4,62 $\pm$ 0,378<br>$p < 0,05$    |
| Клубочкова фільтрація,<br>мкл/хв.                   | 422,2 $\pm$ 10,06  | 457,9 $\pm$ 12,15                 | 377,9 $\pm$ 39,31                 | 438,6 $\pm$ 40,33                 |
| Концентрація білка<br>в сечі, г/л                   | 0,004 $\pm$ 0,0006 | 0,038 $\pm$ 0,0038<br>$p < 0,001$ | 0,021 $\pm$ 0,0010<br>$p < 0,001$ | 0,028 $\pm$ 0,0022<br>$p < 0,001$ |
| Екскреція білка,<br>мг/2 год·100 г                  | 0,013 $\pm$ 0,0005 | 0,073 $\pm$ 0,0170<br>$p < 0,01$  | 0,037 $\pm$ 0,0041<br>$p < 0,01$  | 0,053 $\pm$ 0,0088<br>$p < 0,01$  |
| Екскреція білка /100 мкл<br>КФ                      | 0,003 $\pm$ 0,0005 | 0,016 $\pm$ 0,0012<br>$p < 0,001$ | 0,010 $\pm$ 0,0014<br>$p < 0,05$  | 0,012 $\pm$ 0,0020<br>$p < 0,01$  |

Після введення 7 днів флокаліну і дилтіазему у щурів з ГГГН діурез, концентрація креатиніну в плазмі крові та сечі, не змінювались. Спостерігалась тенденція до зниження ШКФ, завдяки яким показники вірогідно не відрізнялись від контролю. Антипротеїнуричну дію флокаліну засвідчили знижена на 44,8% концентрація білка в сечі, зменшена на 62,5% стандартизована за КФ екскреція білка, а також негативний кореляційний зв'язок між цим показником і ШКФ ( $r = -0,865$ ,  $p < 0,05$ ).

Застосування дилтіазему привело до зменшення у щурів з ГГГН концентрації білка в сечі на 26,4%. На меншу захисну дію БКК вказували більший вміст білка в сечі, порівняно з дією флокаліну, і відсутність антипротеїнуричного ефекту.



Динаміка змін кислоторегулювальної функції нирок на сьомий день розвитку ГГН характеризувалась збільшенням рівня рН сечі, підвищенням екскреції титрованих кислот і аміаку на 55% і на 121,8%, зростанням амонійного коефіцієнту в 1,4 разу (табл. 6.5). Після введення 7 днів флокаліну у щурів з ГГН екскреція титрованих кислот зменшувалась на 23,3%, амонійний коефіцієнт збільшувався на 74,6%, екскреція аміаку була втричі вище, ніж у інтактних щурів. Під впливом дилтіазему спостерігалась аналогічна тенденція змін з більш вираженими, ніж після застосування флокаліну, різницями показників між групами з ГГН. Екскреція аміаку та амонійний коефіцієнт збільшувались відповідно на 48,2% і 21%, екскреція титрованих кислот зменшувалась вже на 33,9% і цей показник за перерахунку на 100 мкл КФ знижувався на 46%. Переважний вплив дилтіазему на кислоторегулювальну функцію нирок також засвідчувало співставлення показників амоніогенезу з контрольними даними: екскреція аміаку та амонійний коефіцієнт зростали втричі.

Таблиця 6.5

Показники кислоторегулювальної функції нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на початковій стадії розвитку гострої гістогемічної гіпоксії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 10$ )

| Показники                                       | Контроль         | ГГН                            | ГГН<br>та флокалін                            | ГГН<br>та дилтіазем                            |
|-------------------------------------------------|------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|------------------------------------------------|
| рН сечі,<br>од                                  | $7,2 \pm 0,14$   | $7,9 \pm 0,10$<br>$p < 0,01$   | $7,9 \pm 0,06$<br>$p < 0,01$                  | $7,9 \pm 0,02$<br>$p < 0,01$                   |
| Екскреція<br>титрованих кислот,<br>мкмоль/2 год | $15,2 \pm 1,26$  | $23,6 \pm 1,64$<br>$p < 0,01$  | $18,1 \pm 1,35$<br>$p1 < 0,05$                | $15,6 \pm 0,37$<br>$p1 < 0,01$                 |
| Екскреція аміаку,<br>мкмоль/2 год               | $26,5 \pm 2,35$  | $58,8 \pm 2,84$<br>$p < 0,01$  | $75,8 \pm 9,23$<br>$p < 0,01$                 | $87,1 \pm 2,53$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,001$ |
| Амонійний<br>коефіцієнт,<br>од                  | $1,77 \pm 0,121$ | $2,52 \pm 0,129$<br>$p < 0,01$ | $4,40 \pm 0,765$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ | $5,58 \pm 0,117$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,05$ |
| Екскреція<br>титрованих кислот<br>/100 мкл КФ   | $3,83 \pm 0,461$ | $5,81 \pm 0,930$               | $4,90 \pm 0,376$                              | $3,72 \pm 0,256$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,05$ |

Іонорегулювальна функція нирок у щурів через сім днів після моделювання ГГН характеризувалась підвищенням рівня натріємії на 15,8%, каліємії – на 59,5%, концентрації іонів калію в сечі – на 78,5%, калійурезу – на 121,3% (табл. 6.6).

Таблиця 6.6

Показники іонорегулювальної функції нирок щурів  
після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг на  
початковій стадії гострої гістогемічної гіпоксії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                           | Контроль           | ГГН                             | ГГН<br>та флокалін                            | ГГН<br>та дилтіазем                                          |
|-----------------------------------------------------|--------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Концентрація $K^+$ в<br>плазмі крові,<br>ммоль/л    | $8,9 \pm 0,13$     | $14,2 \pm 0,66$<br>$p < 0,001$  | $11,6 \pm 0,73$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$  | $14,4 \pm 0,41$<br>$p < 0,001$<br>$p2 < 0,001$               |
| Концентрація $K^+$ в<br>сечі, ммоль/л               | $5,6 \pm 0,34$     | $10,0 \pm 1,91$<br>$p < 0,05$   | $4,8 \pm 0,41$<br>$p1 < 0,05$                 | $6,2 \pm 0,68$                                               |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                   | $16,9 \pm 2,15$    | $37,4 \pm 0,89$<br>$p < 0,001$  | $17,2 \pm 1,27$<br>$p1 < 0,01$                | $22,7 \pm 2,03$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,05$ |
| Концентрація $Na^+$ в<br>плазмі крові,<br>ммоль/л   | $125,5 \pm 0,90$   | $145,4 \pm 1,94$<br>$p < 0,001$ | $137,5 \pm 2,08$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $149,5 \pm 1,80$<br>$p < 0,001$<br>$p2 < 0,01$               |
| Фільтраційна<br>фракція $Na^+$ ,<br>мкмоль/хв       | $53,2 \pm 6,36$    | $81,0 \pm 19,59$                | $53,0 \pm 20,67$                              | $65,7 \pm 6,32$                                              |
| Концентрація $Na^+$ в<br>сечі, ммоль/л              | $0,27 \pm 0,037$   | $0,38 \pm 0,055$                | $0,22 \pm 0,011$<br>$p1 < 0,05$               | $0,30 \pm 0,020$<br>$p2 < 0,01$                              |
| Екскреція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год                  | $1,02 \pm 0,188$   | $1,44 \pm 0,210$                | $0,80 \pm 0,620$<br>$p1 < 0,05$               | $1,10 \pm 0,056$                                             |
| Екскреторна фракція<br>$Na^+$ , мкмоль/хв           | $0,008 \pm 0,0015$ | $0,012 \pm 0,0018$              | $0,007 \pm 0,0005$<br>$p1 < 0,05$             | $0,009 \pm 0,0004$<br>$p2 < 0,01$                            |
| Дистальна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>мкмоль/2 год   | $456,9 \pm 70,68$  | $543,2 \pm 20,78$               | $502,7 \pm 33,94$                             | $555,5 \pm 17,62$                                            |
| Проксимальна<br>реабсорбція $Na^+$ ,<br>ммоль/2 год | $5,54 \pm 0,88$    | $7,4 \pm 1,11$                  | $5,8 \pm 0,70$                                | $7,32 \pm 0,74$                                              |

Після введення 7 днів флокаліну концентрація іонів калію та екскреція цього катіону зменшувались на 52% і 54,1%. Каліємія під впливом флокаліну на 33,3% перевищувала контрольний рівень, однак у порівнянні з нелікованими щурами була на 18,4% нижче. Аналогічним чином змінювалась

концентрація іонів натрію в плазмі крові: під впливом флокаліну показник на 9,6% був вищим за контроль, але на 5,5% нижчим за значення у щурів з ГГГН. Концентрація іонів натрію в сечі за умов початкової стадії ГГГН після дії відкривача  $K_{ATF}$  каналів зменшувалась на 42,2%, натрійурез знижувався на 44,5%. Мав місце прямий кореляційний зв'язок між ШКФ і проксимальним транспортом іонів натрію ( $r=0,996$ ,  $p<0,001$ ). Про збереження іонів натрію, на тлі відсутності значущих змін каналцевого транспорту катіону у щурів з гіпоксичним ураженням нирок, свідчило зниження на 41,7% екскреторної фракції катіону під впливом флокаліну.

Після введення 7 днів дилтіазему не змінювався рівень каліємії у щурів з ГГГН і значення було вище, ніж під впливом флокаліну на 24,1%. Концентрація іонів калію в сечі під впливом дилтіазему не змінювалась, калійурез знижувався у порівнянні з нелікованими щурами на 39,4%. Однак, екскреція іонів калію лишалась вище на 34,3%, ніж у інтактної групи і перевищувала значення у щурів з флокаліном на 40%. Дилтіазем не змінював трансканальцевий транспорт іонів натрію, разом з тим, порівняно з дією флокаліну, проявляв менший коригувальний вплив на натріємію і натрійурез.

## **6.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на функціональний стан нирок за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Дослідження функціонального стану нирок за умов хронізації гіпоксичної нефропатії, спричиненої нітритом натрію та 2,4-динітрофенолом, проводили після семиденного введення модуляторів іонних каналів за умов індукованого водного діурезу у щурів. Перше внутрішньошлункове введення флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг здійснювали на тридцять добу від дня моделювання комбінованого гострого гіпоксичного ураження нирок.

Через 30 днів у щурів після дії прогіпоксичних чинників діурез був знижений на 10,5%, концентраційний індекс креатиніну – на 29,5%, клубочкова фільтрація – на 36,3%, концентрація білка в сечі підвищувалась на

44,4%, екскреція білка збільшувалась на 27,3%, а стандартизована за 100 мкл КФ протеїнурія зростала на 94,4% (табл. 6.7).

Таблиця 6.7

Показники функцій нирок щурів після введення 7 днів  
флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг за умов хронізації гіпоксичної  
гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники                                                 | Контроль           | ГГГН                              | ГГГН<br>та флокалін                             | ГГГН<br>та дилтіазем                                          |
|-----------------------------------------------------------|--------------------|-----------------------------------|-------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Діурез,<br>мл/2 год                                       | $4,8 \pm 0,12$     | $4,3 \pm 0,18$<br>$p < 0,05$      | $4,4 \pm 0,08$<br>$p < 0,05$                    | $4,4 \pm 0,21$                                                |
| Концентрація<br>креатиніну в<br>плазмі крові,<br>мкмоль/л | $73,2 \pm 9,48$    | $90,6 \pm 2,88$                   | $79,5 \pm 3,00$<br>$p1 < 0,05$                  | $108,0 \pm 4,00$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,001$ |
| Концентрація<br>креатиніну в сечі,<br>ммоль/л             | $0,89 \pm 0,073$   | $0,82 \pm 0,031$                  | $1,32 \pm 0,094$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,001$  | $0,95 \pm 0,106$<br>$p2 < 0,05$                               |
| Концентраційний<br>індекс<br>креатиніну, од               | $12,9 \pm 1,18$    | $9,1 \pm 0,47$<br>$p < 0,01$      | $16,7 \pm 1,16$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,001$   | $8,7 \pm 0,75$<br>$p < 0,05$<br>$p2 < 0,001$                  |
| Екскреція<br>креатиніну,<br>мкмоль/2 год                  | $4,3 \pm 0,39$     | $3,5 \pm 0,23$                    | $5,8 \pm 0,50$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$     | $4,2 \pm 0,57$<br>$p2 < 0,05$                                 |
| Відносна<br>реабсорбція води,<br>%                        | $91,83 \pm 0,702$  | $88,84 \pm 0,632$<br>$p < 0,01$   | $93,85 \pm 0,410$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,001$ | $88,00 \pm 1,141$<br>$p < 0,05$<br>$p2 < 0,001$               |
| Концентрація<br>білка в сечі, г/л                         | $0,018 \pm 0,0013$ | $0,026 \pm 0,0009$<br>$p < 0,001$ | $0,023 \pm 0,0013$<br>$p < 0,05$                | $0,028 \pm 0,0019$<br>$p < 0,001$<br>$p2 < 0,05$              |
| Екскреція білка,<br>мг/2год                               | $0,088 \pm 0,0054$ | $0,112 \pm 0,0022$<br>$p < 0,01$  | $0,102 \pm 0,0047$<br>$p1 < 0,05$               | $0,129 \pm 0,0083$<br>$p < 0,01$<br>$p2 < 0,05$               |
| Екскреція білка,<br>мг/100мкл КФ                          | $0,018 \pm 0,0023$ | $0,035 \pm 0,0026$<br>$p < 0,01$  | $0,017 \pm 0,0014$<br>$p1 < 0,001$              | $0,042 \pm 0,0043$<br>$p < 0,001$<br>$p2 < 0,001$             |

Після введення протягом 7 днів флокаліну у щурів з гіпоксичним ураженням організму креатинінемія зменшувалась на 12,3%, концентрація креатиніну в сечі, концентраційний індекс і екскреція креатиніну збільшувались, відповідно, на 70%, 26,4% і на 18,7%. Діурез під впливом активатора  $K_{ATP}$  каналів лишався нижчим за контроль, відносна реабсорбція води збільшувалась.

Під впливом дилтіазему креатинінемія зростала, відповідно, на 19,2%, на 47,2% і на 35,8% у порівнянні з нелікованими, контрольними і щурами, яким вводили флокалін. Виділення залишкового азоту після введення БКК не змінювалось, а у порівнянні з флокаліном зниження концентрації креатиніну в сечі, його концентраційного індексу та екскреції становило, відповідно, 35,7%, 48% і на 27,6%. Діурез після застосування дилтіазему не змінювався, а відносна реабсорбція води була нижче, ніж у контролі. Модулятори іонних каналів не впливали на концентрацію в сечі білка. Однак після введення флокаліну екскреція білка за дві години та стандартизований за КФ показник протеїнурії у щурів з ГГГН зменшувались, відповідно, на 9% і 51,5%. Мав місце непрямий кореляційний зв'язок ШКФ з стандартизованою за 100 мкл КФ протеїнурією ( $r=-0,901$ ,  $p<0,05$ ). На моделі хронізації ГГГН не проявлявся антипротеїнуричний ефект дилтіазему: під впливом БКК протеїнурія за 2 години збільшувалась на 26,4%, а екскреція білка функціонуючими нефронами зростала в 2,5 разу. Вказані відмінності в дії модуляторів іонних каналів були пов'язані з неоднаковими змінами фільтраційних процесів у досліджуваних щурів, що демонстрували показники ШКФ (рис. 6.1).

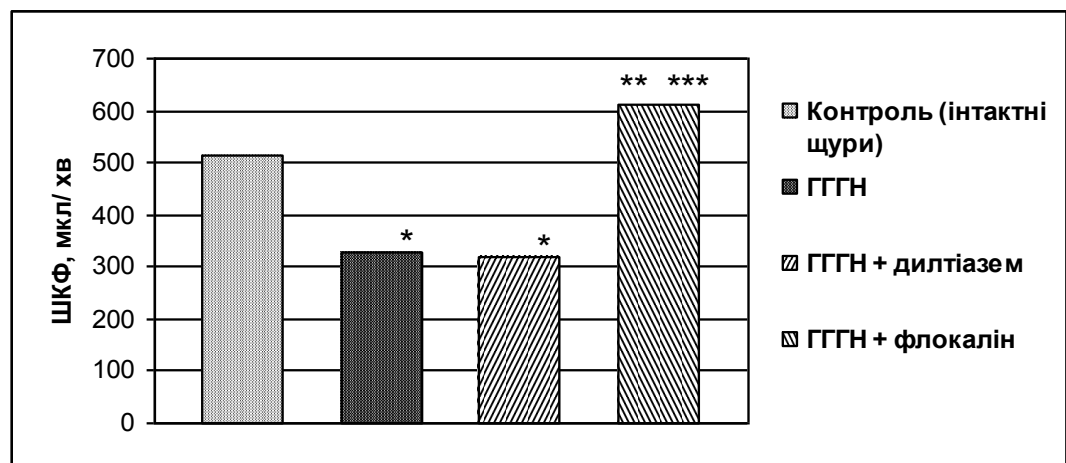


Рис. 6.1. Вплив дилтіазему та флокаліну на ШКФ за умов хронізації ГГГН у щурів.

Примітка. Достовірність різниць порівняно: \* – з контролем ( $p<0,01$ ), \*\* – з ГГГН ( $p_1<0,001$ ), \*\*\* – між пролікованими групами ( $p_2<0,001$ ).

У щурів з моделлю хронічного пошкодження нирок ШКФ зменшувалась до  $327,9 \pm 25,68$  мкмоль/хв проти  $514,6 \pm 39,26$  мкмоль/хв у контролі. Після введення флокаліну показник зростав до  $610,8 \pm 51,41$  мкмоль/хв і різниця з контролем становила 86,2%. Під впливом дилтіазему значення ШКФ становило  $318,3 \pm 30,23$  мкмоль/хв і цей показник був на 47,9% нижче, ніж у пролікованих флокаліном щурів.

За умов хронізації ГГГН екскреція титрованих кислот і аміаку зменшувались на 48,1% і на 23,5%, відповідно, амонійний коефіцієнт зростав у 1,5 разу, екскреція іонів водню зменшувалась на 9,8%, а стандартизована за КФ екскреція протону збільшувалась на 3,6% (табл. 6.8).

Таблиця 6.8

Показники кислоторегулювальної функції нирок щурів  
після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг за умов  
хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                 | Контроль         | ГГГН                            | ГГГН та флокалін                                 | ГГГН та дилтіазем                              |
|-------------------------------------------|------------------|---------------------------------|--------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| рН сечі, од                               | $7,5 \pm 0,10$   | $7,6 \pm 0,08$                  | $7,3 \pm 0,12$                                   | $7,5 \pm 0,11$                                 |
| Екскреція титрованих кислот, мкмоль/2 год | $49,3 \pm 1,82$  | $25,6 \pm 1,65$<br>$p < 0,001$  | $50,8 \pm 7,56$<br>$p1 < 0,01$                   | $34,0 \pm 5,15$<br>$p < 0,05$                  |
| Екскреція аміаку, мкмоль/2 год            | $97,2 \pm 3,20$  | $74,4 \pm 3,87$<br>$p < 0,001$  | $232,4 \pm 42,32$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$   | $78,3 \pm 5,75$<br>$p < 0,01$<br>$p2 < 0,01$   |
| Амонійний коефіцієнт, од                  | $1,98 \pm 0,093$ | $2,97 \pm 0,195$<br>$p < 0,001$ | $4,76 \pm 0,831$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$    | $2,47 \pm 0,268$<br>$p2 < 0,05$                |
| Концентрація $H^+$ в сечі, мкмоль/л       | $0,87 \pm 0,005$ | $0,88 \pm 0,004$                | $0,86 \pm 0,007$                                 | $0,87 \pm 0,006$                               |
| Екскреція $H^+$ , нмоль/2 год             | $4,19 \pm 0,079$ | $3,78 \pm 0,153$<br>$p < 0,05$  | $3,79 \pm 0,050$<br>$p < 0,01$                   | $3,83 \pm 0,160$<br>$p < 0,05$                 |
| Екскреція $H^+$ /100 мкл КФ               | $0,85 \pm 0,069$ | $1,17 \pm 0,066$<br>$p < 0,01$  | $0,63 \pm 0,047$<br>$p < 0,05$ ;<br>$p1 < 0,001$ | $1,25 \pm 0,118$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,001$ |
| Екскреція титрованих кислот /100 мкл КФ   | $10,1 \pm 0,99$  | $8,0 \pm 0,83$                  | $8,18 \pm 0,75$                                  | $10,9 \pm 1,51$                                |
| Екскреція аміаку /100 мкл КФ              | $19,8 \pm 1,60$  | $23,0 \pm 1,24$                 | $38,0 \pm 6,54$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$     | $25,3 \pm 2,46$                                |

Під впливом флокаліну у щурів з хронізацією ГГН екскреція титрованих кислот підвищувалась на 98,5%, екскреція іонів водню і рН сечі не змінювались. Екскреція аміаку і амонійний коефіцієнт зростали на 212% і на 60,3%, стандартизована за клубочковою фільтрацією екскреція іонів водню зменшувалась на 46,2%, а перерахована на 100 мкл КФ екскреція аміаку збільшувалась на 65,2% і різниці цих показників з контролем були статистично значимі. Після введення дилтіазему екскреція титрованих кислот і іонів водню не змінювалась. Рівень рН підтримувався за рахунок збільшення на 6,8% екскреції протонів. Про менш виражений вплив БКК дилтіазему на амоніогенез свідчили знижені показники екскреції аміаку і амонійного коефіцієнту на 76,4% і на 48,2% у порівнянні з ефектами флокаліну.

Зміни іонорегулювальної функції нирок за умов хронізації ГГН характеризувались зменшенням калійурезу на 25,7% на тлі збереження концентрації іонів калію в плазмі крові (табл. 6.9).

Таблиця 6.9

Показники іонорегулювальної функції нирок у щурів  
після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему в дозах по 5 мг/кг за умов  
хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                        | Контроль         | ГГН                           | ГГН<br>та флокалін                           | ГГН та<br>дилтіазем                           |
|--------------------------------------------------|------------------|-------------------------------|----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| 1                                                | 2                | 3                             | 4                                            | 5                                             |
| Концентрація $K^+$ в<br>плазмі крові,<br>ммоль/л | $6,3 \pm 0,23$   | $5,9 \pm 0,23$                | $5,9 \pm 0,25$                               | $6,1 \pm 0,25$                                |
| Концентрація $K^+$ в<br>сечі, ммоль/л            | $7,2 \pm 0,72$   | $6,0 \pm 0,30$                | $4,3 \pm 0,58$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$  | $8,0 \pm 0,92$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,01$  |
| Екскреція $K^+$ ,<br>мкмоль/2 год                | $34,7 \pm 3,78$  | $25,8 \pm 1,92$<br>$p < 0,05$ | $19,1 \pm 1,79$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $35,2 \pm 4,95$<br>$p2 < 0,05$                |
| Концентрація $Na^+$ в<br>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<br>$Na^+$ , мкмоль/хв       | $59,0 \pm 4,60$  | $38,2 \pm 3,78$<br>$p < 0,01$ | $71,1 \pm 5,92$<br>$p1 < 0,001$              | $37,6 \pm 4,25$<br>$p < 0,05$<br>$p2 < 0,001$ |
| Концентрація $Na^+$ в<br>сечі, ммоль/л           | $0,77 \pm 0,102$ | $0,56 \pm 0,096$              | $0,47 \pm 0,111$<br>$p < 0,05$               | $0,80 \pm 0,097$<br>$p2 < 0,05$               |

Продовження табл. 6.9

| 1                                                            | 2                 | 3                              | 4                                              | 5                                              |
|--------------------------------------------------------------|-------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|------------------------------------------------|
| Екскреція $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/2 год                    | $3,7 \pm 0,59$    | $2,3 \pm 0,36$<br>$p < 0,05$   | $2,1 \pm 0,53$<br>$p < 0,05$                   | $3,7 \pm 1,10$                                 |
| Екскреторна фракція<br>$\text{Na}^+$ , мкмоль/хв             | $0,03 \pm 0,005$  | $0,02 \pm 0,003$<br>$p < 0,05$ | $0,02 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$                 | $0,03 \pm 0,009$                               |
| Абсолютна<br>реаборбція $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/хв         | $58,9 \pm 4,60$   | $38,1 \pm 3,79$<br>$p < 0,01$  | $71,1 \pm 5,91$<br>$p1 < 0,001$                | $37,5 \pm 4,25$<br>$p < 0,01$<br>$p2 < 0,001$  |
| Відносна<br>реаборбція $\text{Na}^+$ , %                     | $99,94 \pm 0,010$ | $99,94 \pm 0,015$              | $99,98 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ | $99,91 \pm 0,026$<br>$p2 < 0,05$               |
| Екскреція<br>$\text{Na}^+$ /100 мкл КФ                       | $0,77 \pm 0,165$  | $0,78 \pm 0,178$               | $0,34 \pm 0,068$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$  | $1,21 \pm 0,337$<br>$p2 < 0,05$                |
| Дистальний<br>транспорт $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/2 год      | $551,5 \pm 26,51$ | $493,6 \pm 31,74$              | $510,6 \pm 21,21$                              | $512,7 \pm 26,56$                              |
| Дистальний<br>транспорт $\text{Na}^+$ ,<br>мкмоль/100 мкл КФ | $0,94 \pm 0,104$  | $1,26 \pm 0,035$<br>$p < 0,05$ | $0,71 \pm 0,058$<br>$p1 < 0,001$               | $1,40 \pm 0,126$<br>$p < 0,05$<br>$p2 < 0,001$ |

Не змінювалась натріємія, фільтраційне завантаження іонами натрію зменшувалось на 35,3%, натрійурез і екскреторна фракція катіону понижувались на 37,9% і 33,4%, відповідно, абсолютна реаборбція іонів натрію у щурів з сулемовою нефропатією зменшувалась на 33,4%.

Під впливом флокаліну у щурів з ГГН зменшувалась концентрація іонів калію в сечі на 28,4%, і на 26% знижувався калійурез (див. табл. 6.9). Показники калієвого балансу були нижче ніж у контролі. Однак, за умов хронізації патології нирок така динаміка засвідчує калійзберігаючий вплив флокаліну. На 38,2% зростав фільтраційний заряд іонів натрію, підвищувалась відносна реаборбція і зростала на 86,6% абсолютна реаборбція катіону, натрійурез не змінювався, стандартизований за КФ показник екскреції іонів натрію у щурів з ГГН зменшувався на 66,5%.

Після введення дилтіазему концентрація іонів калію в сечі щурів з ГГН підвищувалась на 11,1% і була на 86% вище, ніж у пролікованої флокаліном групи, каліємія не змінювалась. Калійурез під дією дилтіазему також суттєво зростав, і, порівняно з ефектом флокаліну, різниця становила 84,3%.



У порівнянні з дією флокаліну, під впливом БКК на 47,2% зменшувався фільтраційний заряд іонів натрію, його концентрація в сечі збільшувалась на 70,2% (див. табл. 6.9). Зменшувалась на 47,3% абсолютна реабсорбція і понижувалась відносна реабсорбція іонів натрію, стандартизований за КФ натрійурез підвищувався на 255,8%. Відмінності натрійуретичного ефекту залежали від впливу представників різних класів модуляторів іонних каналів на проксимальний транспорт іонів натрію (рис. 6.2).

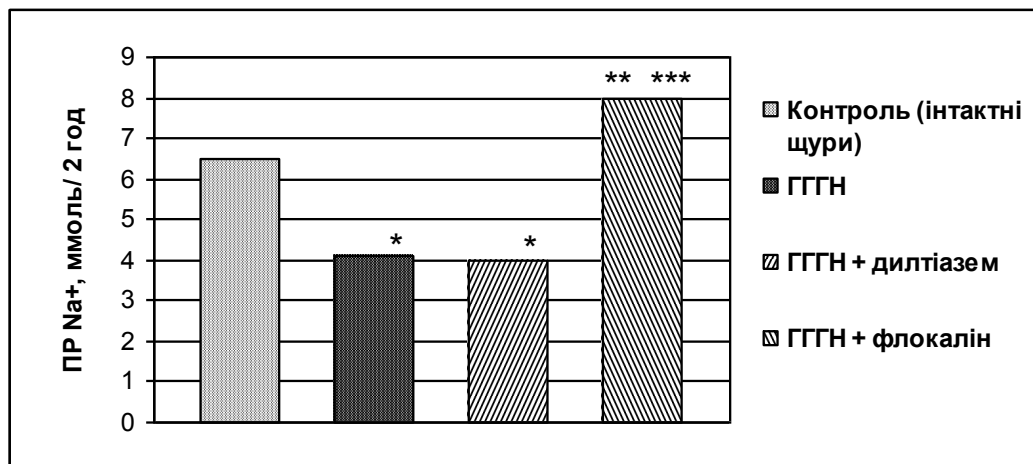


Рис. 6.2. Вплив дилтіазему та флокаліну на проксимальну реабсорбцію іонів натрію за умов хронізації ГГГН у щурів.

Примітка. Достовірність відмінностей: \* – з контролем ( $p < 0,01$ ), \*\* – з ГГГН ( $p_1 < 0,001$ ), \*\*\* – між пролікованими групами ( $p_2 < 0,001$ ), ПР – проксимальна реабсорбція іонів натрію.

У щурів з ГГГН 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 та різниця дорівнювала 37%. Під впливом дилтіазему реабсорбція іонів натрію в проксимальному відділі нефрону щурів з хронізацією гіпоксичної нефропатії залишалась без змін. Активація  $K_{ATP}$  каналів флокаліном протягом семи днів спричинила підвищення значення до  $8,0 \pm 0,70$  ммоль/2 год. Подальша оцінка змін каналцевих процесів показала, що за умов хронізації патології нирок дистальний транспорт іонів натрію змінювався лише за перерахунку на 100

мкл КФ (див. табл. 6.9). У щурів з ГГН показник збільшувався на 34%, під впливом флокаліну – зменшувався на 43,7%, а після застосування дилтіазему був на 97,2% вищим порівняно з дією АКК і на 50% відрізнявся від контролю.

Отже, внаслідок опосередкованого впливу АКК флокаліну, як і прямої дії БКК дилтіазему зменшується надмірний потік іонів кальцію через потенціалозалежні кальцієві канали, що і забезпечує їх нефропротективну активність. Однак, незважаючи на спільний кальцій-опосередкований механізм дії, стан функцій нирок у за умов розвитку ГГН різнився залежно від представників класів модуляторів іонних каналів. Вірогідно, що специфіка функціонування нирок залежала від структурно-функціональної гетерогенності іонних каналів, чутливістю різних типів каналів до АТФ, а також різницею хімічної будови і місць зв'язування модуляторів іонного току.

Разом з тим, результати проведених досліджень дозволили окреслити низку нефропротективних ефектів досліджуваних сполук на початковій стадії розвитку гострої ГГН і на стадії хронізації гіпоксичної нефропатії. Слід ще раз зауважити, що нирки займають перше місце за споживанням кисню, і гіпоксія завжди є провідною причиною порушення ренальних функцій. У зв'язку з цим, проведені дослідження були ще одним кроком для розширення уявлень про механізми впливу нового активатора  $K_{ATP}$  каналів флокаліну за умов енергодефіцитних пошкоджень організму. Підґрунтям інформативності дослідження були зміни функціонального стану нирок залежно від стадії розвитку ГГН. Так, через дві години після введення нітриту натрію до 2,4-динітрофенолу у щурів на тлі перебудови процесів у клубочковому секторі нефрону в значній мірі збільшувалась протеїнурія і ниркова екскреція білка, зростали втрати з сечею осмотично активних іонів натрію і калію, збільшувався рівень рН сечі. Через сім днів з моменту гострого токсичного ураження нирок вказані зміни доповнювались гіперкреатинінемією і поліурією. На стадії хронізації гіпоксичної нефропатії знижувалась водовидільна функція нирок, зменшувались концентраційний індекс ендogenous креатиніну і ШКФ, зростала протеїнурія.

Про захисні можливості активатора  $K_{ATF}$  каналів свідчили гломерулопротективні впливи, завдяки яким збільшувалась ШКФ після разового введення флокаліну на початковій стадії розвитку гострої ГГН і після курсу лікування щурів при хронізації процесу. Мав місце прямий кореляційний зв'язок ШКФ як з проксимальною реабсорбцією іонів натрію ( $r=0,916$ ,  $p<0,05$ ), так і з екскрецією креатиніну ( $r=0,902$ ,  $p<0,05$ ). Аргументами на користь високої нефропротективної активності флокаліну були: зниження екскреторної фракції іонів натрію у щурів з ГГН і підвищення проксимального транспорту цього катіону як при гострому ураженні, так і через місяць після моделювання гіпоксичної нефропатії.

Варто відзначити, що після введення дилтіазему зберігався ступінь порушення певних ниркових процесів у щурів з патологією нирок гіпоксичного генезу. Так, функціональний стан клубочкового сектору нефрону не змінювався, проксимальна реабсорбція іонів натрію практично лишалась на рівні показника у щурів з моделями розвитку гіпоксичної нефропатії. Антипротеїнуричні впливи дилтіазему, які спостерігались лише на стадіях розвитку гострої ГГН, не підтверджувались вірогідними відмінностями стандартизованих за КФ показників екскреції білка.

## **РОЗДІЛ 7**

### **МОРФОЛОГІЧНИЙ СТАН НИРОК ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ НЕФРОПАТІЙ**

Ступінь клінічних проявів нефропатії першочергово залежить від змін морфологічного стану нирок у токсикогенній та соматогенній фазах нефротоксичних впливів. Як гомеостатичний орган, продовжуючи виконувати екскреторну та інкреторну роль, нирки перебудовують власну діяльність залежно від поліорганных дисфункцій, у першу чергу – від органів-мішеней (серця, судин). Потреба в інтенсивному ренальному кровообігу, концентраційна здатність нирок, у тому ж числі і щодо ксенобіотиків, а також енергозалежність каналцевих процесів зумовлюють високий взаємозв'язок між функціональною динамікою, ефективністю фармакотерапії та структурним станом нефрону. Тому наступним етапом роботи було вивчення морфологічної картини нирок на моделях розвитку експериментальних нефропатій для розкриття гістологічних основ патології, а також для оцінки структурної перебудови нирок під впливом флокаліну та дилтіазему.

Структурні особливості відділів нефрону оцінювали після забарвлення парафінових гістологічних зрізів тканин нирок гематоксилін-еозином. Мікропрепарати вивчали у світловому мікроскопі. Цифрові копії оптичного зображення отримували за допомогою цифрового фотоапарата Olympus SP550UZ і аналізували за допомогою ліцензійної копії комп'ютерної програми “ВидеоТест-Размер 5.0” (ООО Видеотест, Росія).

#### **7.1. Зміни морфологічного стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку сулемової нефропатії**

Пошкодження нефрону за умов уведення сулеми пояснюється тим, що іони двохлористої ртуті зв'язуються з низькомолекулярним альбуміном, послідовно фільтруються в ниркових клубочках і реабсорбуються шляхом

піноцитозу за участю лізосом у проксимальних канальцях, де іони ртуті звільняються і блокують SH-групи ферментів (сукцинатдегідрогенази,  $\text{Na}^+/\text{K}^+$ -АТФази тощо), що веде до першочергового порушення тубулярних процесів. Як було вже зазначено, експериментальна сулемова нефропатія відноситься до моделей, патогенез яких слугував функціонально-структурним підґрунтям для підтвердження універсальності пошкодження проксимального відділу нефрону, як основного ланцюга типових патологічних процесів у нирках. Встановлення локалізації і характеру структурних перетворень дозволило морфологічними методами підтвердити механізми флокаліну та дилтіазему.

### **7.1.1. Зміни морфологічного стану нирок після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої сулемової нефропатії**

Ступінь проявів нефротоксичності та порушення структурного стану при безпосередній взаємодії сулеми з паренхімою нирок, як і під впливом інших екзогенних пошкоджувальних впливів, має дозозалежний характер [190]. Однак, на відміну від методики вибору способу моделювання ГГГН, який буде надано в підрозділ 7.2, на даному етапі не передбачались морфологічні дослідження нирок залежно від дози дихлориду ртуті. Цикл ґрунтовних наукових робіт стосовно патогенезу сулемової нефропатії та ретельного аналізу механізмів переходу гострого ураження нирок у хронічний патологічний процес було виконано після разового підшкірного введення 0,1% розчину дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг [36, 135]. Саме тому, в наших дослідженнях гостре токсичне ураження нирок відтворювали аналогічним способом і після двохгодинного періоду розвитку сулемової нефропатії здійснювали перше введення флокаліну та дилтіазему. Матеріал для морфологічних досліджень на початковій стадії розвитку гострої сулемової нефропатії забирали відразу після реєстрації діурезу через дві години після введення модуляторів іонних каналів.

Результати мікроскопічних досліджень показали, що інтактні тварини мали типову морфологічну організацію тканини нирок (рис. 7.1).

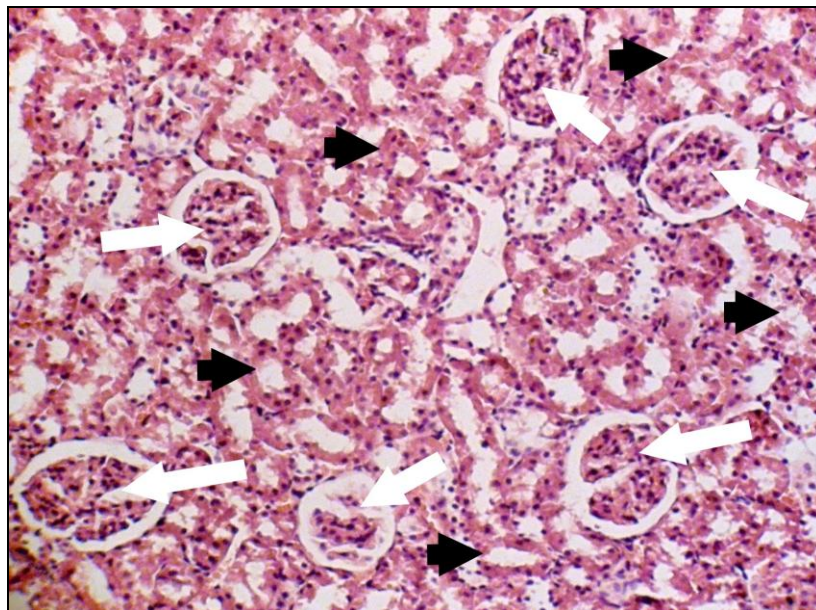


Рис. 7.1. Кіркова речовина нирки інтактного щура. Білими стрілками вказані ниркові клубочки. Чорними стрілками вказані звивисті каналці. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

У кірковій речовині ниркові клубочки були звичайної будови, містили окремі еритроцити в капілярах. Епітелій проксимальних та дистальних каналців був, в основному, без змін. Окремі епітеліоцити (0,5%) були з проявами клазматозу (відділення апікальних частин цитоплазми в просвіт каналців). Інтерстицій кіркової речовини морфологічно відповідав нормі. В мозковій речовині збіральні трубочки без особливостей, епітелій не змінений, просвіт вільний.

Судини мозкових променів містили помірну кількість еритроцитів, інтерстицій мозкової речовини мав звичайну будову. Збіральні трубочки сосочка нирок був без особливостей, епітелій не змінений, просвіт трубочок вільний. Капіляри сосочка нирки містили помірну кількість еритроцитів, інтерстицій сосочка мав характерну для норми структуру.

Зміни морфологічного стану нирок через 4 години після введення дихлориду ртуті полягали в тому, що спостерігалися окремі осередки некрозу епітелію каналців та кальцинати (рис. 7.2), після введення флокаліну обсяги некрозу та кальцинатів були практично такими ж, як і при ГТГН (рис. 7.3).



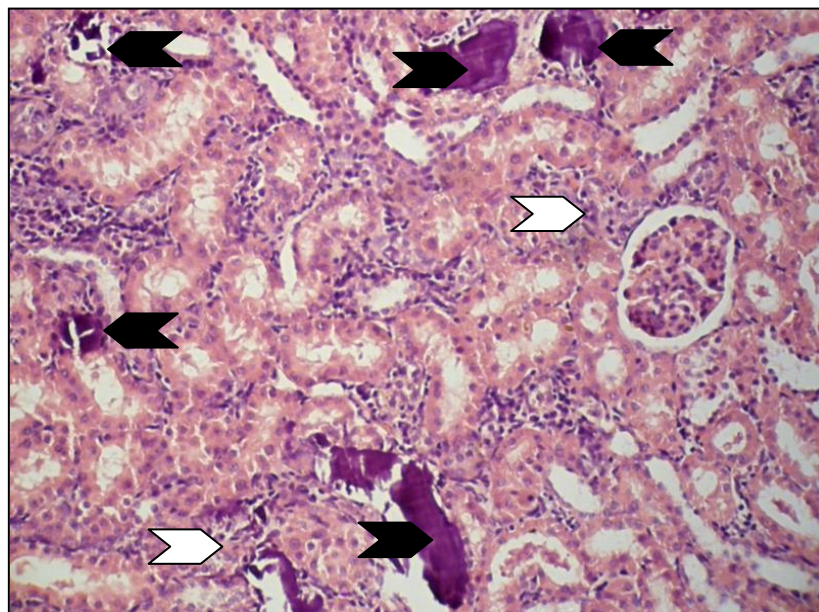


Рис. 7.2. Кіркова речовина нирки щура в перший день моделювання сулемової нефропатії. Чорними стрілками вказані кальцинати. Білими стрілками вказані осередки некрозу епітелію без кальцинатів. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

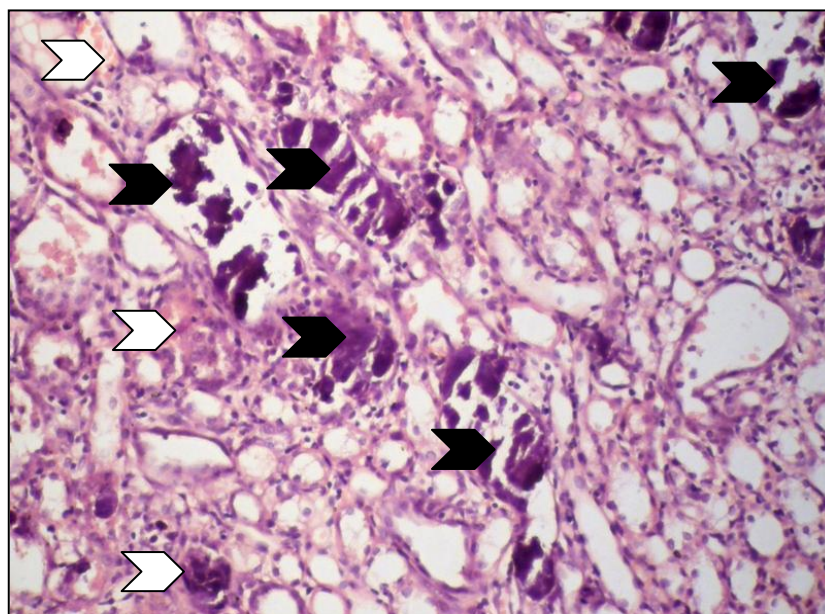


Рис. 7.3. Кіркова речовина нирки щура в перший день моделювання сулемової нефропатії після введення флокаліну. Чорними стрілками вказані кальцинати. Білими стрілками вказані дрібні осередки залишкового некрозу епітелію з початковими явищами регенерації. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Разом з тим, після введення флокаліну з'являлися групи новоутворених епітелоцитів, що вказувало на початкові явища регенерації. Після разового введення блокатора кальцієвих каналів дилтіазему морфологічна картина нирок на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії характеризувалася наявністю кальцинатів, кількість яких на 15% зменшувалась, а також – залишковими дрібними некрозами (рис. 7.4).

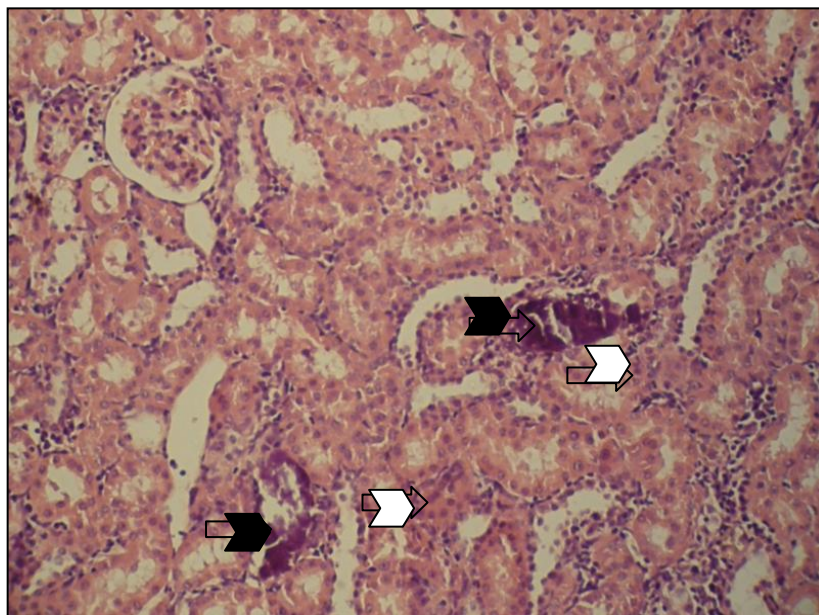


Рис. 7.4. Кіркова речовина нирки щура в перший день моделювання сулемової нефропатії після введення флокаліну (А) і дилтіазему (Б). Чорними стрілками вказані кальцинати. Білими стрілками вказані дрібні осередки залишкового некрозу епітелію з початковими явищами регенерації. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

#### **7.1.2. Зміни морфологічного стану нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої сулемової нефропатії**

На сьому добу з моменту моделювання токсичної нефропатії підшкірним введенням 0,1% розчином дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг відмічалось зменшення кровонаповнення капілярів кіркової речовини, мозкової речовини і сосочка нирки (рис. 7.5–7.7). У кірковій речовині,



переважно в юкстамедулярній зоні (див. рис. 7.5), розташовувалися нерегулярні, різних розмірів та форми кальцифікати, аналогічні тим, які виявлялись і на першу добу експерименту (див. рис. 7.2). Такі кальцифікати при токсичній сулемовій нефропатії розвиваються зазвичай в компактних осередках некрозу. Питомий об'єм таких осередків становив  $1,8 \pm 0,24\%$ .

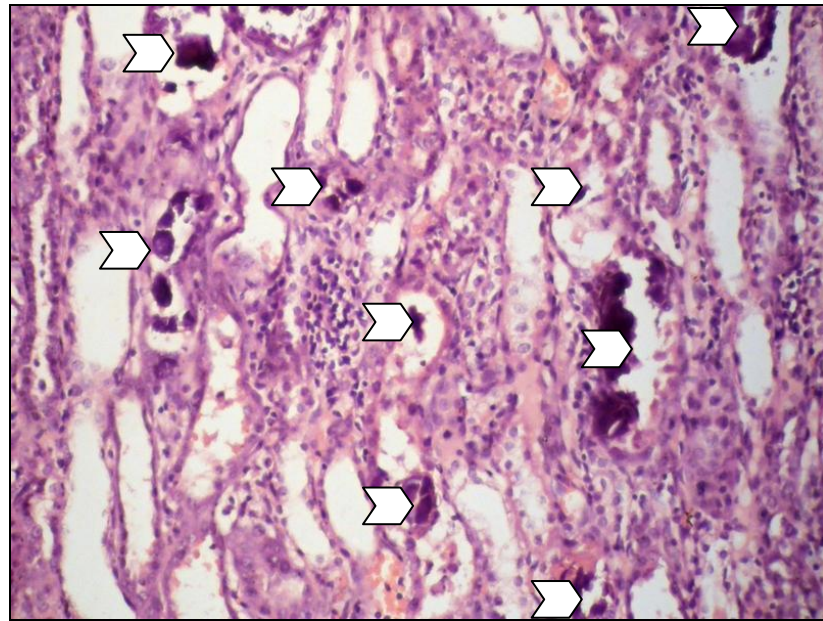


Рис. 7.5. Кіркова речовина нирки щура на 7 день моделювання сулемової нефропатії. Стрілками вказані кальцинати. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Також у кірковій речовині нирок спостерігалися множинні осередки регенерації, які можна поділити за своєю будовою та значенням на дві групи. Перша група осередків – це молода грануляційна тканина, розміри та форма якої вказують на те, що вона утворилася на місцях колишніх компактних осередків некрозу. Питомий об'єм таких осередків у кірковій речовині становив  $6,4 \pm 0,28\%$ . Друга група осередків – це невеликі групи розростання світлих епітеліальних клітин, іноді окремі, іноді по сусідству з грануляційною тканиною, які є полями відновлення епітеліального компонента кіркової речовини. Ці світлі епітеліальні клітини іноді формують зародки каналців – трубчасті структури з щілиноподібним просвітом. Питомий об'єм таких

осередків становив  $2,2 \pm 0,14\%$ , отже, загалом питомий об'єм осередків регенерації становив  $8,8 \pm 0,24\%$  (рис. 7.6).

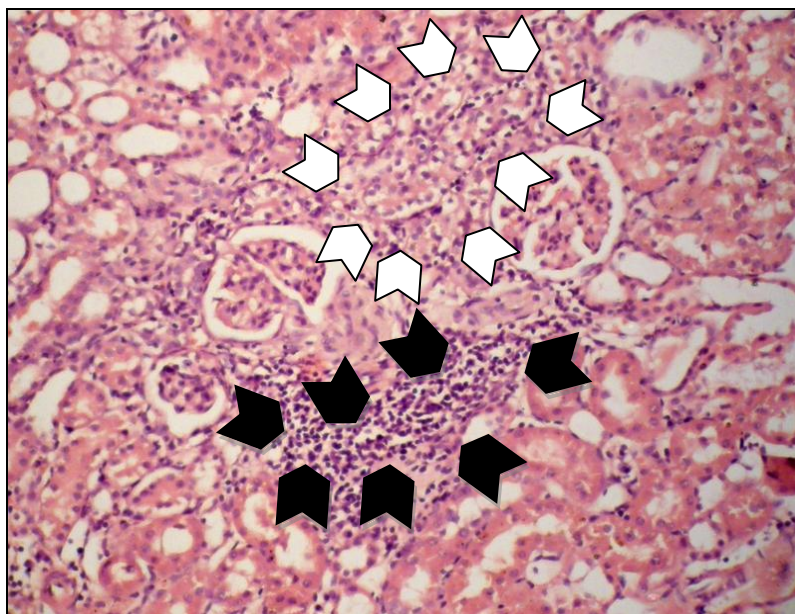


Рис. 7.6. Кіркова речовина нирки щура на 7 день моделювання сулемової нефропатії. Білими стрілками вказаний обмежений осередок епітеліальної регенерації. Чорними стрілками вказаний обмежений осередок молодій грануляційної тканини. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Разом з процесами регенерації, на фоні поширеного оборотного набухання клітини, відмічалися окремі звивисті каналіні з некрозом епітелію та злуцненням некротизованих клітин у просвіт каналіців. Підтвердженням цього служила наявність значної кількості циліндрів у мозковій речовині та сосочка нирки, які утворилися з елементів некротизованих і злуцнених клітин. Важливим є те, що через 7 днів були наслідки загибелі клітин – зменшувалась кількість нефронів, а також і явища вторинного гіпоксичного пошкодження нефроцитів. Значна частина збирних трубочок нирок була компенсаторно розширена. Морфологічна картина вказувала на те, що окрім осередкових некрозів, викликаних безпосередньою дією сулеми, згодом розвиваються нові розсіяні некрози епітелію окремих нефронів. Швидше за все, виникнення таких осередків відбувалось унаслідок непрямого пошкодження тканин нирок

сулемою. Їх походження, можливо, пов'язано з явищем, яке в науковій медичній літературі описується як: «нефропатія залишкової паренхіми» (рис. 7.7).

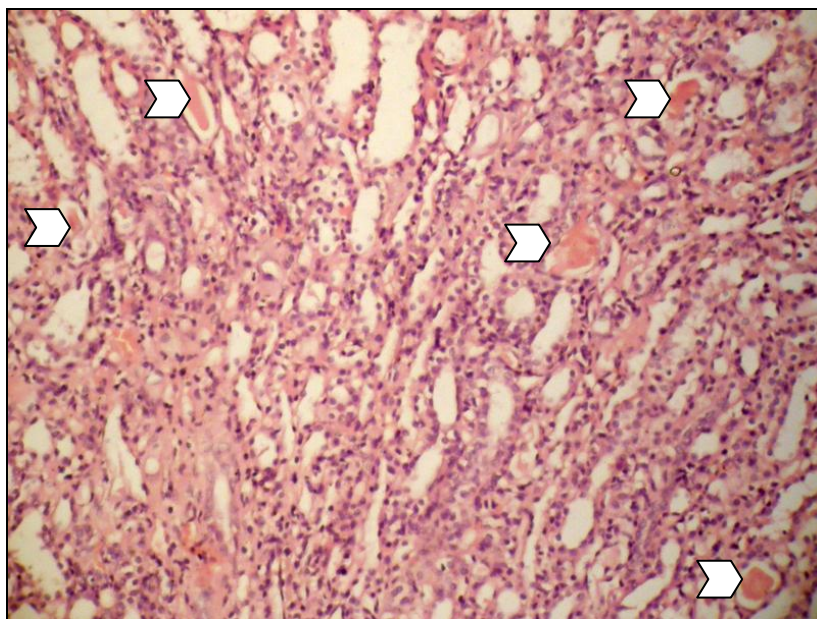


Рис. 7.7. Мозкова речовина нирки на 7 день моделювання сулемової нефропатії. Стрілками вказані білкові циліндри в просвітах збирних трубочок. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Після застосування 7 днів активатора  $K_{ATF}$  каналів спостерігалось різке підвищення кровонаповнення капілярів кіркового, мозкового шару та сосочка нирки (рис. 7.8-7.9). У кірковій речовині, переважно в юкстамедулярній зоні, розташовувалися нерегулярні різних розмірів та форми кальцифікати. Швидше за все, флокалін не може захистити від первинного некрозу, спричиненого великою концентрацією ртуті. Питомий об'єм кальцифікатів становив  $1,9 \pm 0,44\%$ . Оцінка процесів регенерації показала повну відсутність ділянок заміщення паренхіми нирки грануляційною тканиною тоді, коли осередки регенерації епітеліальної тканини були добре виражені і становили в середньому  $8,4 \pm 0,16\%$  питомого об'єму кіркової речовини (див. рис. 7.8)

У медулярному шарі нирок після семиденного курсу введення фторвмісного активатора  $K_{ATF}$  каналів відмічалось нерівномірне венозне повнокрів'я, яке було більш виражене у мозкових променях (див. рис. 7.9).



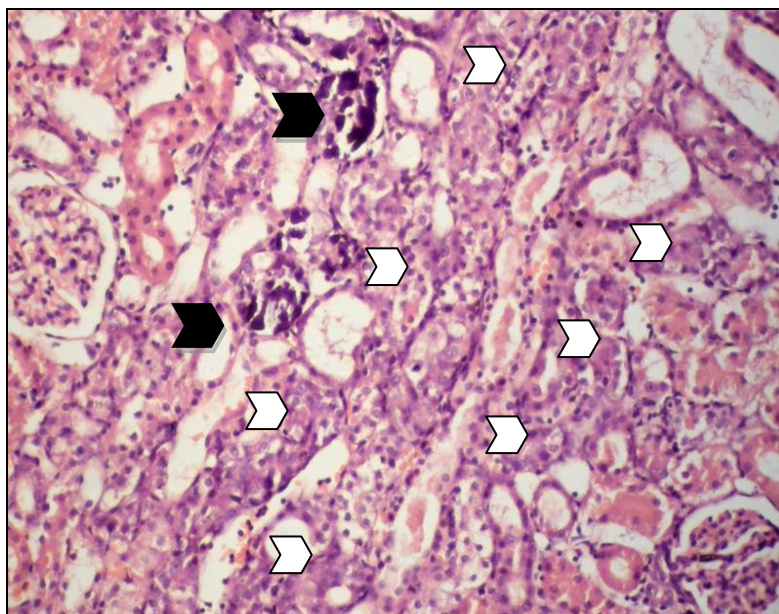


Рис. 7.8. Кіркова речовина нирки щура з гострою сулемовою нефропатією після ведення 7 днів флокаліну. Чорними стрілками вказані кальцинати. Білими стрілками вказані осередки епітеліальної регенерації. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

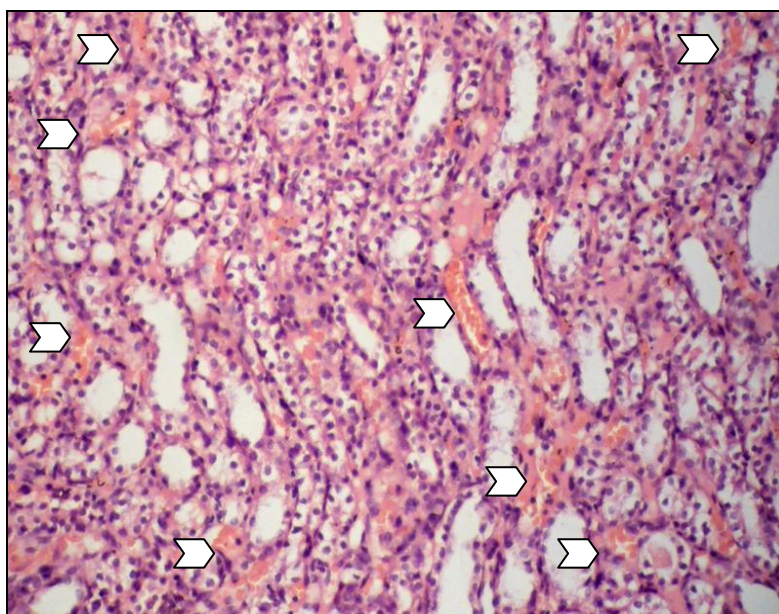


Рис. 7.9. Мозкова речовина нирки щура з гострою сулемовою нефропатією після введення 7 днів флокаліну. Стрілками вказані найбільш повнокровні капіляри. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Порівнюючи препарати після застосування флокаліну з картиною нирок щурів, яким не здійснювали фармакологічну корекцію, можна відмітити, що загальний питомий об'єм осередків регенерації у середньому однаковий в обох групах. Разом з тим, регенерація під впливом флокаліну є ефективною, бо відбувалась за рахунок паренхіми, а не строми. Ймовірно, що такий ефект пов'язаний з покращенням кровопостачання нирок і обміну кисню, що важливо для особливо чутливих до гіпоксії тубулоцитів, а також – зі зменшеною часткою вторинного некрозу. Оборотно набухання клітин залишалось поширеним, але все ж були відсутні ознаки некрозу груп клітин звивистих каналців і, відповідно, білкові циліндри у просвітах каналців та збирних трубочок. Після застосування дилтіазему відмічалось звичайне або місцями дещо підсилене кровонаповнення капілярів кіркової речовини, мозкової речовини і сосочка нирки без наявності кальцифікатів (рис. 7.10).

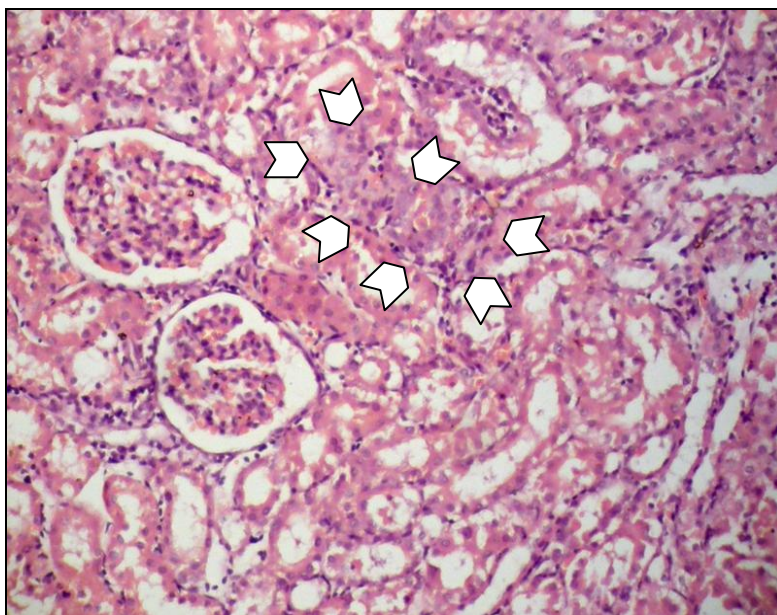


Рис. 7.10. Кіркова речовина нирки щура з гострою сулемовою нефропатією після введення 7 днів дилтіазему. Стрілками вказано обмежений осередок епітеліальної регенерації. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Щодо оцінки регенерації, то слід відмітити відсутність грануляційної тканини, а також малий питомий об'єм осередків регенерації епітеліальних



клітин – у середньому  $1,4 \pm 0,41\%$ . Вказані дані засвідчували те, що застосування БКК було ефективним не тільки в плані того, що регенерація кіркової речовини нирки відбувалася за рахунок її паренхіми, але й мало місце прискорення регенерації – ділянки регенерації більш ефективно диференціювалися з безкомірчастих полів незрілих світлих клітин у звивисті каналці. Оборотно набухання клітин залишалося поширеним, але були відсутні ознаки некрозу груп клітин звивистих каналців.

### 7.1.3. Зміни морфологічного стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії

Пізній період поліуричної стадії з 30-ї доби моделювання сулемової нефропатії за структурними ознаками відповідає стадії хронізації процесу [135] (рис. 7.11-7.12).

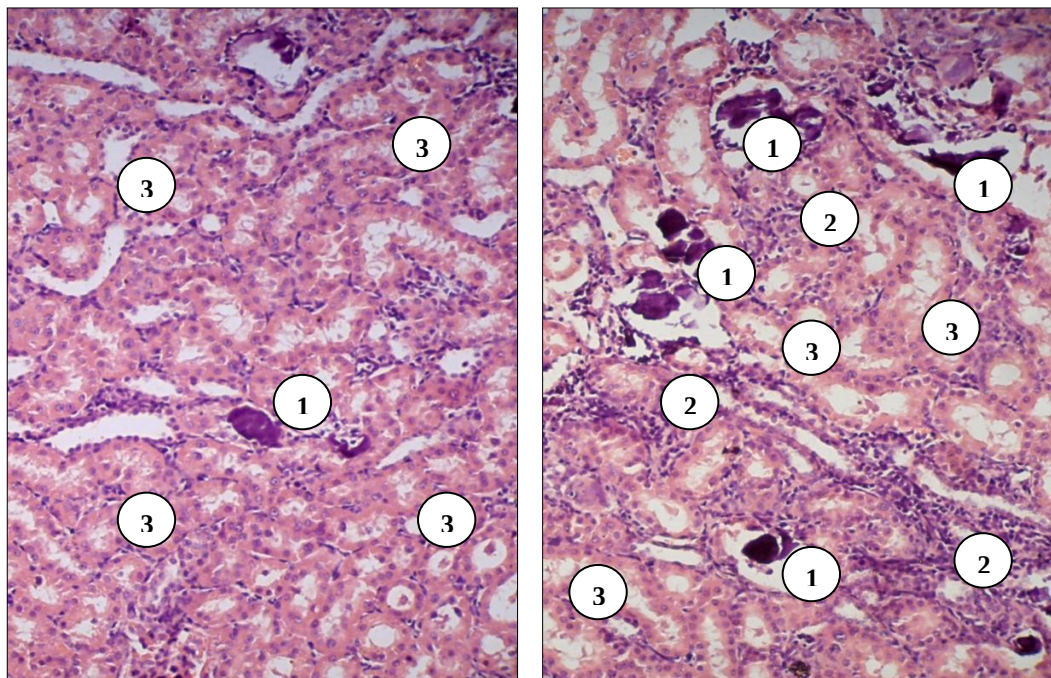


Рис. 7.11–7.12. Кіркова речовина нирки щура на стадії хронізації сулемової нефропатії. 1 – осередки вапнування. 2 – грануляційна тканина. 3 – звивисті каналці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

Морфологічні зміни хронічного пошкодження нирок були, переважно, в кірковій речовині, де мали місце три типи уражень. Перший тип – вапнування осередків некротизованих раніше груп епітеліоцитів звивистих канальців без вираженої реакції ниркової стромы (вторинне пошкодження – наслідки змін внутрішньониркової гемодинаміки). Таке пошкодження кіркового шару охоплювало не більше 1% епітеліоцитів, переважно в субкапсулярній зоні. Другий тип – вапнування ділянок некротизованих раніше епітеліоцитів звивистих канальців з вираженою реакцією стромы у вигляді формування грануляційної тканини різного ступеня зрілості (особливо в юстамедулярній зоні), відповідав первинним ураженням більшого об'єму і охоплював близько 4% епітеліоцитів. Третій тип уражень – це оборотне гіпоксичне набухання (гідропічне набухання та гідропічна вакуолізація) епітелію звивистих канальців, що вижили, з рівномірною поширеністю явища (до 95% звивистих канальців) у всіх зонах кіркової речовини.

Структурний стан нирок після введення модуляторів іонних каналів характеризувався подібною картиною змін (рис. 7.13-7.14).

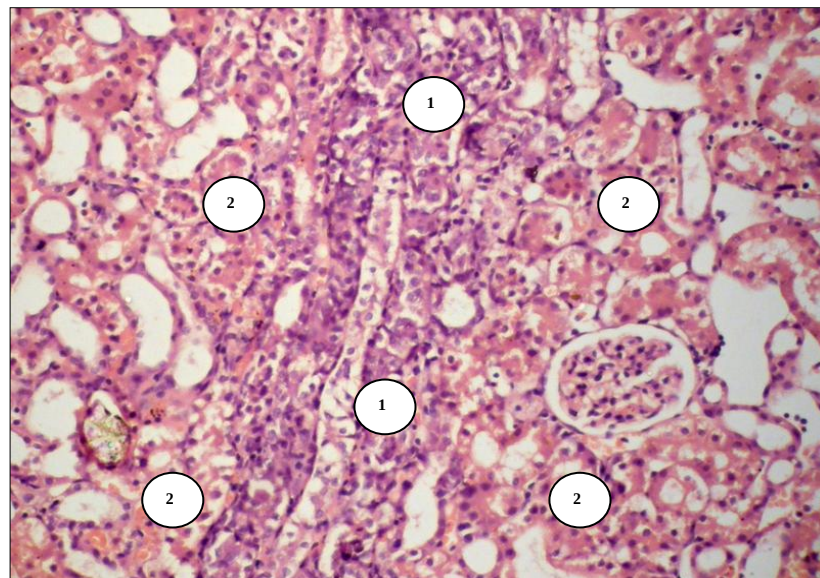


Рис. 7.13. Кіркова речовина нирки щура на стадії хронізації сулемої нефропатії після введення 7 днів флокаліну. 1 – грануляційна тканина. 2 – звивисті канальці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

Так, внаслідок впливу флокаліну вищевказаний перший тип уражень у мікропрепаратах не зустрічався зовсім (див. рис. 7.13). Другий тип уражень мав місце, але без кальцинозу, тобто на місцях загиблих епітеліоцитів розросталася грануляційна тканина без відкладань нерозчинних солей кальцію, що є більш сприятливим варіантом регенерації, ніж з кальцинозом. Третій тип уражень нефроцитів також мав місце, але його поширеність після введення флокаліну становила близько 75%.

Після введення дилтіазему перший тип уражень зустрічався дуже зрідка. Другий тип уражень був подібним за характеристиками та розмірами до змін у контрольній нелікованій групі. Третій тип уражень поширювався приблизно на 85% звивистих каналців (див. рис. 7.14).

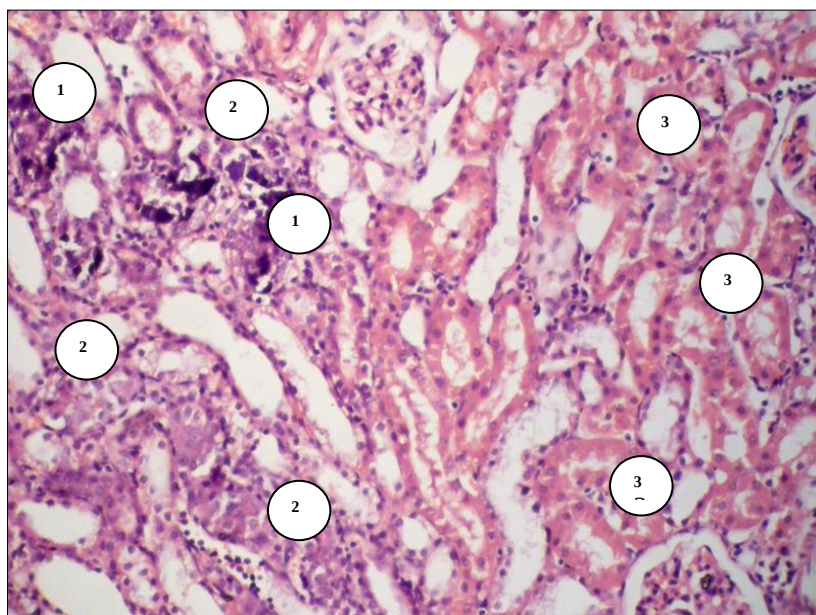


Рис. 7.14. Кіркова речовина нирки щура на стадії хронізації сулемової нефропатії після введення 7 днів дилтіазему. 1 – осередки вапнування. 2 – грануляційна тканина. 3 – звивисті каналці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

Отже, збільшення базальної кальцевої проникності і зменшення внутрішньоклітинного пулу іонів кальцію призводило до змін у нефроцитах на метаболічному та, відповідно, на морфологічному рівні. В той же час



відмінності функціональних мішеней дії досліджуваних сполук зумовлюють нерівнозначну різницю структурної перебудови нефрону. Зв'язувальна роль  $K_{ATP}$  каналів між метаболізмом і ступенем функціональної активності клітин відобразилась більш вираженою, порівняно з дилтіаземом, ефективною морфологічною динамікою показників, щодо поширеності осередків некрозу і кальцинозу нефроцитів, а також і щодо розростання грануляційної тканини.

## **7.2. Зміни морфологічного стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов гіпоксичної гістогемічної**

Гіпоксія є переважною причиною розвитку поліорганних, неспецифічних порушень системного рівня, які залежать від самих прогіпоксичних чинників, ступеня тяжкості уражень, тривалості гіпоксичного впливу та постгіпоксичного періоду до моменту лікування. Картина інтоксикації формується порушеними функціями органів і тканин з високим рівнем аеробного енергообміну. Поява енергодефіциту знижує інтенсивність практично всіх провідних функціонально-метаболических процесів, до яких відноситься і трансканальцевий перенос іонів натрію. Разом з тим, фізіологічні механізми термінової адаптації до гіпоксії можуть швидко відновити енергетичний баланс і попередити наслідки гострих гіпоксичних впливів на організм. Тому, закономірним є вибір оптимальної моделі для виявлення ділянок-мішеней гіпоксії та оцінки ефективності фармакологічних підходів до нефропротекції на різних стадіях формування патологічного процесу. Нами був розроблений і запатентований спосіб моделювання гіпоксичної нефропатії шляхом поєднаного застосування двох прогіпоксичних чинників – нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу.

### **7.2.1. Морфологічне обґрунтування способу моделювання гіпоксичної гістогемічної гіпоксії**

Відомо, що метгемоглобіноутворювач нітрит натрію викликає експериментальну гіпоксичну гемічну нефропатію в достатньо широкому

діапазоні доз [41, 139]. У зв'язку з цим, було досліджено морфологічні зміни тканин нирок у двох груп щурів через дві години після моделювання комбінованої гіпоксичної нефропатії. Першій групі вводили підшкірно нітрит натрію в дозі 50 мг/кг і внутрішньоочеревинно гістотоксикант 2,4-динітрофенол у дозі 3 мг/кг, а другій групі – нітрит натрію в дозі 25 мг/кг і 2,4-динітрофенол у дозі 3 мг/кг.

Варто ще раз зауважити, що нітрит натрію викликає гемічну гіпоксію. Але відомо, що в нирках, навіть за цих патологічних умов, кровотік залишається на дуже високому рівні. Безумовно, що якість крові змінюється за рахунок потрапляння токсиканту в кров і блокади гемоглобіну шляхом утворення метгемоглобіну, який не здатний вступати в зворотну реакцію з киснем і переносити його. Отже, чим більше гемоглобіну перетворилося на метгемоглобін, тим менша киснева ємкість крові, знижується насичення артеріальної крові киснем, виникає кисневе голодування тканин. Однак, інтенсивний кровотік у нирках компенсує кисневу недостатність крові, що разом з іншими компенсаторно-адаптивними реакціями організму перешкоджає прогресуванню патологічних процесів. Враховуючи завдання дослідження стосовно вивчення ренального впливу флокаліну за умов хронізації процесу, для отримання енергетичного пошкодження самих нефроцитів використовували 2,4-динітрофенол.

У порівнянні з мікроскопічною картиною нирок у інтактних тварин (див. рис. 7.1), після введення нітриту натрію в дозі 50 мг/кг та 2,4-динітрофенолу в кірковому шарі нирок понад 90% ниркових клубочків мали ознаки інтеркапілярного набряку, що свідчило про їх пошкодження. Капіляри клубочків містили поодинокі еритроцити. Епітелій звивистих каналців мав ознаки оборотного набухання клітини. Зокрема, епітелій звивистих каналців був переважно з ознаками гідропічної вакуолізації (не менше 95% клітин) – це клітини збільшених розмірів з набухлою цитоплазмою, зернистістю і прозорими вакуолями та ядрами з нечіткими контурами. В інших епітеліоцитах проксимальних каналців були ознаки гідропічного набухання

(зерниста дистрофія) – це клітини збільшених розмірів з набухлою цитоплазмою, зернистістю та ядрами з нечіткими контурами. Окремі епітеліоцити проксимальних канальців були з ознаками некрозу – каріопікноз та ущільнення цитоплазми (рис. 7.15).

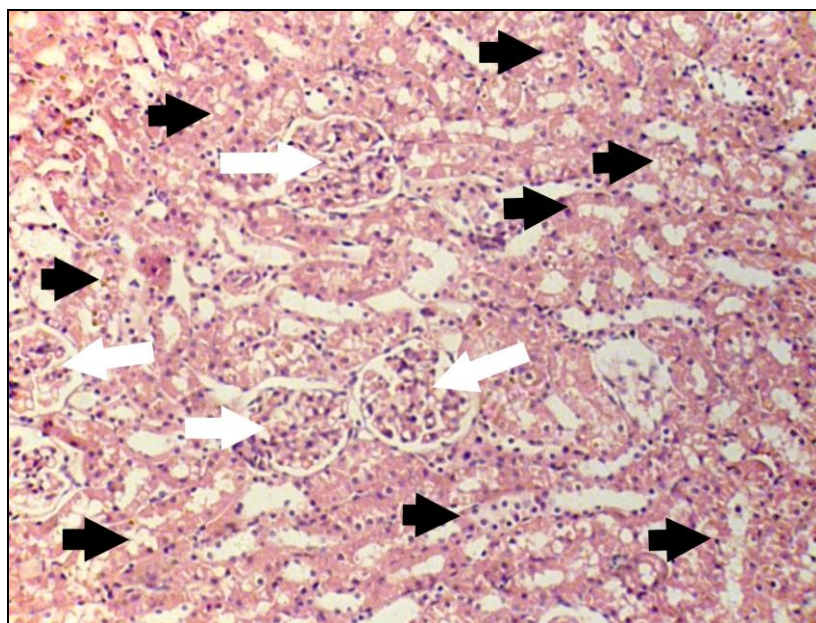


Рис. 7.15. Кіркова речовина нирки щура в перший день після введення нітриту натрію в дозі 50 мг/кг та 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг.. Білими стрілками позначені ниркові клубочки. Чорними стрілками позначені звивисті канальці. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

В дистальних канальцях при ГГГН близько 99% епітеліоцитів мали ознаки гідропічного набухання, просвіт цих канальців був звужений. Слід зауважити, що, як правило, страждають проксимальні канальці і навіть при сулемовому пошкодженні дистальні канальці задіяні в меншій мірі. Однак у даному випадку енергодефіцит діє і на дистальний відділ нефрону.

Максимальне вираження гідропічного набухання відмічалось в юкстамедулярній зоні. Міжканальцеві капіляри були знекровлені. У мозковій речовині будова інтерстицію та мозкових променів була аналогічна інтактним тваринам. Близько 70% клітин епітелію збирних трубочок мав ознаки гідропічної вакуолізації, але просвіт трубочок не змінювався. Морфологічна

будова збирних трубочок сосочка нирок, а також інтерстицію та кровоносних судин мала характерні для інтактних щурів ознаки.

При дослідженні морфологічних особливостей тканин нирок після введення меншої дози метгемоглобіноутворювача нітриту натрію (25 мг/кг) та 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг встановлено, що у кірковій речовині понад 75% ниркових клубочків мали ознаки інтеркапілярного набряку, капіляри містили помірну кількість еритроцитів (рис. 7.16).

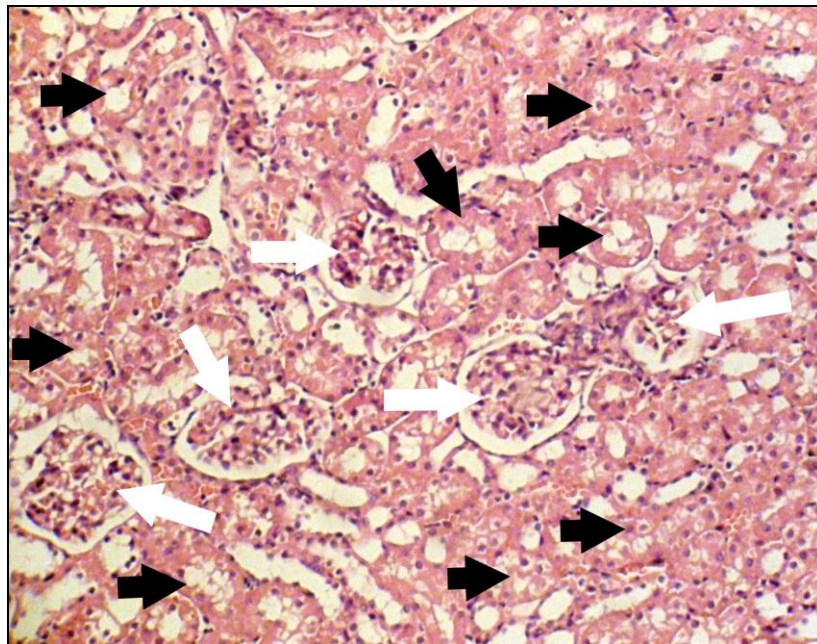


Рис. 7.16. Кіркова речовина нирки щура в перший день після введення нітриту натрію в дозі 25 мг/кг та 2,4-динітрофенолу в дозі 3 мг/кг. Білими стрілками позначені ниркові клубочки. Чорними стрілками позначені звивисті каналці. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

До 80% клітин епітелію проксимальних каналців були з ознаками оборотного набухання клітини, з них близько 15% клітин з ознаками гідропічної вакуолізації, а інші змінені клітини мали прояви гідропічного набухання. Ознак некрозу не виявлено.

У дистальних каналцях близько 80% епітеліоцитів були з ознаками гідропічного набухання, просвіт цих каналців звужений. Міжканальцеві

капіляри містили помірну кількість еритроцитів. У мозковій речовині будова клітин епітелію збирних трубочок, інтерстицію та мозкових променів була аналогічною стану цих структур у інтактних тварин. Просвіт трубочок не змінений. Морфологічна організація сосочка нирок подібна до будови збирних трубочок, інтерстицію, кровоносних судин у контрольних щурів.

Отже, морфологічні особливості після зменшення дози нітриту натрію до 25 мг/кг були аналогічні змінам, спричиненим дозою 50 мг/кг, але менш вираженими у кількісному відношенні і без структурних порушень у мозковому шарі нирок. Припущення, що істотніші гістологічні зміни після введення нітриту натрію в дозі 50 мг/кг вплинуть на час експозиції моделі та на об'єктивність оцінки нефропротективного впливу модуляторів іонних каналів, стало підґрунтям вибору саме цієї моделі для подальших досліджень.

### **7.2.2. Зміни морфологічного стану нирок після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої гістогемічної гіпоксичної нефропатії**

Відповідно до плану експериментів за умов гострої ГГГН, перше введення досліджуваних модуляторів іонних каналів здійснювали в день моделювання гіпоксичної нефропатії. Згідно методики, підшкірно вводили нітрит натрію в дозі 50 мг/кг, через 30 хвилин – внутрішньошлунково флокалін чи дилтіазем, після цього – внутрішньоочеревинно 2,4-динітрофенол та одразу поміщали щурів в обмінні клітки. Біологічний матеріал для морфологічного дослідження забирали через дві години після разового та семиденного застосування флокаліну та дилтіазему.

Після одноразового введення активатора  $K_{ATP}$  каналів флокаліну в дозі 5 мг/кг щурам на початковій стадії розвитку ГГГН морфологічні зміни відмічалися лише в кірковій речовині нирки. Так, зокрема, в  $5,2 \pm 0,84\%$  клубочків спостерігалися явища набряку. Капіляри при цьому були переповнені еритроцитами. Внаслідок суттєвих морфологічних змін епітеліоцитів звивистих каналців диференціювання каналців на



проксимальні та дистальні було утруднено. Однак, рівномірність змін дозволяла вважати, що проксимальні та дистальні канальці були уражені в однаковому ступені (рис. 7.17).

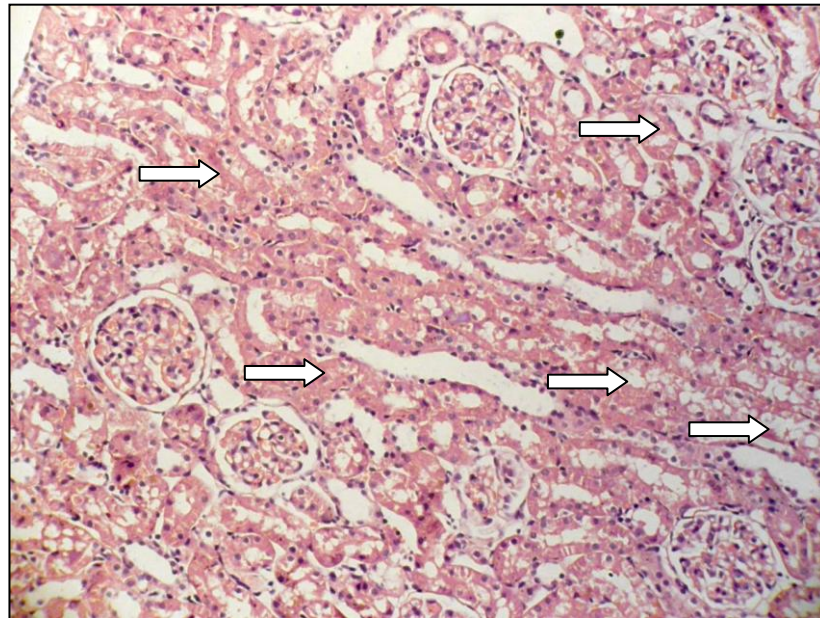


Рис. 7.17. Кіркова речовина нирки щура з ГГН після разового введення флокаліну. Стрілками вказані епітеліоцити канальців з гідропічним набуханням. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Морфологічна сутність виявлених відмінностей в епітелії звивистих канальців полягала в тому, що цитоплазма їх була збільшена в розмірах, містила зернистість (мала «каламутний вигляд») та прозорі вакуолі, ядра цих клітин часто мали нечіткі обриси. Такий процес відноситься до важкого ступеня оборотного набухання клітини, його слід називати гідропічною вакуолізацією клітини. Даний процес охоплював в середньому  $94,1 \pm 1,04\%$  епітеліоцитів кіркової речовини нирки. Окремі епітеліоцити були уражені 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 мінявся стан епітелію звивистих канальців нирки, що було зумовлено прямим пошкодженням нефроцитів 2,4-динітрофенолом.

Після однократного введення блокатора кальцієвих каналів дилтіазему також спостерігалась позитивна динаміка структурних змін епітеліоцитів у клубочковому та канальцевому відділах нефрону щурів з комбінованою гемічною і цитотоксичною нефропатією. Так, відсоток клубочків з явищами набряку становив  $16,3 \pm 0,64\%$ , а кількість уражених епітеліоцитів зменшувалась до  $70,1 \pm 1,13\%$ . При цьому ураження клітин ниркових канальців характеризувалося виключно легким ступенем оборотного набухання клітини – гідропічним набуханням без вакуолізації цитоплазми (рис. 7.18).

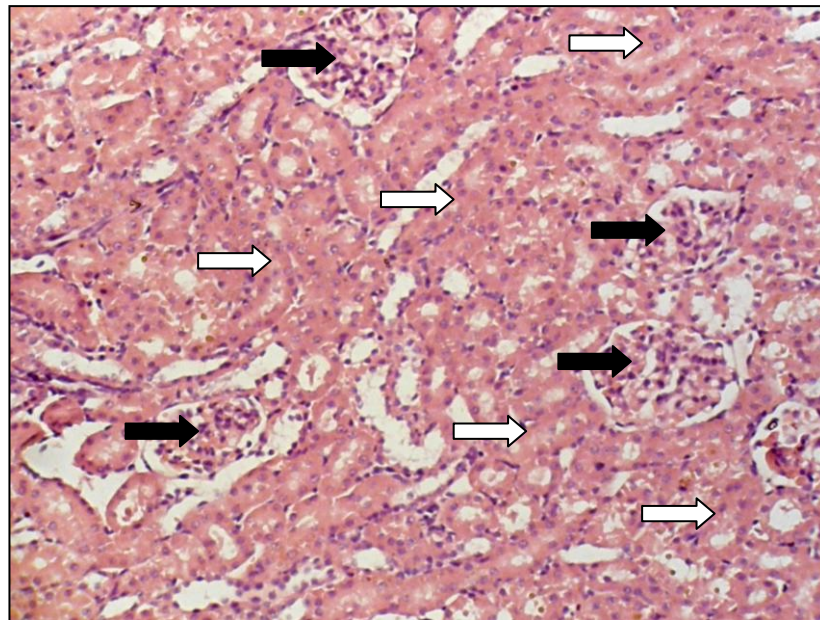


Рис. 7.18. Кіркова речовина нирки щура з ГГН після разового введення дилтіазему. Білими стрілками вказані епітеліоцити канальців з ознаками зернистої дистрофії. Чорними стрілками вказані ниркові клубочки нормальної будови. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Отже, на моделі гострої ГГН дилтіазем менш виражено, ніж флокалін покращував структурний стан клітин клубочкового відділу нефрону. Разом з

тим, внаслідок прямого пригнічувального впливу на вхід іонів кальцію в клітини каналців, також зменшувався ступінь їх ураження.

### **7.2.3. Зміни морфологічного стану нирок після семиденного введення флокаліну та дилтіазему за умов гострої гістогемічної гіпоксичної нефропатії**

Мікроскопічна картина нирок на сьомий день розвитку ГГН характеризувалась аналогічними, як і в перший день моделювання гіпоксичного ураження, змінами (див. рис. 7.15). Після введення флокаліну щурам з ГГН структурний стан клубочків практично не відрізнявся від морфологічної характеристики у інтактних щурів (рис. 7.19).

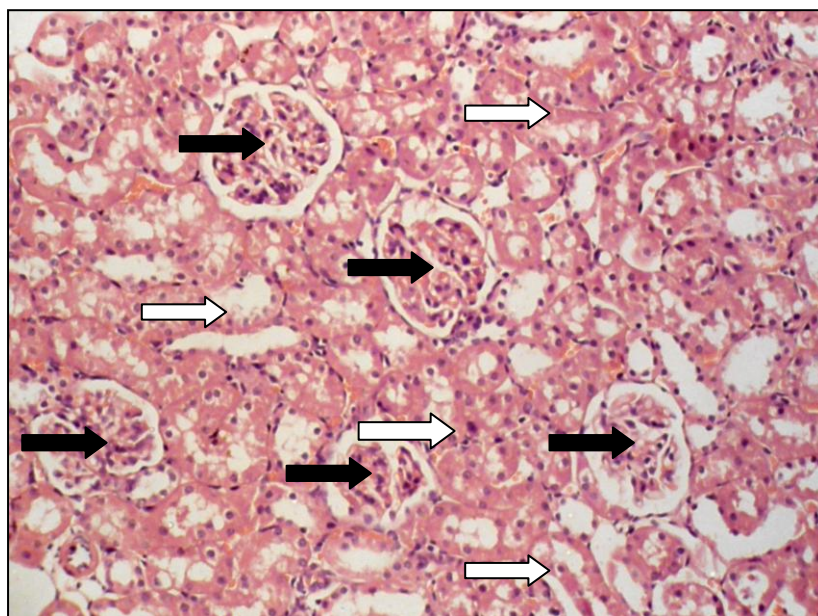


Рис. 7.19. Кіркова речовина нирки щура з ГГН після введення 7 днів флокаліну. Білими стрілками вказані каналці звичайної будови. Чорними стрілками вказані клубочки звичайної будови. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Так, після введення протягом семи днів активатора  $K_{ATP}$  каналів явища набряку спостерігались лише в  $0,48 \pm 0,06\%$  клубочків. Також варто відмітити покращення стану епітелію звивистих каналців (див. рис. 7.19). Зокрема, лише в  $60,1 \pm 0,98\%$  епітеліоцитів спостерігалися явища оборотного набухання



клітини, причому близько половини клітин мали ознаки легкого ступеня цієї патології, тобто – гідропічного набухання без вакуолізації. Отже, після семиразового введення флокаліну, порівняно з одноразовою фармакологічною активацією  $K_{ATP}$  каналів, суттєво покращувався стан епітеліоцитів звивистих каналців нирки, але не змінювався морфологічний стан клубочків.

Слід вказати на те, що семиразове введення дилтіазему дало такі ж результати, як і одноразове введення препарату (рис. 7.20).

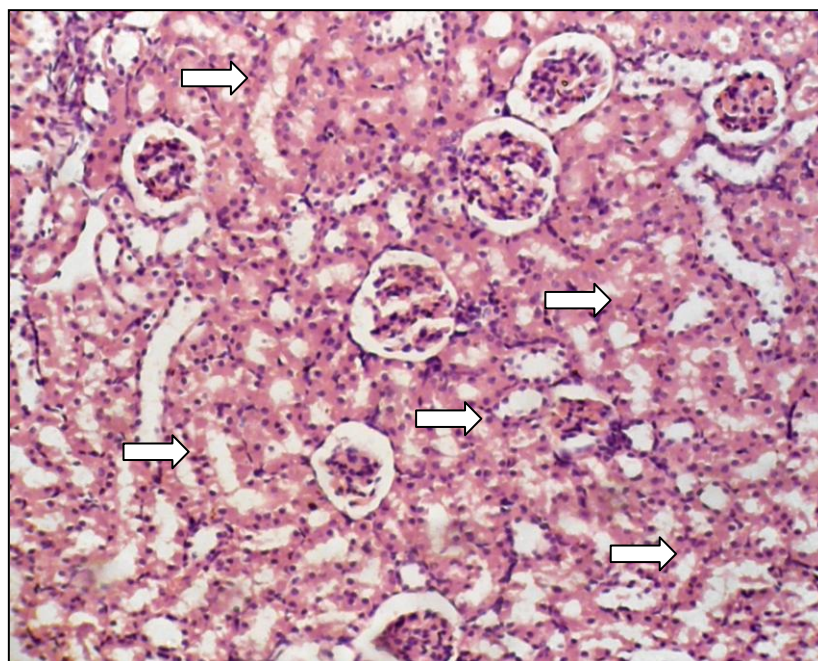


Рис. 7.20. Кіркова речовина нирки щура з ГГН після введення 7 днів дилтіазему. Стрілками вказані епітеліоцити в стані гідропічного набухання. Гематоксилін-еозин.  $\times 100$ .

Після введення 7 днів дилтіазему кількість клубочків з явищами набряку становила  $17,0 \pm 0,95\%$ , а пошкоджених епітеліоцитів –  $67,5 \pm 1,09\%$ . Тип пошкодження епітеліоцитів після дії БКК характеризувався як легкий ступінь оборотного набухання клітини – гідропічне набухання без вакуолізації цитоплазми. Таким чином, у порівнянні з динамічною структурною перебудовою нирок залежно від кратності введення флокаліну, морфологічна

картина нирок після разового і семиденного застосування дилтіазему на тлі енергодефіциту і розвитку гострої ГГГН практично не відрізнялась.

#### **7.2.4. Зміни морфологічного стану нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гістогемічної гіпоксичної нефропатії**

Згідно плану експериментів, перше введення модуляторів іонних каналів здійснювали на 30 добу після моделювання ГГГН. Біологічний матеріал для морфологічного дослідження забирали на сьомий день корекції через дві години після введення флокаліну та дилтіазему. За умов хронізації ГГГН у никах щурів мали місце три морфологічних явища (рис. 7.21).

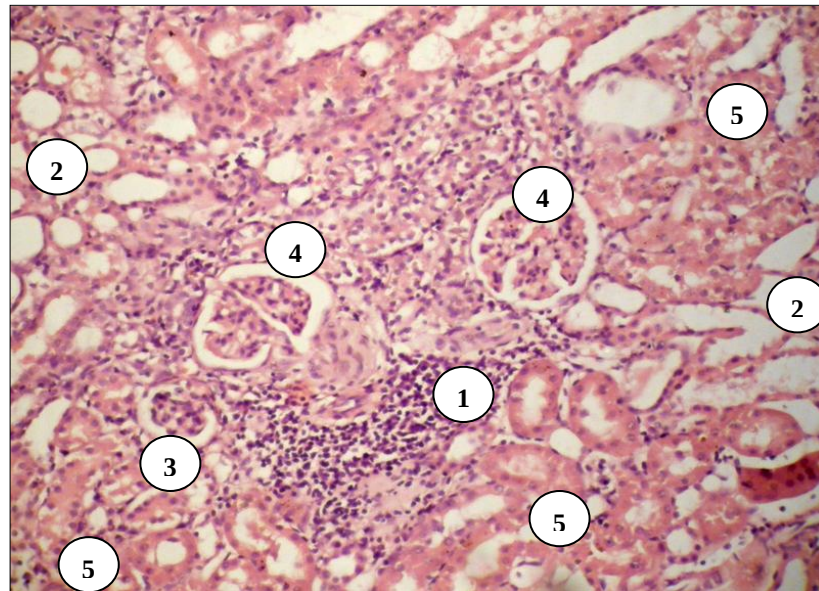


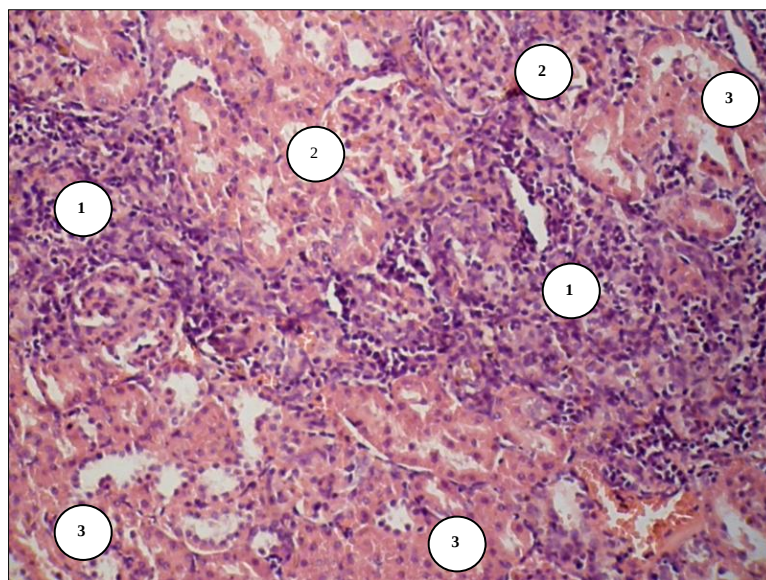
Рис. 7.21. Кіркова речовина нирки щура з хронізацією ГГГН. 1 – осередок фіброзу строми. 2 – осередки атрофії епітелію звивистих канальців. 3 – атрофований клубочок. 4 – незмінені клубочки. 5 – звивисті канальці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

Перші два явища були проявами хронічної патології (гіпоксії) і полягали в осередковому фіброзі строми кіркової речовини нирки та атрофії  $18,0 \pm 0,9\%$  епітеліоцитів звивистих канальців. Слід вказати і на атрофію окремих клубочків нирки. Третє явище відноситься до патології, яка може розвиватися

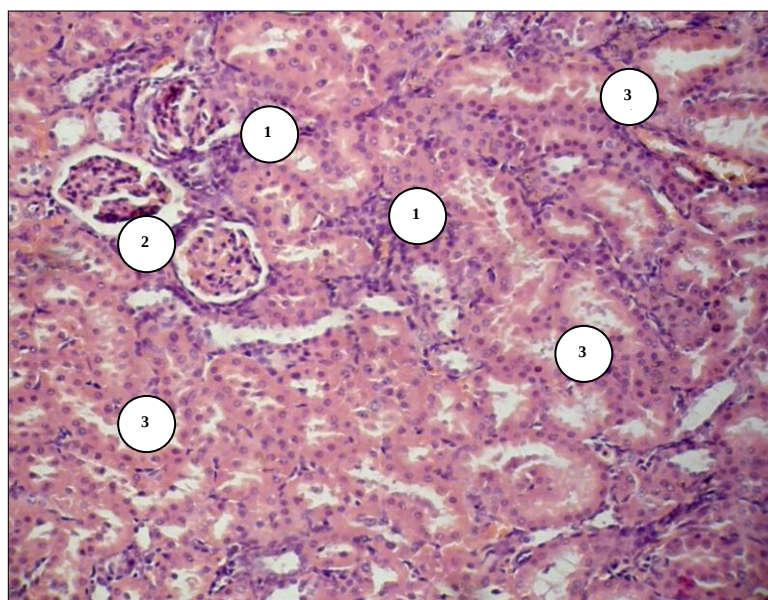


і при гострій, і при хронічній гіпоксії – оборотне набухання (гідропічне набухання та гідропічна вакуолізація) епітелію звивистих канальців, цей процес поширювався на  $64,0 \pm 1,2\%$  епітеліоцитів звивистих канальців.

Застосування 7 днів обох модуляторів іонного току за умов хронізації ГГГН викликало подібні структурні зміни нирок (рис. 7.22).



А



Б

Рис. 7.22. Кіркова речовина нирки щура з хронізацією ГГГН після введення флокаліну (А) і дилтіазему (Б). 1 - осередок фіброзу стромы. 2 – незмінені клубочки. 3 – звивисті канальці з проявами оборотного набухання епітеліоцитів. Гематоксилін-еозин.  $\times 200$ .

Під впливом флокаліну оборотне набухання поширювалося на  $58,0 \pm 1,1\%$  епітеліоцитів звивистих каналців (див. рис. 7.22, А), після введення дилтіазему – на  $59,0 \pm 1,4\%$  епітеліоцитів звивистих каналців у пошкоджених гіпоксією тканинах нирок (див. рис. 7.22, Б).

Таким чином, дослідження мікропрепаратів нирок на стадії хронізації гіпоксичної нефропатії, спричиненої гемічним і гістотоксичним чинниками, встановило практично аналогічну морфологічну картину по відношенню до фіброзу та оборотного набухання після застосування представників різних класів модуляторів іонних каналів. Так, характерними структурними особливостями для обох експериментальних груп щурів було те, що фіброз строми залишався на рівні контролю, хоча атрофічних явищ у каналцях та клубочках не виявлено. Отже, після поєднання чинників гістогемічної гіпоксії гемоглобінова дисфункція та біоенергетичні порушення нефроцитів відображалися 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 відмінностей, порівняно з інтактними щурами, на початковій стадії розвитку гіпоксичної нефропатії. В цьому ж періоді динаміка гістологічної перебудови була більш притаманна впливам флокаліну, головним чином, через зміни функціонального стану  $K_{ATP}$  каналів і посилення біохімічної активності 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.

## РОЗДІЛ 8

### СТАН ПРОТЕОЛІЗУ/ФІБРИНОЛІЗУ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ МОДУЛЯТОРІВ ІОННИХ КАНАЛІВ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ НЕФРОПАТІЙ

Розвиток та прогресування нефрологічних захворювань супроводжуються змінами процесів необмеженого протеолізу та фібринолізу, стан яких відображається на динаміці показників функцій нирок [123]. Так, робота клітинних гомеостатичних механізмів залежить від збалансованої діяльності протеолітичної та протеаз-інгібіторних систем організму. Гальмування протеолітичної активності ниркових тканин призводить до дисбалансу між протеолізом і колагеногенезом у бік посилення синтезу колагену з формуванням дифузного фіброзу нирок. Деструктивну роль також відіграє надмірна активація протеолізу, спричинена еміграцією в уражені тканини та екзоцитозом нейтрофільних гранулоцитів з послідовним вивільненням неспецифічних протеїназ, пошкодженням, у тому ж числі і вільнорадикальним, лізосомальних мембран клітин. Деструктивні ефекти протеолітичних ферментів спрямовані, перш за все, на сполучнотканинні компоненти строми, гістогемічні бар'єри, білкові та глікопротеїдні складові клітинних мембран. Крім цього, активація неспецифічних протеїназ на тлі зниження рівня їх інгібіторів індукує плазмові регуляторні системи (калікреїнової системи, систем комплементу, зсідання крові та фібринолізу) з подальшим накопиченням медіаторів, вазоактивні та тромбогенні ефекти яких відіграють ключову роль у порушенні мікроциркуляції та посиленні гіпоксичного пошкодження тканин нирок.

Гальмування фібринолітичної системи на тлі вазоконстрикції, спричиненої Анг II, при патології нирок призводить до внутрішньосудинного відкладання фібрин-фібриногену, порушення мікрогемореології [144]. Пригнічення тканинного фібринолізу в нирках спричинює розвиток тромбозу, уротромбозу з наступною заміною фібрину на колаген [5]. У свою чергу,

зміни реологічних властивостей крові індукують компенсаторне посилення напруги зсуву в залишкових функціонуючих нефронах з пошкодженням і відшаруванням судинного ендотелію, розвитком капілярно-трофічної недостатності, ішемії ниркової тканини та, в кінцевому результаті, гломерулярного та тубулоінтерстиціального фіброзу.

У теперішній час зміни протеолізу/фібринолізу розглядають як патофізіологічне підґрунтя хвороб нирок і як мішень нефропротективної стратегії. В зв'язку з цим, наступним етапом роботи було дослідження впливу модуляторів іонних каналів на величини необмеженого (тотального) протеолізу та фібринолітичної активності плазми крові, сечі, кіркової, мозкової речовини і сосочку нирок за умов експериментальних нефропатій.

### **8.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на протеоліз/фібриноліз за умов розвитку токсичної сулемової нефропатії**

У механізмах пошкодження нефронів прямі мембранотоксичні ефекти призводять до дизрегуляції систем фібринолізу/протеолізу [14, 19]. Перебіг розвитку токсичних нефропатій та ремоделювання тубулоінтерстицію знаходяться у прямій залежності від стану цих систем. Для з'ясування можливої ролі модуляторів іонних каналів у попередженні коагулопатій та дисбалансу між протеолізом і колагеногенезом досліджувались зміни протеолізу та фібринолізу після введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку та хронізації сулемової нефропатії.

#### **8.1.1. Стан фібринолізу/протеолізу після разового введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії**

Проведені дослідження показали, що в перший день розвитку сулемової нефропатії протеолітична активність крові характеризувалась підвищенням на 160% ферментативного розщеплення азоальбуміну, збільшенням на 135,3% лізису азоказеїну та зростанням на 50% протеолізу за азоколагеном (табл. 8.1).

Таблиця 8.1

Стан протеолізу/фібринолізу плазми крові та сечі щурів після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники,<br>Е <sub>440</sub> /год/мл          | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія          | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін          | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем        |
|-------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|------------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Плазма крові                                    |                           |                                 |                                                |                                               |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $0,05 \pm 0,007$          | $0,13 \pm 0,007$<br>$p < 0,001$ | $0,07 \pm 0,017$<br>$p1 < 0,05$                | $0,08 \pm 0,016$<br>$p1 < 0,05$               |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $0,17 \pm 0,017$          | $0,23 \pm 0,012$<br>$p < 0,05$  | $0,17 \pm 0,018$<br>$p1 < 0,05$                | $0,18 \pm 0,016$<br>$p1 < 0,05$               |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,03 \pm 0,006$          | $0,05 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$  | $0,03 \pm 0,004$                               | $0,04 \pm 0,006$                              |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $0,04 \pm 0,004$          | $0,01 \pm 0,002$<br>$p < 0,01$  | $0,02 \pm 0,002$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$  | $0,02 \pm 0,004$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,03 \pm 0,004$          | $0,005 \pm 0,001$<br>$p < 0,01$ | $0,008 \pm 0,002$<br>$p < 0,01$                | $0,009 \pm 0,010$                             |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $0,008 \pm 0,003$         | $0,008 \pm 0,001$               | $0,017 \pm 0,002$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$ | $0,010 \pm 0,004$                             |
| Сеча                                            |                           |                                 |                                                |                                               |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $0,44 \pm 0,024$          | $0,63 \pm 0,035$<br>$p < 0,01$  | $0,48 \pm 0,027$<br>$p1 < 0,05$                | $0,50 \pm 0,042$<br>$p1 < 0,05$               |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $0,88 \pm 0,020$          | $1,77 \pm 0,084$<br>$p < 0,001$ | $1,52 \pm 0,120$<br>$p < 0,01$                 | $1,46 \pm 0,109$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,16 \pm 0,013$          | $0,23 \pm 0,044$                | $0,16 \pm 0,040$                               | $0,18 \pm 0,021$                              |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $0,52 \pm 0,027$          | $0,43 \pm 0,020$<br>$p < 0,05$  | $0,49 \pm 0,013$<br>$p1 < 0,05$                | $0,50 \pm 0,022$<br>$p1 < 0,05$               |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,37 \pm 0,013$          | $0,21 \pm 0,018$<br>$p < 0,001$ | $0,29 \pm 0,009$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,01$ | $0,30 \pm 0,014$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$ |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $0,15 \pm 0,040$          | $0,21 \pm 0,036$                | $0,20 \pm 0,011$                               | $0,22 \pm 0,034$                              |

Примітка. Достовірність різниць порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з сулемовою нефропатією.

Аналогічна тенденція змін спостерігалась при вивченні протеолітичної активності сечі. Так, показники деградації азоколагену вірогідно не

відрізнялись від контролю, лізис азоальбуміну підвищувався на 43,2%, протеоліз за азоказеїном зростав на 101,1%.

Фібринолітична активність плазми крові через 2 години після введення сулеми відрізнялась зниженою тенденцією значень у порівнянні з інтактними щурами (див. табл. 8.1): на 75% і на 83,4%, відповідно, зменшувались показники СФА та НФА. Водночас зниження на 17,3% СФА сечі також відбувалось за рахунок зменшення неферментативної складової на 43,2%.

Під впливом відкривача  $K_{ATP}$  каналів знижувалась протеолітична активність плазми крові та сечі (див. табл. 8.1). У порівнянні з показниками при нефропатії, після застосування флокаліну лізис азоальбуміну в плазмі крові зменшувався на 46,2%, у сечі – на 23,8%. Ферментативне розщеплення азоказеїну в плазмі крові знижувалось на 16,1%, у сечі цей показник був лише на 72% вищий за контроль. Відновлювалась колагеназна активність.

Ведення флокаліну щурам з моделлю патології спричинило підвищення СФА плазми крові на 100% як за рахунок збільшення на 112,5% ФФА, так і зростання на 73,4% НФА. Крім цього, спостерігалось підвищення на 14% СФА сечі внаслідок збільшення за умов активації калієвих каналів неферментативного фібринолізу на 38,1%.

Після разового застосування дилтіазему через дві години розвитку сулемової нефропатії спостерігалась аналогічна впливам флокаліну тенденція змін показників протеолізу/фібринолізу у досліджуваних біологічних рідинах. У щурів з гострим ураженням нирок підвищений плазмовий лізис азоальбуміну знижувався на 60%, лізис азоказеїну зменшувався на 5,9%. Внаслідок впливу БКК змінені сулемою величини необмеженого протеолізу в плазмі крові практично досягали контрольного рівня.

Лізис азоколагену в сечі під впливом дилтіазему вірогідно не змінювався. Деградація як низькомолекулярного білку альбуміну, так і високомолекулярного білку казеїну в сечі після застосування БКК зменшувалась. У порівнянні з нелікованими щурами, лізис азоальбуміну знижувався на 20,7%, лізис азоказеїну зменшувався на 17,6%.



На тлі введення БКК у щурів з нефропатією СФА сечі зростала на 17,3% і відновлення показника відбувалось за рахунок підвищення на 42,8% НФА.

Пошкодження необмеженого протеолізу проявлялось підвищеною деградацією білків у кірковому шарі. Лізис азоальбуміну зростав на 151,6%, лізис азоказеїну та азоколагену – на 69,7% і на 105,6%, відповідно (табл. 8.2).

Таблиця 8.2

Показники протеолізу/фібринолізу в тканинах нирок щурів після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 10$ )

| Показники<br>Е <sub>440</sub> /год/мг        | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія    | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем             |
|----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------------------|
| 1                                            | 2                         | 3                         | 4                                     | 5                                                  |
| Кіркова речовина                             |                           |                           |                                       |                                                    |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 6,72 ± 1,016              | 16,91 ± 1,662<br>p < 0,01 | 10,32 ± 1,935<br>p1 < 0,05            | 11,68 ± 1,911<br>p < 0,05                          |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 1,52 ± 0,126              | 2,58 ± 0,478<br>p < 0,05  | 1,68 ± 0,345                          | 2,00 ± 0,454                                       |
| Лізис<br>азоколагену                         | 1,23 ± 0,108              | 2,53 ± 0,128<br>p < 0,001 | 1,70 ± 0,081<br>p < 0,01<br>p1 < 0,01 | 2,40 ± 0,107<br>p < 0,001<br>p2 < 0,01             |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 5,76 ± 0,331              | 3,76 ± 0,295<br>p < 0,01  | 5,17 ± 0,292                          | 3,63 ± 0,469<br>p < 0,05                           |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 2,90 ± 0,526              | 2,64 ± 0,331              | 2,88 ± 0,416                          | 1,76 ± 0,100<br>p < 0,05<br>p1 < 0,05<br>p2 < 0,05 |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 2,86 ± 0,588              | 1,12 ± 0,328<br>p < 0,05  | 2,37 ± 0,364<br>p1 < 0,05             | 1,87 ± 0,496                                       |
| Мозкова речовина                             |                           |                           |                                       |                                                    |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 6,96 ± 1,421              | 9,44 ± 1,920              | 8,63 ± 0,549                          | 9,14 ± 1,920                                       |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 2,67 ± 0,456              | 2,91 ± 0,825              | 2,80 ± 1,278                          | 3,74 ± 0,787                                       |
| Лізис<br>азоколагену                         | 1,15 ± 0,221              | 2,37 ± 0,020<br>p < 0,01  | 1,41 ± 0,335<br>p1 < 0,05             | 2,26 ± 0,075<br>p < 0,01<br>p2 < 0,05              |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 4,06 ± 0,360              | 2,77 ± 0,418<br>p < 0,05  | 4,19 ± 0,771                          | 2,84 ± 0,346<br>p < 0,05                           |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 2,40 ± 0,408              | 2,27 ± 0,266              | 2,16 ± 0,465                          | 2,20 ± 0,151                                       |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 1,66 ± 0,272              | 0,50 ± 0,255<br>p < 0,01  | 2,03 ± 0,542<br>p1 < 0,05             | 0,64 ± 0,246<br>p < 0,05<br>p2 < 0,05              |

Продовження табл. 8.2

| 1                                         | 2            | 3                        | 4                          | 5                        |
|-------------------------------------------|--------------|--------------------------|----------------------------|--------------------------|
| Сосочок нирок                             |              |                          |                            |                          |
| Лізис азобальбуміну                       | 9,95 ± 1,492 | 11,84 ± 3,093            | 9,67 ± 0,701               | 8,11 ± 2,357             |
| Лізис азоказеїну                          | 5,01 ± 1,043 | 4,50 ± 1,028             | 5,25 ± 2,953               | 7,48 ± 1,631             |
| Лізис азоколагену                         | 1,51 ± 0,290 | 2,90 ± 0,149<br>p < 0,01 | 1,22 ± 0,138<br>p1 < 0,001 | 2,30 ± 0,648<br>p < 0,01 |
| Сумарна фібринолітична активність         | 2,59 ± 0,259 | 3,98 ± 0,299<br>p < 0,01 | 3,20 ± 0,399               | 3,50 ± 0,804             |
| Неферментативна фібринолітична активність | 1,52 ± 0,224 | 3,22 ± 0,328<br>p < 0,01 | 2,14 ± 0,237<br>p1 < 0,05  | 2,74 ± 0,573             |
| Ферментативна фібринолітична активність   | 1,07 ± 0,151 | 0,77 ± 0,152             | 1,06 ± 0,307               | 0,61 ± 0,301             |

Примітка. Достовірність порівняно: p – з контролем, p1 – з сулемовою нефропатією, p2 – з щурами, яким вводили флокалін.

Після разової активації  $K_{ATF}$  каналів лізис альбуміну був на 53,6% вищий за контрольне значення. Однак лізис азоказеїну відновлювався, а лізис азоколагену хоча і був на 38% вищий, ніж у здорових щурів, але зменшувався на 32,9%, порівняно з показниками у щурів з моделлю патології нирок.

На тлі одноразового введення дилтіазему лізис низькомолекулярних білків у кірковому шарі нирок перевищував контрольне значення на 73,8%. При цьому у щурів з сулемовою нефропатією лізис азоказеїну не змінювався, зберігався підвищений рівень лізису азоколагену як у порівнянні з контролем (на 95,1%), так і порівняно з групою, якій вводили флокалін (на 41,2%).

Внаслідок зниження під дією сулеми в кортикальному шарі нирок ферментативного фібринолізу на 60%, зменшувалась на 34,8% СФА. Після застосування флокаліну, за рахунок збільшення на 111,6% ферментативної активності, показник СФА зростав до рівня у інтактних щурів.

Введення за аналогічних умов дилтіазему не призвело до відновлення фібринолітичної активності в кірковій речовині нирок. Суттєве зниження неферментативної складової під впливом препарату, порівняно з усіма досліджуваними групами щурів, відобразилось на СФА, значення якої лишалось на рівні у нелікованих щурів і на 35% було нижче за контроль.

У мозковому шарі пошкоджених сулемою нирок у двічі зростав лізис азоколагену (див. табл. 8.2). Після введення флокаліну лізис азоколагену зменшувався на 40,6% та, як і інші досліджувані показники необмеженого протеолізу, дорівнював контрольному значенню. На відміну від дії відкривача  $K_{ATF}$  каналів, дилтіазем не відновлював колагеназну активність у мозковому шпірі нирок і лізис азоколагену залишався вищим за контроль на 96,5%.

Початковий період розвитку сулемової нефропатії характеризувався зниженням ФФА та СФА, відповідно, на 70% і на 31,8% у мозковому шарі нирок. Неферментативний фібриноліз у мозковій речовині не змінювалась у всіх досліджуваних щурів з токсичною патологією. Після введення флокаліну на 22,3% підвищувалась ФФА, що спричинило відновлення контрольного рівня СФА. Дилтіазем не змінював стан фібринолізу в мозковій речовині за умов гострої сулемової нефропатії. При цьому СФА та ФФА були на 30% і на 61,5% нижче, ніж у інтактних щурів.

Аналіз необмеженого протеолізу в сосочку нирок виявив зміни лише лізису азоколагену (див. табл. 8.2), що вказувало на менше залучення сосочку в гострий патологічний процес. За умов сулемової нефропатії лізис азоколагену зростав на 88,3%, не змінювався під впливом дилтіазему, зменшувався на 68% і досягав контролю після введення флокаліну.

Водночас на рівні сосочка нирок щурів з нефрологічною патологією спостерігалось збільшення СФА та НФА, відповідно, на 53,7% і на 111,8% (див. табл. 8.2). Під впливом флокаліну знижувалась на 33,6% НФА і показники, як і після введення дилтіазему не відрізнялись від контролю.

### **8.1.2. Стан протеолізу/фібринолізу після семиденного введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії**

Розвиток токсичної нефропатії через сім днів після введення щурам сулеми супроводжувався змінами протеолізу/фібринолізу в сечі на тлі відсутності істотних відмінностей у плазмі крові (табл. 8.3).

Таблиця 8.3

Протеолітична та фібринолітична активність сечі щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 10$ )

| Показники,<br>Е <sub>440</sub> /год/мл          | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія         | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем                        |
|-------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Протеолітична активність                        |                           |                                |                                       |                                                               |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $0,44 \pm 0,024$          | $0,34 \pm 0,039$<br>$p < 0,05$ | $0,59 \pm 0,066$<br>$p1 < 0,05$       | $0,37 \pm 0,020$<br>$p < 0,05$                                |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $0,88 \pm 0,020$          | $0,76 \pm 0,052$<br>$p < 0,05$ | $0,80 \pm 0,069$                      | $1,14 \pm 0,071$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,01$  |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,16 \pm 0,013$          | $0,36 \pm 0,081$<br>$p < 0,05$ | $0,25 \pm 0,052$                      | $0,55 \pm 0,034$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,05$ |
| Фібринолітична активність                       |                           |                                |                                       |                                                               |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $0,52 \pm 0,027$          | $0,40 \pm 0,043$<br>$p < 0,05$ | $0,60 \pm 0,055$<br>$p1 < 0,05$       | $0,71 \pm 0,065$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$                 |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,37 \pm 0,013$          | $0,34 \pm 0,017$               | $0,48 \pm 0,037$<br>$p1 < 0,05$       | $0,54 \pm 0,063$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$                 |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $0,25 \pm 0,041$          | $0,15 \pm 0,018$<br>$p < 0,05$ | $0,20 \pm 0,013$                      | $0,24 \pm 0,019$<br>$p1 < 0,05$                               |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з сулемовою нефропатією,  $p2$  – з щурами, яким вводили флокалін.

Не виключено, що внаслідок переважної локалізації патологічного процесу в нирках, на цьому етапі розвитку сулемової інтоксикації не було виражених змін показників у плазмі крові. Про порушення збалансованості процесів протеолізу свідчило зниження в сечі лізису азоальбуміну на 22,8%, лізису азоказеїну на 13,7% і зростання колагеназної активності на 125%. Стан фібринолізу характеризувався зниженням СФА сечі на 23,1% і на 40% – ФФА.

Дія модуляторів іонних каналів не характеризувалась одномантністю змін протеолізу сечі (див. табл. 8.3). Після семиразового введення флокаліну у щурів з сулемовою нефропатією лізис азоальбуміну зростав на 34% та, як і інші

досліджувані показники протеолізу, практично повертався до контрольного рівня. Під впливом дилтіазему лізис азоальбуміну у щурів з патологією нирок не змінювався і на 16% лишався нижчим за рівень у інтактних щурів. Лізис азоказеїну на тлі дії БКК збільшувався на 50%, на 29,5% і на 42,5%, відповідно до нелікованих, контрольних і щурів, яким вводили флокалін. Лізис азоколагену після введення дилтіазему зростав на 58,7% і показник був удвічі вищий, ніж після введення флокаліну і на 75,7% більше, ніж у контролі.

Фібринолітична активність сечі підвищувалась після введення 7 днів обох модуляторів іонних каналів (див. табл. 8.3). У щурів з нирковою патологією під впливом флокаліну СФА сечі зростала на 50% внаслідок збалансування ферментативного та підвищення на 41,2% неферментативного фібринолізу. На тлі дії дилтіазему СФА, НФА і ФФА збільшувалась на 77,5%, на 58,3% і на 60%, відповідно. Процеси фібринолізу під впливом дилтіазему відбувались інтенсивніше, ніж у інтактних щурів: показники СФА та НФА перевищували контрольні значення на 36,5% і на 45,9%, відповідно.

Результати дослідження тканинного протеолізу після семиденного введення флокаліну та дилтіазему показані в таблиці 8.4.

Таблиця 8.4

Показники протеолізу/фібринолізу в тканинах нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 8$ )

| Показники<br>Е <sub>440</sub> /ГОД/мл | Контроль<br>інтактні<br>щери | Сулемова<br>нефропатія   | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем                |
|---------------------------------------|------------------------------|--------------------------|---------------------------------------|-------------------------------------------------------|
| 1                                     | 2                            | 3                        | 4                                     | 5                                                     |
| Кіркова речовина                      |                              |                          |                                       |                                                       |
| Лізис<br>азоальбуміну                 | 6,72 ± 1,016                 | 6,75 ± 2,999             | 6,38 ± 2,209                          | 7,19 ± 2,057                                          |
| Лізис<br>азоказеїну                   | 1,52 ± 0,126                 | 3,50 ± 0,248<br>p < 0,01 | 2,08 ± 0,230<br>p < 0,05<br>p1 < 0,01 | 8,96 ± 0,377<br>p < 0,001<br>p1 < 0,001<br>p2 < 0,001 |
| Лізис<br>азоколагену                  | 1,23 ± 0,108                 | 2,16 ± 0,142<br>p < 0,01 | 1,58 ± 0,062<br>p < 0,01<br>p1 < 0,01 | 4,69 ± 0,477<br>p < 0,01<br>p1 < 0,01<br>p2 < 0,01    |

Продовження табл. 8.4

| 1                                            | 2                | 3                              | 4                                             | 5                                                             |
|----------------------------------------------|------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|---------------------------------------------------------------|
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | $5,76 \pm 0,331$ | $3,84 \pm 0,314$<br>$p < 0,01$ | $3,92 \pm 0,474$<br>$p < 0,05$                | $5,52 \pm 0,599$<br>$p1 < 0,01$                               |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | $2,90 \pm 0,526$ | $3,23 \pm 0,180$               | $2,84 \pm 0,030$                              | $4,37 \pm 0,568$                                              |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | $2,86 \pm 0,588$ | $0,61 \pm 0,205$<br>$p < 0,01$ | $0,86 \pm 0,154$<br>$p < 0,05$                | $1,15 \pm 0,141$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,01$                 |
| Мозкова речовина                             |                  |                                |                                               |                                                               |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | $6,96 \pm 1,421$ | $3,94 \pm 1,690$               | $5,54 \pm 1,917$                              | $5,33 \pm 2,753$                                              |
| Лізис<br>азоказеїну                          | $2,67 \pm 0,456$ | $1,12 \pm 0,609$<br>$p < 0,05$ | $1,74 \pm 0,250$                              | $8,91 \pm 1,517$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,01$  |
| Лізис<br>азоколагену                         | $1,15 \pm 0,221$ | $2,59 \pm 0,646$<br>$p < 0,05$ | $1,34 \pm 0,103$                              | $4,54 \pm 0,644$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,01$  |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | $4,06 \pm 0,360$ | $3,36 \pm 0,263$               | $3,94 \pm 0,203$                              | $7,06 \pm 1,592$<br>$p1 < 0,05$                               |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | $2,40 \pm 0,408$ | $2,72 \pm 0,126$               | $3,00 \pm 0,195$                              | $4,82 \pm 1,167$                                              |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | $1,66 \pm 0,272$ | $0,64 \pm 0,230$<br>$p < 0,05$ | $0,75 \pm 0,237$<br>$p < 0,05$                | $2,24 \pm 0,645$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,05$                |
| Сосочок нирок                                |                  |                                |                                               |                                                               |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | $9,95 \pm 1,492$ | $3,65 \pm 1,671$<br>$p < 0,05$ | $5,11 \pm 0,214$<br>$p < 0,05$                | $5,37 \pm 0,646$<br>$p < 0,05$                                |
| Лізис<br>азоказеїну                          | $5,01 \pm 1,043$ | $1,79 \pm 0,527$<br>$p < 0,05$ | $6,74 \pm 0,616$                              | $8,00 \pm 1,053$<br>$p1 < 0,01$                               |
| Лізис<br>азоколагену                         | $1,51 \pm 0,290$ | $1,38 \pm 0,318$               | $2,37 \pm 0,334$<br>$p1 < 0,05$               | $4,51 \pm 0,317$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,01$ |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | $2,59 \pm 0,259$ | $2,88 \pm 0,604$               | $4,35 \pm 0,308$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$ | $4,93 \pm 0,338$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,01$  |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | $1,52 \pm 0,224$ | $2,10 \pm 0,559$               | $3,30 \pm 0,319$<br>$p < 0,01$                | $4,32 \pm 0,286$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,05$  |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | $1,07 \pm 0,151$ | $0,78 \pm 0,189$               | $1,06 \pm 0,08$                               | $0,61 \pm 0,108$<br>$p < 0,05$<br>$p2 < 0,05$                 |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з сулемовою нефропатією,  $p2$  – з щурами, яким вводили флокалін.

У кірковій речовині нирок зростала інтенсивність розпаду високомолекулярних білків: показники лізису азоказеїну та азоколагену підвищувались, відповідно, на 130,3% і 75,6%. Лізис азоальбуміну на рівні кіркової речовини не змінювався в усіх досліджуваних групах.

Після введення 7 днів флокаліну пригнічувалось руйнування високомолекулярних білків. Обидва показники лишались вищими за контроль: лізис азоказеїну був більший на 36,8%, лізис азоколагену – на 23,6%. Разом з тим, у порівнянні з групою нелікованих щурів, під впливом флокаліну протеолітична активність за азоказеїном зменшувалась на 40,6%, за азоколагеном – на 36,9%. Після введення дилтіазему стан необмеженого протеолізу у щурів з сулемовою нефропатією також змінювався. Однак, на відміну від флокаліну, деградація високомолекулярних білків значно підвищувалась. Протеолітична активність за азоказеїном у щурів з сулемовою нефропатією збільшувалась на 156,% і майже в 6 разів була вище за контроль, а також у 4,3 разу перевищувала показник у пролікованих флокаліном щурів.

Прогресування сулемової нефропатії супроводжувалось зниженням на 33,4% СФА і на 79,7% ФФА в кірковому шарі нирок (див. табл. 8.4). Після введення флокаліну обидва показники лишались нижчими, ніж у інтактних щурів. Під впливом дилтіазему у щурів з сулемовою нефропатією ФФА майже вдвічі зростала, а СФА збільшувалась на 43,7% і досягала рівня контролю.

Стан необмеженого протеолізу в мозковій речовині характеризувався зменшенням лізису азоказеїну на 59,1% і зростанням на 125,2% лізису азоколагену (див. табл. 8.4). Спостерігалась тенденція до зниження розпаду низькомолекулярного азоальбуміну в мозковому шарі пошкоджених сулемою нирок, але зміни не були статистично значущими. Можна зазначити, що на рівні мозкової речовини стан протеолізу практично відновлювався під впливом флокаліну і суттєво активувався після застосування дилтіазему. Так, у щурів з сулемовою нефропатією після введення БКК лізис азоказеїну зростав у 8 разів, а порівняно зі здоровими і пролікованими флокаліном щурами збільшувався в 3 рази.

На рівні мозкової речовини дилтіазем в більшій мірі, ніж флокалін впливав на фібринолітичну активність нирки (див. табл. 8.4). Дослідження показали, що токсичний вплив сулеми проявлявся зниженням на 61,5% ФФА. При цьому не спостерігалось коригувальної дії флокаліну. Після введення дилтіазему показник на 35% перевищував рівень контролю і на 250% зростав у групі з моделлю патології, що спричинило підвищення на 110% НФА.

У сосочку нирок на сьомий день розвитку токсичної нефропатії протеолітична активність знижувалась за азоальбуміном на 63,4%, за азоказеїном – на 64,3%. Після введення активатора  $K_{ATФ}$  каналів лізис азоальбуміну лишався нижчим, ніж у інтактних щурів. Однак відновлювалась протеолітична активність за азоказеїном і на 71,8% зростав лізис азоколагену в групі щурів з патологією нирок. Під впливом дилтіазему інтенсивність розпаду низькомолекулярних білків також не змінювалась. У щурів з сулемовою нефропатією в 4,5 разу зростав лізис азоказеїну, і на 226% збільшувався лізис азоколагену. Підвищення колагеназної активності під впливом дилтіазему, порівняно з дією флокаліну та з контролем, становило 90% і 198,6%.

Зміни фібринолізу в сосочку нирок на сьомий день після введення сулеми не відрізнялись статистично значимим відмінностями (див. табл. 8.4). Однак, саме на сосочковому рівні проявлявся фібринолітичний ефект флокаліну. У порівнянні з контролем НФА зростала на 117%, що і спричинило підвищення СФА. Під впливом активатора  $K_{ATФ}$  каналів цей показник у щурів з сулемовою нефропатією зростав на 51% і на 67,9% перевищував контрольний рівень.

Після введення дилтіазему ферментативний фібриноліз був на 43% нижче, порівняно і з контролем, і з дією флокаліну (див. табл. 8.4). Однак, завдяки зростанню неферментативної складової на 105,7%, у щурів з патологією нирок сумарний фібриноліз збільшувався на 71,2%. При цьому обидва показники суттєво перевищували значення як інтактної групи, так і групи з флокаліном.



### 8.1.3. Стан протеолізу/фібринолізу під впливом флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії

Хронічне пошкодження нирок супроводжується посиленням ендогенної інтоксикації внаслідок виснаження багатьох компенсаторних механізмів. Як було вже зазначено, протеоліз відноситься до фізіологічних процесів організму, що виконують і деструктивну, і регуляторну роль. Науковими дослідженнями доведено взаємозв'язок протеолізу/фібринолізу з іншими системами підтримки гомеостатичної діяльності нирок (антиоксидантного захисту, енергетичного забезпечення тощо) [13, 19, 36, 135, 144].

У зв'язку з цим, наступним етапом роботи було вивчення стану необмеженого протеолізу та фібринолітичної активності за умов хронізації токсичної патології нирок після введення 7 днів модуляторів калієвого і кальцієвого току, починаючи з тридцятого дня моделювання сулемової нефропатії (табл. 8.5).

Таблиця 8.5

Протеолітична та фібринолітична активність плазми крові та сечі щурів після семиразового введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники,<br>Е <sub>440</sub> /год/мл          | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія       | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем |
|-------------------------------------------------|---------------------------|------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| 1                                               | 2                         | 3                            | 4                                     | 5                                      |
| Плазма крові                                    |                           |                              |                                       |                                        |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | 0,07 ± 0,011              | 0,04 ± 0,008<br>$p < 0,05$   | 0,08 ± 0,012                          | 0,05 ± 0,010                           |
| Лізис<br>азоказеїну                             | 0,22 ± 0,014              | 0,16 ± 0,014<br>$p < 0,05$   | 0,19 ± 0,018                          | 0,02 ± 0,013                           |
| Лізис<br>азоколагену                            | 0,04 ± 0,009              | 0,05 ± 0,016                 | 0,03 ± 0,004                          | 0,03 ± 0,009                           |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | 0,08 ± 0,012              | 0,07 ± 0,023                 | 0,09 ± 0,014                          | 0,09 ± 0,021                           |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | 0,05 ± 0,004              | 0,06 ± 0,003                 | 0,06 ± 0,003                          | 0,07 ± 0,008                           |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | 0,029 ± 0,0031            | 0,011 ± 0,0052<br>$p < 0,05$ | 0,024 ± 0,0012<br>$p_1 < 0,05$        | 0,020 ± 0,0013                         |

Продовження табл. 8.5

| 1                                         | 2                | 3                              | 4                               | 5                               |
|-------------------------------------------|------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Сеча                                      |                  |                                |                                 |                                 |
| Лізис азоальбуміну                        | $0,57 \pm 0,031$ | $0,41 \pm 0,047$<br>$p < 0,05$ | $0,66 \pm 0,082$<br>$p1 < 0,05$ | $0,68 \pm 0,093$<br>$p1 < 0,05$ |
| Лізис азоказеїну                          | $1,15 \pm 0,155$ | $0,79 \pm 0,052$<br>$p < 0,05$ | $0,98 \pm 0,068$<br>$p1 < 0,05$ | $1,04 \pm 0,043$<br>$p1 < 0,05$ |
| Лізис азоколагену                         | $0,29 \pm 0,117$ | $0,13 \pm 0,018$<br>$p < 0,05$ | $0,20 \pm 0,056$                | $0,19 \pm 0,061$                |
| Сумарна фібринолітична активність         | $0,89 \pm 0,143$ | $0,57 \pm 0,027$<br>$p < 0,05$ | $1,01 \pm 0,200$<br>$p = 0,05$  | $0,84 \pm 0,121$<br>$p1 = 0,05$ |
| Неферментативна фібринолітична активність | $0,48 \pm 0,017$ | $0,35 \pm 0,056$<br>$p < 0,05$ | $0,38 \pm 0,044$                | $0,41 \pm 0,132$                |
| Ферментативна фібринолітична активність   | $0,40 \pm 0,053$ | $0,24 \pm 0,049$<br>$p < 0,05$ | $0,63 \pm 0,122$<br>$p1 < 0,05$ | $0,43 \pm 0,105$                |

Примітка. Достовірність порівняно: p – з контролем, p1 – з сулемовою нефропатією, p2 – з щурами, яким вводили флокалін.

Отримані результати свідчили, що на стадії хронізації сулемовою нефропатії протеолітична активність плазми крові знижувалась як на 43% за азоальбуміном, так і на 27% за азоколагеном. Зміни процесів фібринолізу в плазмі крові відображались зниженням на 62% ФФА і цей факт свідчив про зрушення коагуляційної рівноваги. Дослідження необмеженого протеолізу показали, що через 30 днів після введення щурам дихлориду ртуті протеолітична активність сечі знижувалась за азоальбуміном на 20,1%, за азоказеїном і за азоколагеном, відповідно, на 31,4% і на 63,2%. Показники фібринолізу при сулемовій нефропатії відрізнялись від значень у контрольної групи щурів зниженням сумарної – на 36%, неферментативної – на 27,1% і – на 40% ферментативної фібринолітичної активності.

Після введення модуляторів іонних каналів не спостерігалось різниці показників плазмового протеолізу в порівнянні з контролем (див. табл. 8.5). Фібринолітична активність плазми крові відновлювалась, при цьому ФФА під впливом флокаліну вдвічі зростала.

Протеолітична активність сечі після введення флокаліну характеризувалась підвищенням на 61% лізису азоальбуміну та на 24% лізису азоказеїну. Після введення дилтіазему лізис азоальбуміну збільшувався на 65,8%, лізис азоказеїну підвищувався на 31,6%.

Фармакологічна модуляція іонних каналів призвела до підвищення СФА сечі (див. табл. 8.5). Під впливом флокаліну показник у щурів з сулемовою нефропатією підвищувався на 77,2%, після введення дилтіазему – зростав на 47,4%. Також флокалін суттєвіше, ніж дилтіазем підвищував ФФА і різниця, порівняно з нелікованими щурами становила 162,5%.

Подальшими дослідженнями було встановлено, що у кірковому шарі нирок на стадії хронізації сулемової нефропатії знижувалась протеолітична активність: зменшення показника за азоальбуміном становило 85,5%, а за азоколагеном протеоліз знижувався на 77,8% (табл. 8.6).

Таблиця 8.6

Показники протеолізу/фібринолізу в тканинах нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії ( $x \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники<br>Е <sub>440</sub> /год/мл        | Контроль<br>інтактні<br>щури | Сулемова<br>нефропатія         | Сулемова<br>нефропатія<br>+ флокалін          | Сулемова<br>нефропатія<br>+ дилтіазем                        |
|----------------------------------------------|------------------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 1                                            | 2                            | 3                              | 4                                             | 5                                                            |
| Кіркова речовина                             |                              |                                |                                               |                                                              |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 7,14 $\pm$ 1,253             | 1,04 $\pm$ 0,083<br>$p < 0,01$ | 8,73 $\pm$ 1,234<br>$p1 < 0,01$               | 6,78 $\pm$ 2,405<br>$p1 < 0,05$                              |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 5,04 $\pm$ 0,632             | 1,12 $\pm$ 0,245<br>$p < 0,01$ | 7,17 $\pm$ 1,319<br>$p1 < 0,01$               | 2,00 $\pm$ 0,151<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,01$ |
| Лізис<br>азоколагену                         | 4,52 $\pm$ 0,511             | 4,04 $\pm$ 0,314               | 2,87 $\pm$ 0,241<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$ | 1,84 $\pm$ 0,295<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,05$ |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 4,88 $\pm$ 0,276             | 3,36 $\pm$ 0,135<br>$p < 0,05$ | 3,59 $\pm$ 0,309                              | 3,44 $\pm$ 0,591                                             |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 2,96 $\pm$ 0,117             | 2,54 $\pm$ 0,050               | 2,09 $\pm$ 0,462                              | 1,50 $\pm$ 0,352<br>$p < 0,05$                               |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 1,92 $\pm$ 0,508             | 0,82 $\pm$ 0,124<br>$p < 0,05$ | 1,50 $\pm$ 0,485                              | 1,94 $\pm$ 0,573                                             |

Продовження табл. 8.6

| 1                                         | 2             | 3                         | 4                                     | 5                                                   |
|-------------------------------------------|---------------|---------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Мозкова речовина                          |               |                           |                                       |                                                     |
| Лізис азозальбуміну                       | 10,66 ± 0,626 | 4,11 ± 0,725<br>p < 0,01  | 14,96 ± 2,250                         | 3,92 ± 1,528<br>p < 0,01                            |
| Лізис азоказеїну                          | 8,37 ± 0,515  | 5,54 ± 0,956<br>p < 0,05  | 7,07 ± 0,985                          | 1,47 ± 0,802<br>p < 0,001<br>p1 < 0,05<br>p2 < 0,01 |
| Лізис азоколагену                         | 3,92 ± 0,533  | 3,68 ± 0,328              | 2,60 ± 0,208<br>p < 0,05<br>p1 < 0,05 | 1,73 ± 0,412<br>p < 0,01<br>p1 < 0,01               |
| Сумарна фібринолітична активність         | 7,42 ± 0,452  | 6,19 ± 0,276<br>p < 0,05  | 6,82 ± 0,389                          | 6,90 ± 0,344                                        |
| Неферментативна фібринолітична активність | 4,95 ± 0,331  | 4,58 ± 0,712              | 4,11 ± 0,366                          | 4,15 ± 0,527                                        |
| Ферментативна фібринолітична активність   | 1,49 ± 0,354  | 1,62 ± 0,987              | 2,61 ± 0,526                          | 2,74 ± 0,257                                        |
| Сосочок нирок                             |               |                           |                                       |                                                     |
| Лізис азозальбуміну                       | 14,18 ± 0,746 | 11,58 ± 0,431<br>p < 0,05 | 12,44 ± 3,497                         | 11,80 ± 3,505                                       |
| Лізис азоказеїну                          | 6,56 ± 0,721  | 1,28 ± 1,197<br>p < 0,01  | 8,81 ± 1,521<br>p1 < 0,01             | 6,99 ± 1,794<br>p1 < 0,05                           |
| Лізис азоколагену                         | 4,18 ± 0,432  | 2,86 ± 0,182<br>p < 0,05  | 3,03 ± 0,350                          | 3,11 ± 0,531                                        |
| Сосочок нирок                             |               |                           |                                       |                                                     |
| Сумарна фібринолітична активність         | 5,89 ± 0,239  | 5,09 ± 0,124<br>p < 0,05  | 5,83 ± 0,242<br>p1 < 0,05             | 4,88 ± 0,580                                        |
| Неферментативна фібринолітична активність | 2,72 ± 0,176  | 2,79 ± 0,391              | 2,04 ± 0,273                          | 2,31 ± 0,694                                        |
| Ферментативна фібринолітична активність   | 3,16 ± 0,145  | 3,29 ± 0,074              | 3,89 ± 0,257<br>p < 0,05<br>p1 < 0,05 | 2,77 ± 0,518                                        |

Примітка. Достовірність порівняно: p – з контролем, p1 – з сулемовою нефропатією, p2 – з щурами, яким вводили флокалін.

Після введення флокаліну в кірковому шарі нирок лізис альбуміну зростав у 8,4 разу, лізис азоказеїну збільшувався у 6,4 разу. Разом з тим, суттєво зменшувався протеоліз за лізисом азоколагену: різниця у порівнянні з нелікованими щурами становила 29%, а відносно контрольних даних – 26,6%.

На кортикальному рівні СФА зменшувалась на 31,%, ферментативний фібриноліз знижувався на 57,3%. Після дії флокаліну показники фібринолізу у щурів з сулемовою нефропатією не відрізнялись від контрольних значень.

Під впливом дилтіазему лізис азоальбуміну збільшувався в 6,5 разу. При цьому, на відміну від моделі патології нирок, лізис азоказеїну підвищувався на 78,6%. Однак, цей показник був нижче на 60,4% за контроль і був на 72,2% менше, ніж після введення флокаліну. Спостерігалось суттєве зниження лізису азоколагену після застосування БКК у періоді хронізації патологічного процесу. На рівні кіркової речовини дилтіазем зменшував цей показник на 54,5% у щурів з сулемовою нефропатією, а порівняно з ефектом флокаліну та контрольним значенням – на 35,9% і на 59,3%, відповідно. Аналіз фібринолізу в кірковому шарі під впливом дилтіазему засвідчив відновлення ФФА. Однак, менша, ніж у контролі (на 49,4%) НФА стримувала зростання СФА.

Стан протеолізу/фібринолізу в мозковому шарі нирок у щурів з хронізацією патологічного процесу характеризувався зниженням лізису азоальбуміну на 61,5%, азоказеїну – на 33,9%, зменшенням СФА на 16,6% (див. табл. 8.6).

Після введення флокаліну лізис азоальбуміну в мозковій речовині підвищувався в 3,6 разу. Внаслідок тенденції до зростання показник розпаду азоказеїну практично не відрізнявся від контролю. Лізис азоколагену був нижчим у порівнянні як з нелікованими щурами – на 29%, так і з контрольною групою – на 33,7%. Під впливом дилтіазему ниркова протеолітична активність на рівні мозкового шару нирок за лізисом азоальбуміну не змінювалась і суттєво зменшувалась за лізисом азоказеїну та азоколагену. Так, у порівнянні з нелікованими щурами лізис азоказеїну був нижчим на 73,5%, а порівняно з введенням флокаліну та інтактною групою – на 79,3% і на 82,5%. При цьому лізис азоколагену у щурів з сулемовою нефропатією зменшувався на 53%, а зниження у порівнянні з контролем становило 55,9%. Беручи до уваги тенденцію до підвищення ферментативного фібринолізу, можна вважати, що фібринолітична активність на рівні мозкового шару під впливом модуляторів іонних каналів зростала.

На стадії хронізації сулемової нефропатії в сосочку нирок лізис низькомолекулярних білків зменшувався на 18,4%, лізис високомолекулярних

білків знижувався на 80,5%, розпад азоколагену – на 27% (див. табл. 8.6). Факт збільшення лізису азоказеїну після введення флокаліну та дилтіазему, відповідно, на 31,2% і на 45,4% дозволяє вважати, що ці модулятори іонних каналів підвищують протеоліз нирок за умов хронічного пошкодження.

Показники СФА і НФА після введення флокаліну та дилтіазему були на рівні контролю. Разом з тим, фібринолітичні ефекти АКК були більш вираженими у порівнянні з дилтіаземом. Під впливом флокаліну за рахунок збільшення на 18,2% ФФА сумарний фібриноліз у щурів з хронічним пошкодженням нирок зростав на 14,5%.

## **8.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на протеоліз/фібриноліз за умов розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Особливістю гіпоксичного пошкодження нирки є те, що нирковий кровотік первинно не порушується, тому внаслідок збереженої клубочкової фільтрації та фільтраційної загрузки іонів натрію збільшується навантаження на енергозалежні канальцеві процеси. За умов дефіциту кисню, в розвитку дисфункцій канальцевого відділу нефрону суттєву роль можуть відігравати системи протеолізу та фібринолізу. Враховуючи клінічно-діагностичну інформативність показників цих процесів для моніторингу стадій нефропатії, важливу роль відіграє здатність потенційних нефротропних лікарських засобів впливати на протеолітичну та фібринолітичну активність нирок. Протеоліз/фібриноліз вивчали після введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку ГГН, а також після застосування модуляторів іонних каналів, починаючи з 30-ї доби моделювання ГГН.

### **8.2.1. Стан протеолізу/фібринолізу після разового введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

За умов розвитку ГГН не спостерігалось змін протеолізу/фібринолізу в плазмі крові, а також і фібринолітичної активності сечі. Протеолітична

активність сечі підвищувалась як за лізисом низькомолекулярних білків – на 41,5%, так і на 25,5% за лізисом азоказеїну (табл. 8.7).

Таблиця 8.7

Стан протеолітичної та фібринолітичної активності сечі щурів після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $x \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники,<br>Е <sub>440</sub> /год/мл          | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                           | ГГГН<br>та флокалін             | ГГГН<br>та дилтіазем            |
|-------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Протеолітична активність                        |                           |                                |                                 |                                 |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $0,53 \pm 0,028$          | $0,75 \pm 0,062$<br>$p < 0,05$ | $0,58 \pm 0,019$<br>$p1 < 0,05$ | $0,61 \pm 0,016$<br>$p1 < 0,05$ |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $1,06 \pm 0,024$          | $1,33 \pm 0,078$<br>$p < 0,05$ | $1,14 \pm 0,028$<br>$p1 < 0,05$ | $1,22 \pm 0,079$                |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,19 \pm 0,016$          | $0,26 \pm 0,031$               | $0,21 \pm 0,024$                | $0,23 \pm 0,041$                |
| Фібринолітична активність                       |                           |                                |                                 |                                 |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $0,62 \pm 0,032$          | $0,64 \pm 0,023$               | $0,59 \pm 0,013$                | $0,66 \pm 0,062$                |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,44 \pm 0,016$          | $0,51 \pm 0,033$               | $0,40 \pm 0,017$                | $0,46 \pm 0,071$                |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $0,18 \pm 0,043$          | $0,14 \pm 0,016$               | $0,19 \pm 0,021$                | $0,20 \pm 0,050$                |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з ГГГН.

Після введення модуляторів іонних каналів пригнічувався надмірний протеоліз. Під впливом флокаліну у щурів з ГГГН лізис низькомолекулярних білків зменшувався на 22,7%, лізис азоказеїну знижувався на 14,3%. Після застосування дилтіазему лізис азоальбуміну знижувався на 18,7%.

Дослідження протеолізу та фібринолізу кіркової речовини нирок при ГГГН показали зростання лізису азоколагену на 17,3% за відсутності змін лізису азоальбуміну, азоказеїну та фібринолітичної активності.

Застосування модуляторів іонних каналів призвело до пригнічення надмірного протеолізу. Після одноразового введення флокаліну лізис азоколагену зменшувався на 12,2%, під впливом дилтіазему – понижувався на 16,1% (табл. 8.8).

Таблиця 8.8

Показники протеолізу/фібринолізу в тканинах нирок щурів після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники<br>E <sub>440</sub> /год/мг        | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                      | ГГГН<br>та флокалін        | ГГГН<br>та дилтіазем       |
|----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|----------------------------|----------------------------|
| Кіркова речовина                             |                           |                           |                            |                            |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 8,16 ± 1,114              | 8,28 ± 0,232              | 8,55 ± 1,320               | 7,98 ± 1,369               |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 6,12 ± 0,721              | 6,33 ± 0,554              | 6,87 ± 1,152               | 6,14 ± 0,322               |
| Лізис<br>азоколагену                         | 3,93 ± 0,134              | 4,61 ± 0,232<br>p < 0,05  | 4,05 ± 0,110<br>p1 < 0,05  | 3,87 ± 0,118<br>p1 < 0,05  |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 7,85 ± 0,143              | 8,46 ± 0,335              | 8,59 ± 0,415               | 8,54 ± 0,342               |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 4,43 ± 0,219              | 6,15 ± 0,916              | 4,79 ± 0,462               | 5,11 ± 0,233               |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 3,12 ± 0,293              | 1,82 ± 1,124              | 4,08 ± 0,342               | 3,03 ± 0,341               |
| Мозкова речовина                             |                           |                           |                            |                            |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 12,16 ± 0,313             | 13,13 ± 0,312             | 13,02 ± 1,132              | 13,92 ± 1,214              |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 9,13 ± 0,226              | 12,14 ± 0,833<br>p < 0,05 | 10,17 ± 0,442              | 9,64 ± 0,414               |
| Лізис<br>азоколагену                         | 3,22 ± 0,533              | 2,68 ± 0,328              | 3,59 ± 0,208<br>p1 < 0,05  | 3,44 ± 0,122<br>p1 < 0,05  |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 9,81 ± 0,261              | 10,21 ± 0,137             | 10,75 ± 0,245              | 8,98 ± 0,643               |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 3,63 ± 0,122              | 4,86 ± 0,608              | 3,81 ± 0,646               | 4,57 ± 0,425               |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 5,84 ± 0,523              | 5,44 ± 0,702              | 6,47 ± 0,236               | 4,12 ± 0,923<br>p2 < 0,05  |
| Сосочок нирок                                |                           |                           |                            |                            |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 23,58 ± 1,423             | 31,21 ± 1,710<br>p < 0,05 | 25,74 ± 1,253<br>p1 < 0,05 | 26,36 ± 1,365<br>p1 < 0,05 |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 16,13 ± 1,155             | 19,54 ± 1,177<br>p < 0,05 | 18,46 ± 1,899              | 16,91 ± 1,342              |
| Лізис<br>азоколагену                         | 5,19 ± 1,138              | 4,96 ± 0,112              | 5,03 ± 0,163               | 5,21 ± 0,351               |
| Сосочок нирок                                |                           |                           |                            |                            |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 7,67 ± 0,136              | 9,61 ± 0,442              | 8,85 ± 0,424               | 9,81 ± 0,980               |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 3,68 ± 0,143              | 4,19 ± 0,240              | 3,49 ± 0,753               | 4,31 ± 0,433               |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 3,96 ± 0,134              | 5,39 ± 0,742              | 5,19 ± 0,557               | 5,13 ± 0,546               |

Примітка. Достовірність порівняно: p – з контролем, p1 – з ГГГН.



Внаслідок дії прогіпоксичних чинників у мозковій речовині нирок протеолітична активність за лізисом азоказеїну зростала на 32,9%, фібринолітична активність не змінювалась.

Після введення досліджуваних сполук лізис азоказеїну не відрізнявся від рівня у контрольних щурів. Лізис азоколагену у щурів з гострою ГГН зростав як під впливом флокаліну – на 33,9%, так і після введення дилтіазему – на 28,3%. Показники сумарного фібринолізу в мозковому шарі нирок в обох групах з корекцією вірогідно не відрізнялись від контролю, однак мало місце зниження ФФА під впливом дилтіазему на 36,4%.

Протеолітична активність сосочку нирок за умов початкової стадії розвитку ГГН збільшувалась за лізисом азоальбуміну на 32,3% і на 21,1% зростала за лізисом азоказеїну.

Модуляція калієвого і кальцієвого іонного току привела до зниження лізису низькомолекулярних білків на 17% та відновлення вихідного рівня лізису високомолекулярних білків у сосочку нирок. У цьому шарі нирок не було виявлено змін лізису азоколагену та показників фібринолітичної активності.

### **8.2.2. Стан протеолізу/фібринолізу після семиденного введення флокаліну та дилтіазему на початковій стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Гостра ГГН на сьомий день розвитку супроводжувалась дворазовим підвищенням лізису азоальбуміну та зменшенням на 42,7% сумарного фібринолізу плазми крові. Після застосування активатора  $K_{ATP}$  каналів у щурів з ГГН лізис азоальбуміну зменшувався на 62,5%, СФА зростала на 85,7% завдяки збільшенню в 1,8 разу неферментативного фібринолізу. Під впливом флокаліну лізис азоальбуміну знижувався на 43,7%.

Після введення дилтіазему показники протеолітичної та фібринолітичної активності плазми крові були на рівні контрольних значень (табл. 8.9).

Таблиця 8.9.

Стан протеолізу/фібринолізу плазми крові та сечі щурів після  
семиразового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії  
розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники,<br>Е <sub>440</sub> /год/мл          | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                           | ГГГН<br>та флокалін             | ГГГН<br>та дилтіазем            |
|-------------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| Плазма крові                                    |                           |                                |                                 |                                 |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $0,08 \pm 0,012$          | $0,16 \pm 0,021$<br>$p < 0,05$ | $0,10 \pm 0,014$<br>$p1 < 0,05$ | $0,09 \pm 0,023$<br>$p1 < 0,05$ |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $0,29 \pm 0,024$          | $0,43 \pm 0,079$               | $0,37 \pm 0,027$                | $0,35 \pm 0,077$                |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,05 \pm 0,026$          | $0,11 \pm 0,017$               | $0,08 \pm 0,004$                | $0,07 \pm 0,006$                |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $0,12 \pm 0,015$          | $0,07 \pm 0,011$<br>$p < 0,05$ | $0,13 \pm 0,024$<br>$p1 < 0,05$ | $0,09 \pm 0,032$                |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,08 \pm 0,016$          | $0,05 \pm 0,013$               | $0,09 \pm 0,012$<br>$p1 < 0,05$ | $0,06 \pm 0,024$                |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $0,04 \pm 0,004$          | $0,02 \pm 0,016$               | $0,04 \pm 0,014$                | $0,03 \pm 0,012$                |
| Сеча                                            |                           |                                |                                 |                                 |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $3,10 \pm 0,155$          | $4,81 \pm 0,535$<br>$p < 0,05$ | $3,56 \pm 0,166$<br>$p1 = 0,05$ | $3,49 \pm 0,172$<br>$p1 < 0,05$ |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $4,01 \pm 0,142$          | $8,17 \pm 1,463$<br>$p < 0,05$ | $4,76 \pm 0,420$<br>$p1 < 0,05$ | $5,46 \pm 0,641$                |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,47 \pm 0,121$          | $1,03 \pm 0,144$<br>$p < 0,05$ | $0,56 \pm 0,150$<br>$p1 < 0,05$ | $0,58 \pm 0,129$<br>$p1 < 0,05$ |
| Сеча                                            |                           |                                |                                 |                                 |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $1,90 \pm 0,103$          | $1,39 \pm 0,128$<br>$p < 0,05$ | $2,22 \pm 0,315$<br>$p1 < 0,05$ | $1,76 \pm 0,210$                |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,87 \pm 0,035$          | $0,57 \pm 0,126$<br>$p < 0,05$ | $0,79 \pm 0,143$                | $0,92 \pm 0,131$                |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $1,15 \pm 0,061$          | $0,81 \pm 0,150$               | $1,45 \pm 0,214$<br>$p1 < 0,05$ | $0,89 \pm 0,200$                |

Примітка. Достовірність порівняно з:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з ГГГН.

Протеолітична активність сечі характеризувалась підвищенням лізису азоальбуміну на 26%, збільшенням розпаду високомолекулярних білків та

азоколагену на 41,8% і 42,6%, відповідно. Зменшувалась на 26,9% СФА внаслідок пригнічення на 34,5% НФА.

Інтенсивність процесів протеолізу в сечі під впливом флокаліну пригнічувалась. Так, лізис альбуміну знижувався на 26%, лізис азоказеїну – на 41,8%, лізис азоколагену зменшувався на 45,6%. Після застосування дилтіазему лізис азоказеїну у щурів з ГГН суттєво не змінювався, лізис азоальбуміну та азоколагену зменшувався на 27,5% і на 33,7%, відповідно.

Після застосування 7 днів флокаліну збільшувалась на 59,7% СФА та – на 79% ФФА. Після введення дилтіазему СФА сечі відновлювалась.

Зміни тканинного протеолізу/фібринолізу через сім днів моделювання ГГН надані в таблиці 8.10.

Таблиця 8.10

Показники протеолізу/фібринолізу в тканинах нирок щурів після семиразового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники<br>Е <sub>440</sub> /год/мг        | Контроль<br>інтактні<br>щери | ГГН                             | ГГН<br>та флокалін               | ГГН<br>та дилтіазем                            |
|----------------------------------------------|------------------------------|---------------------------------|----------------------------------|------------------------------------------------|
| 1                                            | 2                            | 3                               | 4                                | 5                                              |
| Кіркова речовина                             |                              |                                 |                                  |                                                |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | $3,64 \pm 0,149$             | $12,86 \pm 2,624$<br>$p < 0,05$ | $10,08 \pm 0,571$<br>$p < 0,001$ | $5,31 \pm 1,012$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,01$ |
| Лізис<br>азоказеїну                          | $2,50 \pm 0,312$             | $7,94 \pm 1,326$<br>$p < 0,05$  | $3,19 \pm 0,388$<br>$p1 < 0,05$  | $4,00 \pm 0,597$<br>$p1 < 0,05$                |
| Лізис<br>азоколагену                         | $2,12 \pm 0,143$             | $5,10 \pm 0,258$<br>$p < 0,001$ | $3,60 \pm 0,653$                 | $2,33 \pm 0,323$<br>$p1 < 0,01$<br>$p2 < 0,01$ |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | $4,16 \pm 0,568$             | $4,94 \pm 1,278$                | $4,91 \pm 0,397$                 | $5,08 \pm 0,935$                               |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | $2,26 \pm 0,573$             | $3,50 \pm 1,436$                | $3,47 \pm 0,547$                 | $3,13 \pm 0,863$                               |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | $1,90 \pm 0,352$             | $1,44 \pm 0,455$                | $1,23 \pm 0,662$                 | $1,67 \pm 0,671$                               |
| Мозкова речовина                             |                              |                                 |                                  |                                                |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | $5,36 \pm 0,260$             | $7,35 \pm 0,902$                | $13,02 \pm 1,132$                | $13,92 \pm 1,214$                              |
| Лізис<br>азоказеїну                          | $4,00 \pm 0,226$             | $6,19 \pm 0,617$<br>$p < 0,05$  | $10,17 \pm 0,442$                | $9,64 \pm 0,614$                               |
| Лізис<br>азоколагену                         | $3,22 \pm 0,533$             | $3,90 \pm 0,331$                | $3,59 \pm 0,208$<br>$p1 < 0,05$  | $3,44 \pm 0,122$<br>$p1 < 0,05$                |

Продовження табл. 8.10

| 1                                         | 2             | 3                         | 4                                     | 5                          |
|-------------------------------------------|---------------|---------------------------|---------------------------------------|----------------------------|
| Мозкова речовина                          |               |                           |                                       |                            |
| Сумарна фібринолітична активність         | 11,14 ± 0,217 | 9,45 ± 0,516<br>p < 0,05  | 10,88 ± 0,411                         | 10,61 ± 0,544              |
| Неферментативна фібринолітична активність | 6,87 ± 0,311  | 4,24 ± 0,134<br>p < 0,05  | 4,65 ± 0,127<br>p1 = 0,05             | 4,88 ± 0,327<br>p < 0,01   |
| Ферментативна фібринолітична активність   | 5,12 ± 0,153  | 4,19 ± 0,626              | 6,48 ± 0,322<br>p < 0,01<br>p1 < 0,05 | 5,01 ± 0,371<br>p2 < 0,05  |
| Сосочок нирок                             |               |                           |                                       |                            |
| Лізис азоальбуміну                        | 12,29 ± 1,211 | 16,51 ± 1,305<br>p < 0,05 | 13,44 ± 0,489                         | 11,66 ± 1,223<br>p1 < 0,05 |
| Лізис азоказеїну                          | 8,65 ± 1,128  | 11,04 ± 1,217             | 18,46 ± 1,899                         | 16,91 ± 1,342              |
| Лізис азоколагену                         | 3,87 ± 1,119  | 5,16 ± 0,062              | 5,03 ± 0,163                          | 5,21 ± 0,351               |
| Сумарна фібринолітична активність         | 9,18 ± 0,125  | 10,09 ± 0,452             | 8,85 ± 0,424                          | 9,81 ± 0,980               |
| Неферментативна фібринолітична активність | 4,47 ± 0,342  | 5,10 ± 0,134              | 3,49 ± 0,753                          | 4,31 ± 0,433               |
| Ферментативна фібринолітична активність   | 5,44 ± 0,410  | 4,89 ± 0,315              | 5,19 ± 0,557                          | 5,13 ± 0,546               |

Примітка. Достовірність порівняно: p – з контролем, p1 – з ГГН, p2 – з щурами, яким вводили флокалін.

На сьомий день розвитку ГГН підвищується протеолітична активність кіркової, мозкової речовини та сосочку нирок. Лізис низькомолекулярних білків збільшувався в кірковому шарі на 253,3%, у сосочку нирок – зростав на 34,3%. Лізис азоказеїну підвищувався в кірковій і мозковій речовині на 217,6% і на 54,8%, відповідно. Активність розпаду азоколагену на кірковому рівні також збільшувалась і різниця з контролем становила 140,6%.

Під впливом флокаліну протеоліз за азоальбуміном у кірковому шарі практично не змінювався. Однак, беручи до уваги інші показники (див. табл. 8.10), можна констатувати, що застосування активатора  $K_{ATF}$  каналів призвело до пригнічення протеолітичної активності нирок у щурів з ГГН. На рівні кортикального шару лізис азоказеїну знижувався на 59,8%, лізис азоколагену, завдяки тенденції до зниження, досягав контрольного рівня. В мозковій

речовині лізис азоколагену зменшувався на 8%, а у сосочку нирок понижувався на 14,7% лізис азоказеїну.

Розпад низькомолекулярних білків інтенсивніше зменшувався після введення дилтіазему. У кірковій речовині лізис азоальбуміну був нижчий, ніж у нелікованих щурів на 58,7%, у сосочку нирок – на 29,4%. Колагеназна активність під впливом БКК знижувалась: у кірковому та мозковому шарі нирок щурів з ГГН лізис азоколагену зменшувався на 44,4% і на 11,8%. Інтенсивність деградації високомолекулярних білків після застосування препарату також пригнічувалась: лізис азоказеїну в зовнішньому шарі пошкоджених гіпоксією нирок зменшувався в 2 рази.

Аналіз тканинного фібринолізу показав, що розвиток ГГН супроводжувався зниженням як НФА (на 15,1%), так і СФА (на 15,2%) у мозковому шарі без змін фібринолізу в кірковій речовині та сосочку нирок (див. табл. 8.10). Після введення флокаліну СФА відновлювалась завдяки підвищенню НФА на 10% і та ФФА на 54,6%. На відміну від дії флокаліну, дилтіазем у меншій мірі стимулював ФФА і не впливав на НФА в мозковому шарі нирок щурів з ГГН.

### **8.2.3. Стан протеолізу/фібринолізу після введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Фактори коагуляції та протеолізу/фібринолізу відіграють значну роль у прогресуванні хронічних нефрологічних захворювань. За сучасними уявленнями структурно-функціональною одиницею, яка сполучає патологічні постгіпоксичні реакції з внутрішньосудинною коагуляцією, фібринолізом, гемореологічними розладами в нирці та з редукцією функціонуючих нефронів, є судинний ендотелій.

Беручи до уваги вазотропну активність досліджуваних сполук, важливими є дослідження впливу модуляторів калієвого і кальцієвого току на стан протеолітичних та фібринолітичних процесів за умов хронічного гіпоксичного пошкодження нирок.

Отримані результати свідчать, що через 30 днів після введення нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу протеолітична активність сечі за лізисом азоальбуміну, азоказеїну та азоколу збільшувалась, відповідно, на 55,1%, на 105,5% і на 137,5% (табл. 8.11).

Таблиця 8.11

Стан протеолітичної та фібринолітичної активності сечі щурів після семиразового введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники,<br>Е <sub>440</sub> /год/мл          | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                            | ГГГН<br>та флокалін                           | ГГГН<br>та дилтіазем                                         |
|-------------------------------------------------|---------------------------|---------------------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------------------------------------|
| Протеолітична активність                        |                           |                                 |                                               |                                                              |
| Лізис<br>азоальбуміну                           | $3,72 \pm 0,403$          | $5,77 \pm 0,456$<br>$p < 0,05$  | $4,16 \pm 0,563$<br>$p1 < 0,05$               | $2,49 \pm 0,135$<br>$p1 < 0,05$                              |
| Лізис<br>азоказеїну                             | $4,87 \pm 0,752$          | $10,01 \pm 1,527$<br>$p < 0,05$ | $6,53 \pm 0,356$<br>$p1 < 0,05$               | $7,84 \pm 0,505$<br>$p < 0,05$                               |
| Лізис<br>азоколагену                            | $0,56 \pm 0,252$          | $1,33 \pm 0,188$<br>$p < 0,05$  | $0,80 \pm 0,127$<br>$p1 < 0,05$               | $0,46 \pm 0,113$<br>$p1 < 0,01$                              |
| Фібринолітична активність                       |                           |                                 |                                               |                                                              |
| Сумарна<br>фібринолітична<br>активність         | $1,90 \pm 0,103$          | $3,47 \pm 0,435$<br>$p < 0,05$  | $2,43 \pm 0,234$<br>$p1 < 0,05$               | $1,68 \pm 0,319$<br>$p1 < 0,05$                              |
| Неферментативна<br>фібринолітична<br>активність | $0,87 \pm 0,035$          | $2,11 \pm 0,263$<br>$p < 0,01$  | $0,55 \pm 0,235$<br>$p1 < 0,05$               | $1,04 \pm 0,168$                                             |
| Ферментативна<br>фібринолітична<br>активність   | $1,15 \pm 0,061$          | $1,36 \pm 0,201$                | $1,98 \pm 0,154$<br>$p < 0,01$<br>$p1 < 0,05$ | $0,64 \pm 0,213$<br>$p < 0,05$<br>$p1 < 0,05$<br>$p2 < 0,01$ |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з ГГГН,  $p2$  – з щурами, яким вводили флокалін.

Після введення 7 днів активатора  $K_{ATF}$  каналів досліджувані показники досягали рівня інтактних тварин. У порівнянні з нелікованими щурами, під впливом флокаліну розпад низькомолекулярних білків зменшувався на 38%, деградація азоказеїну та азоколагену знижувалась на 38%. Після застосування дилтіазему лізис азоальбуміну знижувався на 56,9%, лізис азоколагену зменшувався на 65,5%, лізис азоказеїну не змінювався.

Фібринолітична активність сечі щурів на стадії хронізації гіпоксичної нефропатії характеризувалась підвищенням СФА на 82,6% внаслідок зростання на 142,5% її неферментативної складової (див. табл. 8.11). На 7 день введення флокаліну сумарний фібриноліз зменшувався на 30% за рахунок зниження НФА на 74%. Суттєво збільшувався ферментативний фібриноліз сечі: різниця у порівнянні з моделлю патології становила 45,6%, а співставлення з контролем показало підвищення показника на 72,2%.

Дилтіазем за даних умов уведення також знижував СФА сечі. Однак зменшення сумарного фібринолізу на 51,6%, перш за все, було спричинено пригніченням ФФА. Зниження ферментативного фібринолізу у щурів з ГГГН становило 53%, а його зменшення відносно контролю дорівнювало 44,4%. Трикратне зниження показника при співставленні з дією флокаліну вказувала на протилежний вплив дилтіазему щодо ФФА сечі.

Дослідження протеолізу кіркової речовини нирок за умов хронізації ГГГН показали зростання лізису азоальбуміну на 85,1% і азоколагену – на 21,4% за умов відсутності змін лізису азоказеїну (табл. 8.12).

Таблиця 8.12

Показники протеолізу/фібринолізу в тканинах нирок щурів після семиразового введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 7$ )

| Показники<br>Е <sub>440</sub> /год/мг        | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                      | ГГГН<br>та флокалін                   | ГГГН<br>та дилтіазем      |
|----------------------------------------------|---------------------------|---------------------------|---------------------------------------|---------------------------|
| 1                                            | 2                         | 3                         | 4                                     | 5                         |
| Кіркова речовина                             |                           |                           |                                       |                           |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 5,54 ± 1,118              | 10,26 ± 1,165<br>p < 0,05 | 3,88 ± 1,930<br>p1 < 0,05             | 8,38 ± 1,147              |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 2,53 ± 0,535              | 1,57 ± 0,226              | 2,91 ± 0,547<br>p1 < 0,05             | 3,12 ± 0,248<br>p1 < 0,01 |
| Лізис<br>азоколагену                         | 2,24 ± 0,229              | 2,78 ± 0,076<br>p < 0,05  | 2,45 ± 0,256                          | 2,38 ± 0,240              |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 4,80 ± 0,725              | 6,96 ± 0,275<br>p < 0,05  | 6,21 ± 1,804                          | 6,73 ± 0,592              |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 3,44 ± 0,706              | 4,53 ± 0,535              | 3,34 ± 0,931                          | 4,76 ± 0,686              |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 1,36 ± 0,768              | 2,43 ± 0,531              | 3,81 ± 0,334<br>p < 0,04<br>p1 < 0,05 | 2,97 ± 0,116              |

Продовження табл. 8.12

| 1                                            | 2            | 3                         | 4                                     | 5                                                   |
|----------------------------------------------|--------------|---------------------------|---------------------------------------|-----------------------------------------------------|
| Мозкова речовина                             |              |                           |                                       |                                                     |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 6,05 ± 0,680 | 8,23 ± 0,726<br>p < 0,05  | 5,04 ± 0,618<br>p1 < 0,01             | 1,36 ± 0,083<br>p < 0,01<br>p1 < 0,001<br>p2 < 0,01 |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 3,68 ± 0,345 | 4,97 ± 0,126<br>p < 0,05  | 3,01 ± 0,705<br>p1 < 0,05             | 1,44 ± 0,172<br>p < 0,01<br>p1 < 0,001              |
| Лізис<br>азоколагену                         | 2,16 ± 0,172 | 2,24 ± 0,253              | 2,54 ± 0,062                          | 2,32 ± 0,166                                        |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 4,48 ± 0,197 | 6,99 ± 0,185<br>p < 0,001 | 5,89 ± 0,465<br>p < 0,01<br>p1 < 0,05 | 4,13 ± 0,743<br>p1 < 0,05                           |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 3,44 ± 0,225 | 5,65 ± 0,217<br>p < 0,01  | 4,79 ± 0,409                          | 3,27 ± 1,100                                        |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 1,02 ± 0,131 | 1,45 ± 0,233<br>p < 0,05  | 1,09 ± 0,087<br>p1 < 0,05             | 0,86 ± 0,110<br>p1 < 0,05                           |
| Сосочок нирок                                |              |                           |                                       |                                                     |
| Лізис<br>азоальбуміну                        | 5,22 ± 0,927 | 2,43 ± 0,427<br>p < 0,05  | 2,16 ± 0,408<br>p < 0,05              | 1,13 ± 0,251<br>p < 0,01<br>p1 < 0,05               |
| Лізис<br>азоказеїну                          | 2,58 ± 0,440 | 2,83 ± 0,656              | 2,24 ± 0,473                          | 2,43 ± 0,263                                        |
| Лізис<br>азоколагену                         | 3,12 ± 0,012 | 2,93 ± 0,543              | 2,40 ± 0,391                          | 1,66 ± 0,224<br>p < 0,01<br>p1 < 0,05               |
| Сумарна<br>фібринолітична активність         | 8,43 ± 1,021 | 7,86 ± 0,920              | 8,16 ± 1,491                          | 5,79 ± 0,417<br>p < 0,05                            |
| Неферментативна<br>фібринолітична активність | 6,29 ± 1,344 | 4,99 ± 1,049              | 5,95 ± 1,085                          | 4,05 ± 0,126                                        |
| Ферментативна<br>фібринолітична активність   | 2,14 ± 0,271 | 2,86 ± 0,561              | 3,27 ± 0,867                          | 1,10 ± 0,393<br>p < 0,05<br>p1 < 0,05<br>p2 < 0,05  |

Примітка. Достовірність порівняно: p – з контролем, p1 – з ГГН, p2 – з щурами, яким вводили флокалін.

Протеолітична активність у мозковому шарі нирок також збільшувалась, що демонстрували підвищенні показники розпаду азоальбуміну – на 36,1% та азоказеїну – на 43,4%. Слід зауважити, що на стадії хронізації ГГН спостерігалась більша протеолітична активність в кірковому та мозковому шарі, ніж на початковій стадії розвитку гіпоксичної нефропатії. В сосочку нирок лізис низькомолекулярних білків зменшувався на 53,4%, а



інтенсивність лізису високомолекулярних білків у щурів з гіпоксичним пошкодженням нирок не змінювалась.

Встановлено, що під впливом флокаліну у щурів з хронізацією ГГГН лізис азоальбуміну в кірковій речовині нирок знижувався на 63,2% (див. табл. 8.12). Іntenсивність лізису азоказеїну зростала. Цей показник збільшувався на 85% та, як і лізис азоколагену, практично не відрізнявся від значень у інтактних щурів. У мозковій речовині після введення відкривача  $K_{ATP}$  каналів показники протеолітичної активності також досягали рівня контролю. На цьому рівні розпад азоальбуміну та азоказеїну знижувався більше, ніж на 60%. У сосочку нирок флокалін не впливав на деградацію низькомолекулярних білків і цей показник лишався на 59,7% нижчим, ніж у контрольної групи.

Після застосування дилтіазему в кортикальному шарі нирок щурів з ГГГН лізис азоказеїну збільшувався на 98,7%, лізис азоальбуміну суттєво не змінювався, відновлювався лізис азоколагену. В мозковій речовині під впливом дилтіазему знижувався протеоліз низько- та високомолекулярних білків на тлі відсутності змін колагенезу. Лізис азоальбуміну зменшувався на 83%, на 76% і на 47,8%, відносно нелікованих, інтактних щурів і дії флокаліну. Лізис азоказеїну у щурів з ГГГН зменшувався в 3,4 разу, а також у 2,5 разу був нижче, ніж у контролі. В сосочку нирок під впливом БКК колагеназна активність зменшувалась на 53,4% і майже в 5 разів була нижче, ніж у контролі. Пригнічувався лізис азоколагену: порівняно з ГГГН – на 43,5%, порівняно з інтактними щурами показник зменшувався в двічі.

Оцінка фібринолітичної активності тканин нирок за умов хронізації гіпоксичної нефропатії показала (див. табл. 8.12), що у кірковій речовині СФА збільшувалась на 45%. У мозковому шарі нирок внаслідок зростання як на 64,4% НФА, так і на 45,6% – ФФА збільшувалась СФА на 56%. У сосочку нирок показники тканинного фібринолізу не змінювались.

Після введення модуляторів іонних каналів у кірковій речовині СФА та НФА вірогідно не відрізнялись від показників груп порівняння. Однак після введення флокаліну ферментативний фібриноліз збільшувався на 56,7% і був

вищий на 180%, ніж у інтактних щурів. Беручи до уваги відсутність вірогідних відмінностей відносно нелікованих щурів з ГГН, можна вважати, що дилтіазем не корегував процеси фібринолізу на рівні кіркової речовини.

Подальший аналіз показав, що в мозковому шарі нирок під впливом флокаліну сумарний фібриноліз хоч і лишався на 30% більшим за контрольне значення, але у порівнянні з групою з ГГН був нижче на 15,7%. Показник ФФА знижувався на 25% і його значення, як і рівень НФА, не відрізнялось від контролю. Під впливом дилтіазему значно зменшувалась ФФА – на 40% і на аналогічну величину у щурів з ГГН зменшувалась СФА.

На відміну від дії флокаліну, на рівні сосочку тканинний фібриноліз після введення дилтіазему пригнічувався. Так, у щурів з гіпоксичною нефропатією сумарний фібриноліз знижувався у порівнянні з інтактною групою на 31,4%. Причиною такої реакції було значне зменшення ФФА на 61,5% і на 66,4%, порівняно з моделлю патології і з групою, якій вводили флокалін. Також під впливом дилтіазему ферментативний фібриноліз був менший, ніж у інтактних щурів і ця різниця становила майже 50%.

Отже, за умов розвитку патології нирок токсичного і гіпоксичного генезу виникав дисбаланс між активністю протеолітичних ферментів, синтезом і розпадом білка та колагенезом. За умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії спостерігалось переважне підвищення протеолізу за винятком зниження показників лізису азоальбуміну в сечі та сосочку нирок, а також – азоказеїну в сечі та мозковому шарі через тиждень від дня моделювання патології. При хронізації сулемової нефропатії пригнічувався розпад низько- та високомолекулярних білків. Показники протеолітичної активності зменшувались за умов гіпоксичних впливів зменшувались незалежно від стадії розвитку ГГН.

Нефротоксичні ефекти сулеми та чинників гіпоксії супроводжувались дизрегуляцією системи фібринолізу – складової частини протеолітичної активності. Після введення дихлориду ртуті підвищення фібринолітичної активності спостерігалось лише у сосочку нирок в день моделювання

патології. Разом з тим, оцінка інших показників дозволила судження про зниження процесів фібринолізу за умов розвитку сулемової нефропатії. Після гіпоксичного ушкодження нирок фібринолітична активність зменшувалась наприкінці початкової стадії розвитку ГГН та підвищувалась при хронізації процесу. Незважаючи на спільні параметри фармакодинаміки, стосовно стабілізації внутрішньоклітинного вмісту іонів кальцію, показники після застосування модуляторів іонних каналів мали відмінності, залежно від умов експерименту, що дозволило припущення про переважний стабілізуючий вплив флокаліну, порівніно з дилтіаземом, на поцеси протеолізу/фібринолізу.

## РОЗДІЛ 9

### СТАН ЕНЕРГЕТИЧНОГО ОБМІНУ ПІСЛЯ ВВЕДЕННЯ ФЛОКАЛІНУ ТА ДИЛТІАЗЕМУ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНИХ НЕФРОПАТІЙ

Нирки характеризуються найбільш високим енергетичним обміном. Маючи масу, яка становить лише 0,5% від загальної маси тіла, нирки споживають 10% кисню, що надходить в організм за умов функціонального спокою. Переважно за рахунок реакцій аеробного окиснення в кірковій речовині нирок утворюється АТФ. Основні енергетичні витрати пов'язані з процесами реабсорбції та секреції осмотично активних електролітів, а також біосинтезу білків.

Найбільш важливим механізмом ниркового транспорту іонів натрію є енергозалежний транспорт, який використовує енергію гідролізу АТФ ферментом  $\text{Na}^+, \text{K}^+$ -АТФазою. При цьому ступінь енергозалежності процесів у канальцевих відділах нефрону не є однаковим. Однак, незалежно від етіології первинного ушкодження нирок, еволюційно закономірним є розвиток патологічного процесу з проксимальних канальців на дистальний сектор нефрону, інтерстицій та судини [37, 90]. Встановлена іншими дослідниками антиоксидантна активність представників класів модуляторів калієвих і кальцієвих каналів [25, 105, 170, 183] позитивним чином характеризує (чи відображає) їх вплив на енергетичний баланс. Однак дослідження, які виявили негативні зміни клітинного метаболізму (показника енергетичного обміну) при нормальному функціонуванні антиоксидантної системи [20], свідчать про важливе значення саме маркерів енергозабезпечення для визначення ступеню важкості патологічного процесу та оцінки ефективності превентивних та лікувальних заходів.

У зв'язку з цим, на наступному етапі нашої роботи були проведені біохімічні дослідження маркерів енергетичного обміну після застосування флокаліну та дилтіазему за умов розвитку токсичної та гіпоксичної

нефропатії. Показники метаболічних процесів та енергетичного забезпечення визначали в тканинах нирок. Стан аеробного окиснення оцінювали за активністю одного з ключових регуляторних ферментів циклу Кребса – сукцинатдегідрогенази, яку визначали в кірковому та мозковому шарі нирок. Активність лужної фосфатази, як маркера щіточкової облямівки епітелію проксимальних каналців, визначали в кірковій речовині нирок.

### **9.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов розвитку сулемової нефропатії**

Положення про універсальність пошкодження проксимального відділу нефрону було обґрунтовано на експериментальних моделях, які охоплюють найбільш важливі сторони розвитку патологічного процесу в нирках. До таких моделей відноситься нефротоксичне ураження каналців нирок важкими металами. Дослідження функціонально-біохімічного стану нирок, залежно від стадії розвитку сулемової нефропатії, встановили порушення енергетичного обміну в проксимальних і дистальних каналцях нефрону з розвитком тубулоінтерстиційного синдрому [36]. Разом з тим, оцінка енергозабезпечення нирок на тлі закономірної перебудови ренального кровообігу, функціонального стану і, зокрема, транстубулярного транспорту електролітів доповнює патогенетичні аспекти гострого токсичного ураження нирок, хронізації нефропатії та розширює фармакодинамічний спектр флокаліну та дилтіазему.

#### **9.1.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії**

Біохімічні дослідження в перший день моделювання токсичної патології нирок показали зниження вмісту лужної фосфатази в кірковому шарі, що прямо вказує на пошкодження проксимальних каналців і на загибель частини нефронів. У порівнянні з інтактними щурами, цей показник за умов гострої сулемової нефропатії зменшувався на 20,3% (табл. 9.1).

Таблиця 9.1

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія        | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін          | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем          |
|----------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|------------------------------------------------|-------------------------------------------------|
| Кіркова речовина                             |                           |                               |                                                |                                                 |
| Активність<br>лужної<br>фосфатази, од        | $119,9 \pm 1,60$          | $95,6 \pm 5,10$<br>$p < 0,01$ | $107,6 \pm 1,44$<br>$p < 0,01$<br>$p_1 < 0,05$ | $108,1 \pm 1,50$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 < 0,05$ |
| Активність<br>сукцинат-<br>дегідрогенази, од | $41,3 \pm 4,40$           | $24,0 \pm 2,49$<br>$p < 0,05$ | $31,1 \pm 1,73$<br>$p < 0,05$<br>$p_1 < 0,05$  | $27,5 \pm 2,33$                                 |
| Мозкова речовина                             |                           |                               |                                                |                                                 |
| Активність<br>сукцинат-<br>дегідрогенази, од | $30,5 \pm 1,54$           | $18,3 \pm 2,11$<br>$p < 0,01$ | $22,5 \pm 2,71$<br>$p < 0,05$                  | $25,6 \pm 2,70$<br>$p_1 < 0,05$                 |

Примітка. Достовірність порівняно з:  $p$  – з контролем,  $p_1$  – з сулемовою нефропатією.

Про порушення енергетичного обміну під впливом нефротоксиканта сулеми свідчило зниження сукцинатдегідрогенази в ниркових тканинах. У кірковому шарі активність даного ферменту зменшувалась на 41,9%, у мозковій речовині нирок – понижувалась на 40%.

Після разового введення флокаліну у щурів з сулемовою нефропатією активність лужної фосфатази зростала на 12,5%, і різниця з контролем була вдвічі меншою. За умов відкриття  $K_{ATP}$  каналів показник активності сукцинатдегідрогенази в тканинах нирок не досягав рівня інтактних щурів. Разом з тим, збільшення активності цього ферменту на 29,6% у кірковому шарі свідчило про покращення енергозабезпечення епітелію каналців і, в першу чергу, проксимального відділу нефрону під впливом флокаліну.

Під впливом дилтіазему в кірковій речовині нирок зростала активність лужної фосфатази і різниця значень, порівняно з нелікованими щурами,

становила 5,8%. Активність сукцинатдегідрогенази на цьому ж рівні не змінювалась, однак у мозковому шарі показник збільшувався на 39,8%.

Енергетичний метаболізм на сьомий день розвитку сулемової нефропатії характеризувався зниженими показниками (табл. 9.2).

Таблиця 9.2

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                             | Контроль інтактні | Сулемова нефропатія            | Сулемова нефропатія та флокалін               | Сулемова нефропатія та дилтіазем              |
|---------------------------------------|-------------------|--------------------------------|-----------------------------------------------|-----------------------------------------------|
| Кіркова речовина                      |                   |                                |                                               |                                               |
| Активність лужної фосфатази, од       | $119,9 \pm 1,60$  | $50,9 \pm 0,66$<br>$p < 0,001$ | $55,1 \pm 1,06$<br>$p < 0,001$<br>$p1 < 0,05$ | $52,2 \pm 0,76$<br>$p < 0,001$<br>$p2 = 0,05$ |
| Активність сукцинат-дегідрогенази, од | $41,3 \pm 4,40$   | $28,6 \pm 1,32$<br>$p < 0,05$  | $39,0 \pm 4,49$<br>$p1 < 0,05$                | $35,6 \pm 3,82$                               |
| Мозкова речовина                      |                   |                                |                                               |                                               |
| Активність сукцинат-дегідрогенази, од | $30,5 \pm 1,54$   | $16,8 \pm 1,83$<br>$p < 0,01$  | $20,1 \pm 2,20$<br>$p < 0,01$                 | $17,8 \pm 2,48$<br>$p < 0,01$                 |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p1$  – з сулемовою нефропатією,  $p2$  – з групою, якій вводили флокалін.

У щурів з токсичним ураженням нирок знижувалась активність як лужної фосфатази – на 67,7%, так і сукцинатдегідрогенази – на 30,8% і на 45% у кірковому та мозковому шарі відповідно (див. табл. 9.2). Після введення 7 днів флокаліну енергозабезпечення процесів у кірковій речовині нирок покращувалось, на що вказувало підвищення активності лужної фосфатази (на 41,3%) сукцинатдегідрогенази (на 19,6%).

Дилтіазем не впливав на активність лужної фосфатази в кірковій речовині, і цей показник після семиразового застосування дилтіазему був на 5,3% нижче у порівнянні з дією флокаліну.

### 9.1.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов хронізації сулемової нефропатії

Реакції організму на гіпоксію характеризуються двома стадіями. В стадії компенсації завдяки адаптивним реакціям підтримується нормальне постачання тканин киснем. При виснаженні пристосувальних механізмів розвивається стадія декомпенсації з поліорганными дисфункціями.

Як показують дані табл. 9.3, пригнічення активності лужної фосфатази (на 36,6%) та сукцинатдегідрогенази в кірковому (на 41,2%) та мозковому шарі (на 46,1%) нирок свідчить про порушення енергетичного метаболізму.

Таблиця 9.3

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів  
після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов хронізації  
сулемової нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$   $n = 6$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | Сулемова<br>нефропатія         | Сулемова<br>нефропатія<br>та флокалін | Сулемова<br>нефропатія<br>та дилтіазем |
|----------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|---------------------------------------|----------------------------------------|
| Кіркова речовина                             |                           |                                |                                       |                                        |
| Активність<br>лужної<br>фосфатази, од        | $119,9 \pm 1,60$          | $76,1 \pm 3,02$<br>$p < 0,001$ | $113,7 \pm 6,14$<br>$p_1 < 0,01$      | $103,2 \pm 2,14$<br>$p_1 < 0,01$       |
| Активність<br>сукцинатде-<br>гідрогенази, од | $41,3 \pm 4,40$           | $24,3 \pm 3,90$<br>$p < 0,05$  | $38,1 \pm 4,22$<br>$p_1 < 0,05$       | $37,9 \pm 2,20$<br>$p_1 < 0,05$        |
| Мозкова речовина                             |                           |                                |                                       |                                        |
| Активність<br>сукцинатде-<br>гідрогенази, од | $30,5 \pm 1,54$           | $19,5 \pm 2,01$<br>$p < 0,01$  | $27,3 \pm 4,54$                       | $22,5 \pm 3,35$                        |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p_1$  – з сулемовою нефропатією.

Після введення впродовж семи днів модуляторів іонних каналів зміни енергетичного метаболізму в нирках щурів з токсичною патологією нирок мали позитивну динаміку. Так, активність лужної фосфатази під впливом флокаліну зростала на 49,4% і збільшувалась а після застосування дилтіазему



на 35,6%. На тлі фармакологічної підтримки відкритого стану  $K_{ATF}$  каналів активність сукцинатдегідрогенази підвищувалась у кірковому та мозковому шарі на 56,8% і на 40%, відповідно. Вплив дилтіазему характеризувався суттєвим зростанням активності сукцинатдегідрогенази: показник був вищий, ніж у нелікованих щурів, у кірковій та мозковій речовині нирок на 55,9% і на 15,3%, відповідно.

## **9.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Головною причиною погіршення енергозабезпечення є гіпоксія, яка призводить до невідповідності енергопотребі клітини енергопродукції в системі мітохондріального окислювального фосфорилування [91]. Киснево-транспортна дисфункція крові та ферментних систем, які каталізують процес біологічного окислення в тканинах під впливом нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу, моделюють поліланцюгові порушення споживання кисню і енергодефіцит нирок. Пригнічення доставки кисню частково компенсується анаеробними шляхами підтримки власних енергетичних потреб нирок (анаеробним гліколізом). Однак, розвиток ацидозу, активація протеолізу, перекисного окислення ліпідів призводять до модифікації функцій чи деструкції клітинних мембран і руйнування клітин. Враховуючи високу чутливість нефроцитів до енергодефіциту та важливу роль іонних каналів у механізмах адаптації до гіпоксії, практично значимим є аналіз енергетичного метаболізму в нирках під впливом флокаліну та дилтіазему за умов ГГГН.

### **9.2.1. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов початкової стадії розвитку гіпоксичної гістогемічної нефропатії**

Отримані дані свідчать про гальмування енергетичного метаболізму в тканинах нирок за умов розвитку гострого гіпоксичного пошкодження організму щурів. У порівнянні з контрольними даними, активність лужної

фосфатази в кортикальному шарі зменшувалась на 16%, активність сукцинатдегідрогенази знижувалась на 70% у кірковій та мозковій речовині нирок (табл. 9.4).

Таблиця 9.4

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів після разового введення флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                           | ГГГН<br>та флокалін                            | ГГГН<br>та дилтіазем           |
|----------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------|
| Кіркова речовина                             |                           |                                |                                                |                                |
| Активність<br>лужної<br>фосфатази, од        | $119,9 \pm 1,60$          | $100,8 \pm 6,75$<br>$p < 0,05$ | $116,3 \pm 1,32$<br>$p_1 < 0,05$               | $113,6 \pm 2,59$<br>$p < 0,05$ |
| Активність<br>сукцинат-<br>дегідрогенази, од | $41,3 \pm 4,40$           | $12,2 \pm 1,82$<br>$p < 0,01$  | $18,01 \pm 1,81$<br>$p < 0,01$<br>$p_1 < 0,05$ | $16,5 \pm 2,66$<br>$p < 0,01$  |
| Мозкова речовина                             |                           |                                |                                                |                                |
| Активність<br>сукцинат-<br>дегідрогенази, од | $30,5 \pm 1,54$           | $8,9 \pm 1,63$<br>$p < 0,001$  | $12,9 \pm 1,86$<br>$p < 0,001$                 | $12,2 \pm 2,83$<br>$p < 0,001$ |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p_1$  – з ГГГН.

Після разового введення флокаліну активність лужної фосфатази збільшувалась на 15,4%, активність сукцинатдегідрогенази в кірковому шарі збільшувалась на 74,1% і не змінювалась у мозковій речовині нирок. На відміну від дії флокаліну, енергетичний метаболізм у щурів з гострою ГГГН під впливом разового введення дилтіазему практично не змінювався. Зберігались відмінності між контролем і зниженими гіпоксією показниками активності ферментів.

На цьому добу гостра ГГГН характеризувалась зниженням показників енергообміну нирок. Зменшення активності лужної фосфатази становило 20,4%, а зниження активності сукцинатдегідрогенази в кірковому та мозковому шарі – 40% і 47,9%, відповідно, що свідчило про енергетичну недостатність і в проксимальних, і в дистальних каналцях (табл. 9.5).

Таблиця 9.5

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів після введення 7 днів флокаліну та дилтіазему за умов початкової стадії розвитку гострої гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | ГГН                           | ГГН<br>та флокалін               | ГГН<br>та дилтіазем            |
|----------------------------------------------|---------------------------|-------------------------------|----------------------------------|--------------------------------|
| Кіркова речовина                             |                           |                               |                                  |                                |
| Активність<br>лужної<br>фосфатази, од        | $119,9 \pm 1,60$          | $95,5 \pm 3,79$<br>$p < 0,01$ | $112,8 \pm 3,62$<br>$p_1 < 0,05$ | $106,4 \pm 4,05$<br>$p < 0,05$ |
| Активність<br>сукцинат-<br>дегідрогенази, од | $41,3 \pm 4,40$           | $24,8 \pm 1,58$<br>$p < 0,05$ | $29,4 \pm 4,13$                  | $26,7 \pm 2,61$<br>$p < 0,05$  |
| Мозкова речовина                             |                           |                               |                                  |                                |
| Активність<br>сукцинат-<br>дегідрогенази, од | $30,5 \pm 1,54$           | $15,9 \pm 1,86$<br>$p < 0,01$ | $16,4 \pm 1,43$<br>$p < 0,01$    | $16,7 \pm 1,27$<br>$p < 0,01$  |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p_1$  – з ГГН.

Після корекції 7 днів ГГН флокаліном на 18,7% зростала активність лужної фосфатази, що вказувало на зменшення прямого некрозу проксимальних каналців. Однак гіпоксичні впливи зберігались. Активність сукцинатдегідрогенази не змінювалась в мозковій речовині нирок. Аналіз показників енергетичного метаболізму після введення 7 днів дилтіазему змін не виявив.

### 9.2.2. Вплив флокаліну та дилтіазему на показники енергетичного обміну за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії

Оцінка енергетичного обміну на стадії хронізації ГГН показала зниження активності досліджуваних ферментів: зменшення активності лужної фосфатази в кірковій речовині нирок щурів з ГГН становило 5%, пониження активності сукцинатдегідрогенази – 75,6% у кірковому шарі, та 43,6% – у мозковій речовині нирок (табл. 9.6).

Таблиця 9.6

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів після семиразового введення флокаліну та дилтіазему за умов хронізації гіпоксичної гістогемічної нефропатії ( $\bar{x} \pm Sx$ ,  $n = 6$ )

| Показники                                    | Контроль<br>інтактні щури | ГГГН                           | ГГГН<br>та флокалін                            | ГГГН<br>та дилтіазем           |
|----------------------------------------------|---------------------------|--------------------------------|------------------------------------------------|--------------------------------|
| Кіркова речовина                             |                           |                                |                                                |                                |
| Активність<br>лужної<br>фосфатази, од        | $119,9 \pm 1,60$          | $113,5 \pm 1,01$<br>$p < 0,05$ | $118,1 \pm 1,59$<br>$p_1 < 0,05$               | $115,8 \pm 0,78$<br>$p < 0,05$ |
| Активність<br>сукцинатде-<br>гідрогенази, од | $41,3 \pm 4,40$           | $10,1 \pm 1,32$<br>$p < 0,001$ | $17,3 \pm 0,46$<br>$p < 0,001$<br>$p_1 < 0,01$ | $13,6 \pm 1,26$<br>$p < 0,001$ |
| Мозкова речовина                             |                           |                                |                                                |                                |
| Активність<br>сукцинатде-<br>гідрогенази, од | $30,5 \pm 1,54$           | $16,6 \pm 0,75$<br>$p < 0,001$ | $20,7 \pm 3,87$<br>$p < 0,05$                  | $15,7 \pm 1,46$<br>$p < 0,001$ |

Примітка. Достовірність порівняно:  $p$  – з контролем,  $p_1$  – з ГГГН.

Застосування 7 днів відкривача  $K_{ATF}$  каналів призвело до покращення метаболізму нирок, зокрема енергетичного забезпечення. Активність лужної фосфатази підвищувалась на 4%, і показник практично досягав контрольного значення, що вказувало на покращення стану епітелію проксимальних каналців. У порівнянні з нелікованою групою щурів, збільшувалась активності сукцинатдегідрогенази на 71,3% у кірковій речовині нирок. Після введення дилтіазему 7 днів активність сукцинатдегідрогенази в ренальних тканинах не змінювалась. Крім того, тенденція до збільшення лужної фосфатази під впливом БКК не призвела до вірогідних відмінностей з групою щурів, яким не проводили фармакологічну корекцію. Така динаміка досліджуваних показників вказувала на існуючий дефіцит кисню в пошкоджених 2,4-динітрофенолом нефронах.

Отже, проведені дослідження продемонстрували неодноманітну здатність флокаліну і дилтіазему впливати на метаболізм та енергетичне забезпечення ренальних процесів за умов токсичного і гіпоксичного ураження

нирок. Спільність залежних від іонів кальцію ланцюгів фармакодинаміки, які відтворюють природні антитоксичні та антигіпоксичні реакції організму, дозволяли припустити енергостабілізуючу здатність обох досліджуваних мембранотропних сполук. Однак, варто відзначити, що ступінь захисних ефектів представників різних класів модуляторів іонних каналів залежав від етіологічної характеристики пошкоджувальних впливів. Відомо, що іонним каналам ( $K^+$ -,  $Ca^{2+}$ -,  $Na^+$ -каналам), навіть при принциповій спільності структурно-функціональної організації, поруч з подібними властивостями притаманний ряд відмінностей. Це стосується кінетики активації/інактивації, послідовності руху катіонів, переважної локалізації різних підтипів каналів та їх фармакологічних властивостей. Еволюційно найдавнішими мембранними каналами, які забезпечують в організмі необхідні для життєдіяльності внутрішньоклітинні біоенергетичні процеси є калієві іонні канали. В той же час, гіпоксія є дуже поширеним станом, що лежить в основі багатьох патологічних процесів або супроводжує їх. Не виключено, що за умов енергодефіциту нефроцитів, для видалення надлишку цитоплазматичних іонів кальцію першорядне значення має саме активація  $K_{ATF}$  каналів. Для блокатора потенціалозалежних кальцієвих каналів дилтіазему була притаманна позитивна динаміка змін окремих показників енергозабезпечення лише при сулемовій нефропатії, тоді як активатор  $K_{ATF}$  каналів флокалін виявляв більш виражені енергопротекторні властивості незалежно від обраної експериментальної моделі і стадії розвитку нефрологічної патології.

Важливим є те, що при гіпоксії більше знижувалась активність сукцинатдегідрогенази, особливо в мозковому шарі нирок, де є проксимальні і, в більшій кількості, дистальні каналці. На цьому гістологічному рівні проявлявся захисний вплив лише активатора  $K_{ATF}$  каналів флокаліну, що відповідає уявленню про первинне порушення аеробної продукції АТФ. У той же час, сулема первинно пошкоджує білкові структури клітин, очевидно і щіткову облямівку, а вже вторинно зменшує енергетичний обмін. Саме тому, без виведення іонів ртуті з клітин не відновлюється її метаболізм.

## УЗАГАЛЬНЕННЯ ОДЕРЖАНИХ РЕЗУЛЬТАТІВ

Важливими компонентами клітинних мембран є іонні канали, через які здійснюється трансмембранний перенос іонів і опосередковується дія багаточисленних нейромедіаторів та модуляторів внутрішньоклітинного метаболізму [21, 94]. Практичне застосування багатьох лікарських засобів стало можливим завдяки розумінню того, що передача електричних та хімічних сигналів здійснюється за допомогою іонних каналів, а порушення їх функціонування (каналопатії) є пусковим механізмом багатьох патологічних станів організму [75, 161]. Унікальність каналотропних фармакологічних сполук полягає в тому, що модулятори іонних каналів є засобами для вивчення структурно-функціональної інтеграції клітин і для корекції різних етіопатогенетичних захворювань [239, 345, 418]. Визнана гетерогенність мембранних каналів дозволила виділити декілька класів ліків, дія яких опосередковується переважно через катіонні  $K^+$ - $Na^+$ - $Ca^{2+}$ -канали. Трансмембранна локалізація каналотворювальних білків забезпечує доступність позаклітинних ділянок і пор каналів як для екзотоксинів, так і для багатьох сучасних лікарських засобів, що робить їх мішенями для пошуку нових фармакологічних сполук [154, 162, 488, 523]. У зв'язку з цим, дослідження, що спрямовані на вивчення чи розширення терапевтичного спектру фармакологічних регуляторів іонного току мають фундаментальне і практичне значення.

Одним з фармакологічних класів каналотропних сполук є відкривачі (активатори) калієвих іонних каналів, які реалізують антигіпертензивну, антиангінальну та міоспазмолітичну дію через  $K_{ATP}$  канали сарколемальної мембрани та внутрішньої мембрани мітохондрій [88, 103, 493]. Основним ендogenousним регулятором такого типу каналів є внутрішньоклітинна концентрація АТФ. Зменшення рівня АТФ при гіпоксії та ішемії призводить до активації  $K_{ATP}$  каналів, виходу іонів калію з клітин і стійкої гіперполяризації мембрани, що перешкоджає входу іонів кальцію всередину

через потенціалозалежні кальцієві канали. Однак, роль фармакологічних АКК у клініці внутрішньої медицини, незважаючи на їх місце в уніфікованих систематиках (класифікаціях) ліків, лишається невизначеною в зв'язку з недостатньою селективністю дії, побічними серцево-судинними та метаболічними ефектами. В той же час, природний гомеостатичний енергозберігаючий механізм функціонування  $K_{ATP}$  каналів, який забезпечує шляхи розвитку поліорганного захисту, диктує необхідність створення та дослідження позбавлених недоліків представників АКК [4, 134, 192]. До таких сполук відноситься вітчизняний активатор  $K_{ATP}$  каналів флокалін [191, 100]. Фторвмісний аналог пінацидилу, похідний гуанідину – флокалін, який було синтезовано в Інституті органічної хімії НАН України (N-(-4-дифторометоксифеніл)-N'-1,2,2-триметилпропіл-N''-ціаногуанідин) містить бензойне кільце з дифторометокси-групою (замість піридинового кільця). Внаслідок приєднання атому фтору покращуються терапевтичні властивості та зменшується токсичність, порівняно з відомими активаторами  $K_{ATP}$  каналів. Сучасний стан результатів досліджень терапевтичних властивостей нового модулятора калієвих каналів можна охарактеризувати як практично завершений етап доклінічного вивчення коронаролітичних, антиаритмічних, кардіопротективних, вазодилатуючих, спазмолітичних ефектів для визначення ролі флокаліну як перспективного міотропного спазмолітика та кардіопротектора [124, 130-133]. Суттєвим доповненням мотивації процесу промислового виробництва препарату флокалін є розширення спектру його фармакодинаміки і, беручи до уваги кардіоренальний континуум, встановлення нефротропних ефектів. Загальновизнаним є те, що розвиток серцево-судинної і ниркової патології об'єднується багатьма нейрогуморальними та гемодинамічними факторами. Первинні порушення одного органу часто призводять до пошкодження другого, погіршуючи таким чином прогноз і прискорюючи прогресування як серцевої, так і ниркової недостатності [422, 461, 463]. Відповідно, клінічна користь терапевтичних втручань залежить від патогенетичних механізмів захисних впливів на органи

мішені – серце, судини, нирки. Саме тому наша робота була присвячена дослідженням ренальних ефектів кардіопротектора і вазодилататора флокаліну на моделях експериментальних нефропатій, розвиток яких відтворював спільні (універсальні) для багатьох ниркових захворювань механізми патогенезу.

Оцінка ренальних впливів флокаліну проводилась шляхом порівняння з показниками функцій нирок після застосування бензотіазепінового БКК дилтіазему. За сучасними уявленнями, до ліків, ключовим механізмом дії яких є модуляція іонних каналів, відносяться, перш за все, блокатори повільних потенціалозалежних кальцієвих каналів. Клінічні дослідження протягом останніх тридцяти п'яти років довели, що гетерогенний клас БКК утримує провідні позиції при серцево-судинній патології завдяки антигіпертензивним, антиангінальним, антиішемічним, антиаритмічним, ангіопротективним властивостям [22, 96, 108, 152, 163]. Безумовними перевагами класу є клінічно встановлена ефективність БКК при ниркових захворюваннях, яку забезпечує важлива біологічна роль внутрішньоклітинного іону кальцію в контролі судинного тону, клітинних функцій, гомеостатичних процесів, структурної перебудови нирок [53]. Отже, обидва класи модуляторів іонних каналів опосередковують терапевтичні ефекти через захист клітин від кальцієвого перевантаження та забезпечують взаємозв'язок між метаболічним станом клітини та її електрофізіологічними властивостями [59, 283]. Насправді, підвищення внутрішньоклітинної концентрації іонів кальцію зумовлює вазоконстрикцію, порушення оксидативних процесів, пригнічення тканинного дихання, призводить до апоптозу чи некрозу клітин.

Таким чином, спільні аспекти фармакодинаміки відкривачів калієвих каналів і блокаторів входу іонів кальцію були в нашій роботі основою декількох позицій: дозволяли припущення про можливі нефротропні властивості флокаліну; обґрунтовували вибір препарату порівняння; допомогали оцінити ренальні ефекти фторвмісного активатора  $K_{ATP}$  каналів та окреслити новий напрямок медикаментозної нефропротекції; давали



можливість доповнити нефропротективний потенціал БКК і розширити мотиваційні аспекти створення класу нефропротекторів.

Зважаючи на залежність ниркових процесів від інтегративного функціонування калієвих каналів судин, клітин юктагломерулярного апарату, каналців і збірних трубочок, були вивчені ренальні ефекти флокаліну за умов гіпергідратації організму. Дослідження функцій нирок, виходячи з фізіологічних основ, проводились за умов 5% водного та 3% сольового навантаження 0,45% розчином NaCl. Індукований таким чином діурез відтворює природне надходження в організм іонів і води, при цьому спрацьовують загальні та високочутливі ниркові реакції, спрямовані на підтримку водно-сольового гомеостазу. Загальновизнаною є думка про те, що сучасним підходом до інтегративної функціональної характеристики нирок є використання різних типів індукованого діурезу [116]. Оцінка функцій нирок на тлі водно-сольових навантажень дозволяє швидко виявити нефротропну активність сполук, окреслити механізми дії, оцінити стан адаптаційних можливостей та функціональний резерв нирок [180].

Після разового введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг ( $DL_{50}$  у дорослих щурів становить 2310 мг/кг [124]) іонорегулювальна функція нирок характеризувалась збільшенням натрійурезу, зменшенням калійурезу. Збереження калієвого резерву організму та підвищення екскреції іонів натрію свідчить про пригнічення мінералокортикоїдних впливів. У порівнянні з супутніми ефектами багатьох судинорозширювальних засобів, разове введення флокаліну не супроводжувалось підвищенням активності РААС, що підтверджувалось зростанням альдостеронозалежного коефіцієнту  $Na^+/K^+$  в сечі. На відміну від «пресорного діурезу» на тлі артеріальної гіпертензії, сечовиділення під впливом флокаліну зменшувалось. Не виключено, що підвищувався транспорт води через інтегральні мембранні білки клітин каналців – аквапорини для підтримки КФ за умов ефекту «першої дози» – потужної вазодилатації. На тлі водного діурезу пригнічувались впливи антидіуретичного гормону. Однак, аквапорини типу AQP1, активність яких не

регулюється вазопресином, у великій кількості знаходяться на апікальній та базолатеральній поверхні клітин епітелію проксимальних звивистих каналців і тонкого низхідного сегменту петлі Генле, де абсорбується основний об'єм первинного фільтрату (до 85%) [194]. Це узгоджується з особливостями водного обміну нирки і забезпечує осмотичну проникність для води. Відсутність статистично значущих відмінностей транспорту іонів натрію в проксимальному та дистальному відділах нефрону свідчило про збалансування клубочкових і каналцевих процесів. На користь цього судження слугувала пряма кореляційна залежність ШКФ з проксимальною реабсорбцією іонів натрію і з його абсолютною реабсорбцією після введення дози 5 мг/кг, а також і під впливом більшої дози. Підвищення коефіцієнту співвідношення  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  в сечі та стандартизованої за КФ екскреції іонів натрію було наслідком знижених впливів РААС, що вказувало на збереження нормального рівня АТ і кровопостачання кори нирок. Заперечення щодо активації РААС підтверджувалось калійзберігаючим ефектом за рахунок зниження секреції іонів калію з сечею і калійурезу під впливом флокаліну, що в цілому позитивно характеризувало флокалін, як засіб протиаритмічної і кардіопротективної терапії. Стан іонного складу клітин ниркових каналців відображався на трансканальцевому градієнті концентрації показників, які визначали кислоторегулювальну функцію нирок. Збільшення рН сечі, що було результатом підвищення амоніогенезу і секреції аміаку, який у просвіті нефрону зв'язував іони водню, мало адаптивний характер. В той же час, збільшення екскреції креатиніну і стабільність кліренсу ендogenous креатиніну свідчать про збереження екскреторної функції нирок завдяки стабільній ШКФ. Не виключено, що після введення флокаліну зниження протеїнурії було наслідком посиленої реабсорбції білка в проксимальних каналцях і, можливо, зменшеної проникності клубочкового фільтру, що вказувало на захисний вплив АКК.

Після семиразового введення флокаліну в дозах 5 мкг/кг та 10 мг/кг за умов водної гіпергідратації зміни водо-, кислото-, іонорегулювальної та

екскреторної функції нирок були також спрямовані на підтримку водно-електролітного балансу. У відповідь на вазодилатацію при багаторазовій активації  $K_{ATF}$  каналів спрацьовував механізм міогенної ауторегуляції гломерулярного апарату, зростав кровообіг у капілярах клубочка, і ШКФ збільшувалась без дозозалежних переваг. Активація фільтраційного сектору нефрону, можливо, викликала посилення екскреції вільних та зв'язаних іонів водню. На стані ацидогенезу також відображались зміни трансканальцевої концентрації осмотично активних іонів натрію та калію. Зниження екскреції іонів натрію, перерахованої на 100 мкл КФ відбувалось за рахунок збереження на тлі вірогідного зниження АТ функціональних можливостей клубочково-канальцевого балансу. Разом з тим, це є свідченням активного стану процесів реабсорбції в каналцях. Виявлені позитивні кореляційні зв'язки між ШКФ і проксимальним транспортом іонів натрію після введення дози 5 мг/кг і 10 мг/кг підтверджували збалансованість ниркових процесів. Зростання відносної реабсорбції іонів натрію та води забезпечувало сталість водно-сольової рівноваги. Збільшення об'єму КФ не супроводжувалось підвищенням протеїнурії, що дозволяло виключити гіперфільтрацію при активації  $K_{ATF}$  каналів ендотелію та гладком'язових клітин судин або припустити стабілізацію гломерулярного фільтру. Зменшення натрійурезу вказувало на здатність нирок підтримувати осмотичний баланс після семиденного введення флокаліну за умов гіпергідратації організму.

Покращення функціонального стану проксимального відділу нефрону після семикратного введення флокаліну на тлі водного діурезу відображалось не тільки зменшеною протеїнурією, але й підвищенням проксимальної реабсорбції іонів натрію. Надмірну активацію механізмів РААС виключало підвищення коефіцієнту  $Na^+/K^+$  в сечі та відсутність калійуретичної реакції, яка спостерігається при курсовому застосуванні діуретиків, метилксантинів. Особливістю дії флокаліну було збільшення каліємії за рахунок виходу внутрішньоклітинних іонів калію. Незважаючи на допустиме, пропорційне ШКФ, збільшення фільтраційного калієвого завантаження, рівень екскреції

іонів калію не змінювався, що, швидше за все, вказувало на компенсаторну активацію реабсорбції іонів калію та на стабільність калієвого балансу організму після введення флокаліну.

Після введення флокаліну в дозах 5 мг/кг і 10 мг/кг за умов 5% водного навантаження функції нирок характеризувались подібною тенденцією змін і, переважно, відсутністю статистично значущої дозозалежної відмінності показників основних процесів нирок. Однак відомо, що кардіотропні та судинорозширювальні ефекти флокаліну мають дозозалежний характер, що демонструвалось в експериментах *in vivo* та *in vitro*. При цьому автори наголошували на необхідності обережного підходу до дозування активаторів  $K_{ATP}$  каналів при використанні їх у терапевтичних цілях і особливо, враховуючи потужну вазодилатуючу дію, в похилому віці [30, 34, 100, 124]. Останнє може бути наслідком досить сильної активації калієвих каналів, відкривання перших та інгібування високопорогових кальцієвих каналів, відповідно, суттєвого зменшення вмісту внутрішньоклітинних іонів кальцію, порушення іонного метаболізму та дисфункції клітин.

Можна вважати, що більш виражена вазодилатуюча дія флокаліну в дозі 10 мг/кг відображалась на клубочкових процесах після разового введення за умов сольового діурезу. Відомо, що значне розширення судин, зменшення судинної ємкості, зниження системного АТ призводять до порушення кровообігу та падіння КФ. Ймовірно, що розширення виносної артеріоли нирок зменшувало опір кровотоку і рівень необхідного для клубочкових процесів фільтраційного тиску. Наслідком цього було зниження ШКФ і концентраційного індексу ендogenous креатиніну після введення більшої дози флокаліну на тлі сольового навантаження. Однак, статистичний аналіз показав позитивні кореляційні зв'язки між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після введення дози 5 мг/кг і 10 мг/кг, що вказувало на збереженість клубочково-канальцевого балансу.

Разом з тим, зменшення стандартизованого за 100 мкл КФ показника протеїнурії після введення обох доз флокаліну вказувало на неушкодженість

базальної мембрани гломерулярного фільтру. Пригнічення каналцевої реабсорбції води та посилення відносної реабсорбції іонів натрію після активації  $K_{ATF}$  каналів спричинило підвищення кліренсу безнатрієвої води за рахунок водного компоненту сечі. В той же час, зниження натрійурезу є показником реалізації механізмів РААС для підтримки АТ, інтрагломерулярного тиску та кровотоку в нирках на тлі зниженої сольовим навантаженням активності альдостерону.

Після разового введення активатора  $K_{ATF}$  каналів на тлі сольової гідратації зберігався клубочково-каналцевий і каналцево-каналцевий баланс. Зниження проксимального транспорту та підвищення дистальної реабсорбції іонів натрію перешкоджало втратам іонів натрію з сечею. Незважаючи на дозозалежне зниження проксимального транспорту, показники абсолютної та відносної реабсорбції іонів натрію під впливом обох доз збільшувались. При цьому мали місце позитивні кореляційні зв'язки між ШКФ і абсолютною реабсорбцією іонів натрію під впливом дози 5 мг/кг і 10 мг/кг. Стабільність діурезу та зменшення екскреції іонів натрію були спрямовані на збереження водних компартментів організму та характеризують флокалін як засіб підтримки функціонального резерву нирок за умов навантаження організму щурів сольовим розчином. Флокалін на тлі сольової індукції не тільки не порушував гомеостатичні механізми, але й підвищував функціональні можливості нирок.

Відкриття  $K_{ATF}$  каналів на тлі гіпергідратації сольовим розчином супроводжувалось зменшенням концентрації іонів калію в плазмі крові та зростанням калійурезу. Калійуретичний ефект міг бути наслідком як підвищення дистальної секреції іонів калію, так і зниження реабсорбції цього електроліту після разового введення флокаліну за умов сольового діурезу. На тлі сольового навантаження, зменшення натрійурезу та збільшення калійуретичної реакції регуляторним чином мало б відображатись на осмоляльності плазми крові. Дозозалежне збільшення екскреції вільних і зв'язаних іонів не змінювало рН сечі. Тому і активація кислоторегулювальної

функції нирок, і реакція іонорегулювальної функції мали адаптивний характер змін для забезпечення водно-осмотичної рівноваги.

Після семиразового введення меншої дози відкривача  $K_{ATP}$  каналів за умов сольового навантаження збільшувався діурез, вірогідно не змінювалась ШКФ, зменшувалась відносна реабсорбція води, не змінювалась протеїнурія. Збільшення осмоляльності позаклітинної рідини сольовим навантаженням стримувало вазодилатуючий вплив флокаліну на ренальні судини за рахунок втручання нейрогормональних чинників регуляції водно-сольової рівноваги (вазопресину), що перешкоджало збільшенню ШКФ. Пряма кореляційна залежність між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після введення дози 5 мг/кг і 10 мг/кг, між ШКФ і екскрецією креатиніну після введення меншої та більшої дози підтверджували нормальний рівень ниркових процесів. Варто відзначити, що на тлі збільшення концентрації креатиніну в плазмі крові після відкриття калієвих каналів, флокалін лише в дозі 5 мг/кг підвищував екскреторну функцію нирок. Екскреція креатиніну після введення меншої дози була більше, ніж у контролі, а також і після введення дози 10 мг/кг, що, як і аналіз діуретичної реакції у цій серії експериментів, підтверджувало висновок попередніх досліджень серцево-судинних ефектів флокаліну стосовно більшої терапевтичної ефективності менших експериментальних доз [100].

Під впливом флокаліну активувалась іонovidільна функція нирок. Виділення надлишку осмотично активних катіонів та підвищення діурезу здійснювалось переважно за рахунок змін транстубулярних процесів у нирках. Проявлялись альдостеронозалежні ефекти, на що вказувало підвищення калійурезу та збільшення натрієвої реабсорбції в дистальному сегменті нефрону. Однак, семиразове введення флокаліну за умов розширення об'єму позаклітинної рідини сольовим навантаженням спричинило підвищення виділення іонів натрію нирками. Беручи до уваги кардіопротекторну дію нового фторвмісного активатора  $K_{ATP}$  каналів [101, 169], можна вважати активацію передсердного натрійуретичного пептиду [177] причиною

збільшеної екскреції іонів натрію після застосування флокаліну. Флокалін втручався в механізми підтримки кислотно-лужної рівноваги. Зростання показника рН сечі після багаторазового застосування флокаліну за умов сольового навантаження було пов'язано зі зменшенням екскреції вільних і зв'язаних іонів водню. Залужнення сечі вказувало на потенційну ефективність флокаліну при патологічних станах, які супроводжуються метаболічним ацидозом.

Отже, оцінка функціонального стану нирок на тлі фізіологічних водно-сольових навантажень показала, що особливості змін водо-, іоно-, кислоторегулювальної та екскреторної функцій нирок залежали від кратності введення флокаліну та типу індукованого діурезу. Ниркові реакції за умов активації  $K_{ATP}$  каналів не супроводжувались порушенням клубочкових процесів і каналцевих транспортних систем, мали адаптивний характер і забезпечували гомеостатичну діяльність нефрону для збереження водно-осмотичної рівноваги.

Ренальні ефекти флокаліну за умов відтворення фізіологічного наводнення організму не відрізнялись стабільними дозозалежними змінами. Однак привертало увагу, що показники функціонального стану нирок були статистично значимими та відображали захисні властивості активатора  $K_{ATP}$  каналів переважно після введення меншої дози, що обґрунтовало вибір для подальших досліджень дози 5 мг/кг.

Нефротропні ефекти флокаліну можуть опосередковуватись екстраренальними шляхами через гемодинамічні фактори підвищення ниркового кровотоку. З іншого боку, збільшення наповнення мікросудин – інтрагломерулярних і перитубулярних капілярів у поєднанні з метаболічними змінами ендотеліоцитів, епітеліальних клітин каналців та інтерстицію складають фізіологічну основу ренальних механізмів функцій нирок під впливом активатора  $K_{ATP}$  каналів.

Структурно-функціональна перебудова судинного русла з дезадаптивним ремоделюванням нефроцитів є патофізіологічною основою

нефропатій. У світлі цієї концепції встановлення ренальних властивостей флокаліну на експериментальних моделях нефропатій має важливе значення для визнання нових напрямків патогенетичного лікування захворювань нирок.

Нефропротективну дію флокаліну оцінювали шляхом співставлення результатів з ренальними ефектами блокатора потенціалозалежних кальцієвих каналів дилтіазему. Науковою основою вибору в якості порівняння дилтіазему слугували факти переважної клінічної ефективності фармакотерапії недигідропіридиновими антагоністами іонів кальцію у нефрології [53, 110, 147].

Для відтворення клінічної патології у перших серіях експериментів використовували сулемову нефропатію – модель з тубулярною дисфункцією, характерною для переважної кількості поліетіологічних нефрологічних захворювань. Відомо, що важкі метали первинно пошкоджують нирковий епітелій, особливо проксимального відділу нефрону, пригнічують енергетику каналцевих процесів, що призводить до значного зменшення реабсорбції іонів натрію – основного регулятора стабільності водно-сольового обміну [144, 159, 190].

Введення флокаліну через 2 години після моделювання сулемової нефропатії 0,1% розчином дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг призводило до нормалізації зниженого діурезу. Волюморегулювальна функція відновлювалась завдяки коригувальному впливу флокаліну на забезпечення клубочковими і каналцевими процесами сталості водних секторів організму. Після разового введення флокаліну ШКФ була вище, ніж у нелікованих і контрольних щурів. Зростання ШКФ свідчить про прямий протекторний вплив флокаліну на нирки при токсичній нефропатії. Регуляторна участь мембранних  $K_{ATP}$  каналів полягала в безпосередній вазодилатації і зниженні вазоконстрикторних впливів РААС, які активуються одразу після введення сулеми [135]. Підвищення ниркового кровотоку і ШКФ відображалось посиленням екскреторної функції нирок, необхідної для виділення кінцевих продуктів, в першу чергу – азотистого обміну. Гіперкреатиніємія під впливом



флокаліну знижувалась і збільшувалась екскреція креатиніну. При цьому був встановлений прямий кореляційний зв'язок між ШКФ і екскрецією креатиніну.

Завдяки покращенню кровопостачання нирок, мембраностабілізуючим і метаболічним ефектам флокаліну [30, 482, 514] пригнічувався розвиток гострого пошкодження клітин, відновлювалась проникність пор клубочкової мембрани, зменшувалось проникнення макромолекул білка в мезангіальний простір.

Враховуючи прямий взаємозв'язок показників протеїнурії з динамікою розвитку і прогресування ниркової недостатності, антипротеїнуричний ефект флокаліну при гострому сулемовому ураженні нирок заслуговував на особливу увагу. Концентрація білка в сечі зменшувалась внаслідок покращення стану гломерулярного фільтру, що підтверджувалось зниженням до нормальних значень стандартизованої за КФ протеїнурії. Варто зазначити, що клубочкова протеїнурія виникає лише тоді, коли резервні можливості проксимальних каналців не є достатніми для підвищення компенсаторної реабсорбції білка [36]. У наших дослідженнях нормалізація екскреції білка з сечею, підвищеної за умов гострої сулемової нефропатії, вказувала на захисний вплив флокаліну також і в проксимальному відділі нефрону.

Збільшення об'єму КФ та фільтраційного натрієвого завантаження після введення флокаліну сприяло зниженню гіпернатріємії у щурів з токсичною нефропатією. Встановлені позитивні кореляційні зв'язки між концентрацією іонів натрію в сечі та екскреторною фракцією, а також між стандартизованою за КФ екскрецією цього катіону. Отже, модуляція залежних від іонного балансу кальцію внутрішньоклітинних процесів відображалась на показниках каналцевого транспорту іонів натрію. Зниження натрійурезу на тлі пошкодження нирок сулемою змінювалось на натрійуретичну реакцію під впливом флокаліну. Цей факт не є свідченням ренальних втрат іонів натрію, враховуючи збільшення екскреції вільної від іонів натрію води. На тлі нормалізації гіпернатріємії у щурів з сулемовою нефропатією, підвищення

натрійурезу після разової активації  $K_{ATF}$  каналів можна розцінювати як участь адекватної кількості іонів натрію в сечовиділенні для підтримки натрієвого балансу в організмі.

На захисні властивості флокаліну вказували зміни транс tubулярного транспорту іонів натрію. Збільшувалась відносна і проксимальна реабсорбція іонів натрію, і між цими показниками був прямий кореляційний зв'язок. Відновлювався знижений під впливом сулеми дистальний транспорт електроліту, що також засвідчувало стимулюючий вплив активації  $K_{ATF}$  каналів на каналцеві процеси. Підвищення проксимальної реабсорбції як у порівнянні з нелікованими, так і з інтактними щурами підтверджує припущення про тубуло-залежний антипротеїнуричний ефект флокаліну та вказує на патогенетичну участь  $K_{ATF}$  каналів у формуванні токсичної нефропатії. Важливо, що цитопротекторна дія флокаліну на проксимальні каналці відбувалась на тлі явищ некрозу клітин у цьому тубулярному відділі.

Калійуретичний ефект після разової активації калієвих каналів був пов'язаний як з підвищенням ШКФ, що підтверджувала позитивна кореляційна залежність між КФ та екскрецією іонів калію, так і з підвищеною каналцевою секрецією іонів калію під впливом флокаліну за умов гострої токсичної нефропатії. При цьому зберігався механізм компенсаторного виходу іонів калію з тканинних депо [1], що забезпечувало нормальний рівень каліємії. Слід зауважити, що для токсичних нефропатій з переважним тубулярним пошкодженням нефрону характерним є пригнічення зворотного всмоктування іонів калію в проксимальних каналцях [115]. Даний факт підтверджували підвищені значення концентрації в сечі та екскреції іонів калію в наших дослідженнях у перший день формування сулемової нефропатії. Крім того, під впливом флокаліну збільшувалась проксимальна та дистальна реабсорбція іонів натрію. У відповідь на збільшення надходження іонів натрію клітини дистальних каналців секретували іони калію. Цей альдостеронозалежний процес не домінував у ренальній дії флокаліну. Зменшення стандартизованого за КФ показника дистальної реабсорбції іонів

натрію та відсутність кореляційної залежності між екскрецією іонів калію і даним показником вказувало на зниження опосередкованих внутрішньонирковою РААС впливів.

Разове введення дилтіазему також гальмувало розвиток ренальної дисфункції в перший день формування токсичної нефропатії. Селективна вазодилатація аферентних артеріол, де локалізується переважна кількість кальцієвих каналів L-типу (порівняно з еферентними артеріолами), призводила до збільшення притоку крові до клубочків. Покращення метаболічного стану клітин гломерулярної мембрани відображало зниження протеїнурії – екскреція білка у перерахунку на 100 мкл КФ зменшувалась. Це можна також пояснити збереженням об'єму клубочкового фільтрату тому, що діурез і відносна реабсорбція води не змінювались. Отриманий антипротеїнуричний ефект дилтіазему співпадав з результатами клінічних досліджень інших науковців [53]. Разом з тим, кількісна оцінка клубочкових процесів показала, що, на відміну від чіткого стимулювального гломерулотропного впливу флокаліну, після разового введення дилтіазему спостерігалась лише тенденція до збільшення ШКФ. Хоча з наукових повідомлень відомо, що дилтіазем підвищує фільтраційні процеси, але ці результати були отримані після курсового введення препарату, а не при ГПН [157]. Відсутність статистично значущих змін ШКФ відображалась на показниках екскреторної функції нирок. Незважаючи на збільшення креатиніну в сечі, у щурів з сулемовою нефропатією рівень креатиніну в плазмі крові та його екскреція не змінювались.

Дилтіазем, як і флокалін, підвищував амонійний коефіцієнт, що вказувало на перевагу амоніогенезу над ацидогенезом та на їх захисну дію за умов розвитку метаболічного ацидозу після сулемового пошкодження. Подібні зміни кислоторегулювальної функції нирок обґрунтовували односпрямовані іоновидільні реакції, які характеризувались посиленням калій- і натрійурезу під впливом обох сполук. Підвищення екскреції електролітів можна було б з позицій традиційної трактовки ренальних ефектів

тлумачити як позитивний результат впливу дилтіазему на іонорегулювальну функцію нирок. Однак, у щурів з сулемовою нефропатією підвищення калійурезу супроводжувалось гіпокаліємією. Діурез, відносна реабсорбція води, екскреція вільної від іонів натрію води після введення дилтіазему не змінювались і тому посилення натрійурезу не супроводжувалось еквівалентним виділенням води. Крім цього, зниження натріємії під впливом БКК на тлі незмінної двохгодинної реабсорбції іонів натрію в каналцевому секторі дозволяло асоціювати натрійурез з втратою іонів натрію організмом. Основною причиною таких зрушень було зниження енергозалежних транспортних процесів у проксимальних каналцях, що демонстрував зменшений стандартизований за КФ показник реабсорбції в цьому відділі нефрону.

Порівняльна оцінка найважливіших маркерів прогресування захворювань нирок ШКФ і протеїнурії після разового введення модуляторів іонного току на першу добу розвитку сулемової нефропатії показала більш виражені ренопротективні впливи флокаліну. Активація судинних механізмів під впливом АКК відрізняється включенням всіх підтипів калієвих каналів [103], швидше за все, в тому ж числі і в нирках, що індукує більш стабільні гемодинамічні ефекти і збільшення ШКФ. Між тим, розслаблення судинних клітин під впливом БКК пов'язане з переважним (селективним) інгібуванням потенціалозалежних кальцієвих каналів L-типу. На гломерулярній гемодинаміці також могла відображатись відсутність рівномірного розподілу в системі ниркової мікроциркуляції функціональних кальцієвих каналів, що цілком ймовірно пояснює менш виражений вплив дилтіазему на фільтраційні процеси. Разом з тим, після введення дилтіазему також зменшувались пошкоджувальні внутрішньоклітинні кальцій-залежні реакції, що демонструвало зменшення саме клубочкової протеїнурії. Однак, до переваг дії флокаліну над дилтіаземом, крім зниженої протеїнурії і збільшеної ШКФ, слід додати тубулопротективні впливи, опосередковані позитивними змінами енергетичного метаболізму в клітинах каналців завдяки посиленню

адаптивних реакцій, пов'язаних з відкриттям  $K_{ATP}$  каналів [35, 59, 170]. Це підтверджували і наші подальші результати.

Результати експериментальної оцінки функціонального стану нирок після однократного застосування фармакологічних коректорів, які підтримують прогнозовану ренальну активність, вказують, як правило, на нефропротективний потенціал досліджуваних сполук. Ниркові ефекти після разового застосування нових чи відомих представників класів лікарських засобів можна екстраполювати на терапію гострих клінічних ситуацій та невідкладних станів, тобто на різні за формою ураження нирок. Разом з тим, такий методичний підхід більш притаманний фізіологічним чи патофізіологічним дослідженням структури, функції і функціональної ролі об'єкту, патогенезу захворювання, напрямків корекції тощо.

Необхідною умовою фармакологічної характеристики для визначення терапевтичного спектру та оцінки безпечності на доклінічному чи клінічному етапах досліджень є вивчення функціональних змін нирок після тривалого застосування перспективних у практичному відношенні засобів. У зв'язку з цим, дослідження ренальних ефектів на моделях гострих і хронічних патологічних станів нирок проводились також і після курсового застосування флокаліну протягом семи днів.

На сьомий день початкової стадії розвитку сулемової нефропатії було встановлено зниження діурезу, гіперкреатиніємію, високу протеїнурію, зниження рН сечі, гіпокаліємію, підвищення натрійурезу.

Після семикратного введення модуляторів іонних каналів зберігались антипротеїнуричні ефекти флокаліну і дилтіазему. Факт зменшення екскреції білка – визначального фактору порушення ниркових процесів, незважаючи на еволюцію в підходах до оцінки біомаркерів нефропатії [294, 295, 303], підтверджує патогенетичну роль дисфункції  $K_{ATP}$  каналів і повільних потенціалозалежних кальцієвих каналів L-типу в формуванні нефропатії, а також вказує на співставність ренальних впливів флокаліну з нефропротектором дилтіаземом. Варто зазначити, що, порівняно з БКК,

антипротеїнуричний ефект флокаліну був у кількісному відношенні більш значимим і тому відновлювався нормальний рівень стандартизованої за КФ екскреції білка. Наявність протеїнурії свідчила про дисфункцію проксимального відділу нефрону на сьомий день після моделювання сулемового ураження нирок, спричинену селективною кумуляцією сулеми в тубулярних клітинах. Можна вважати, що новий активатор  $K_{ATP}$  каналів пригнічує прогресування токсичної нефропатії не тільки за рахунок впливу на клубочкові процеси, а також і внаслідок протекторної дії на «універсальний ланцюг» нефрологічної патології нирок – пошкодження проксимального відділу нефрону.

За умов ураження дихлоридом ртуті збільшення екскреції білка було наслідком порушення каналцевих транспортних систем. Іони ртуті фільтруються в клубочках, потрапляють в просвіт ниркових каналців і, реабсорбуючись, блокують тіолові (SH-) групи ферментних білків. Зміна нативного стану білків унеможливорює життєво важливі біоенергетичні процеси. Особливу роль при токсичних впливах відіграє накопичення в цитозолі іонів кальцію, який за фізіологічних умов присутній у дуже низьких концентраціях. Такий стан підтримується зв'язаними з клітинною мембраною енергозалежними  $Ca^{2+}$ - $Mg^{2+}$ -АТФазами. Різке збільшення концентрації іонів кальцію активує фосфоліпази лізосом, відбувається деградація фосфоліпідів мембран, з'являються лізофосфоліпіди та вільні жирні кислоти, порушується функція мембран та їх проникність [75]. Внаслідок зниження надходження іонів кальцію під впливом флокаліну та дилтіазему пригнічувалась руйнація ультраструктур клітин, відновлювалась система генерації енергії – акумулююча здатність мітохондрій. Зменшення ступеня пошкодження клітин каналців відображалось зниженою протеїнурією.

Позитивний кореляційний зв'язок між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію після семиденного ведення флокаліну та дилтіазему засвідчував узгоджену роботу клубочкового і каналцевого відділів нефрону. Разом з тим, відносна реабсорбція іонів натрію після

введення дилтіазему зменшувалась, виділення іонів натрію зростало, що і зумовлювало діуретичну реакцію нирок. Однак, лише під впливом флокаліну зменшувались екскреторна фракція іонів натрію (індикатор стану тубулярного відділу нефрону) і, одночасно, двохгодинний натрійурез та стандартизована за КФ екскреція білка досягали нормальних значень. Отже, на відміну від дії флокаліну, дилтіазем не покращував клубочкові процеси та не перешкоджав втратам іонів натрію з організму у щурів з сулемовою нефропатією. Враховуючи те, що екскреція іонів натрію після введення дилтіазему суттєво зростала, зменшення ШКФ не було підтримкою БКК компенсаторних механізмів зниження ультрафільтрату до величин, які здатні реабсорбуватися нирковими каналцями. Орієнтуючись на суттєве підвищення стандартизованого за КФ показника дистальної натрієвої реабсорбції, можна припустити роль РААС в гломерулярних впливах дилтіазему. Однак, факт втрати іонів натрію з сечею виключав достатній ступінь відновлення механізмів клубочково-каналцевих прямих і зворотних взаємозв'язків, а також їх регуляторну участь в ефектах дилтіазему. Крім того, під впливом дилтіазему знижувалась ШКФ, і за рахунок високого вмісту креатиніну в плазмі крові зменшувався концентраційний індекс ендogenous креатиніну, який також вважається маркером ефективності ниркових процесів.

Кислоторегулювальна функція нирок після введення флокаліну та дилтіазему щурам з сулемовою нефропатією відновлювалась, на що вказували рівнозначні інтактному контролю величини. Привертало увагу, що, незважаючи на однакову тенденцію змін, показники кислотовиділення в групах корекції вірогідно відрізнялись між собою. Такі кількісні відмінності пояснювались не тільки неодноманітним впливом на натрієвий баланс, але і на обмін іонів калію, від якого також залежить механізм ниркової регуляції кислотно-основного стану організму. Досліджувані модулятори іонних каналів відновлювали нормальний рівень гіпокаліємії. Однак, після введення флокаліну калійурез знижувався, тоді як після застосування дилтіазему екскреція іонів калію у щурів з сулемовою нефропатією не змінювалась.

Невід’ємною особливістю нефрологічних захворювань є схильність до прогресуючого розвитку. Згідно з останніми даними про закономірність розвитку хронічного процесу, загальним результатом будь-якої ниркової патології є розвиток ХХН. Для більшої повноти характеристики нефротропних ефектів флокаліну наступним етапом нашої роботи були дослідження на стадії хронізації сулемової нефропатії. Завдяки ґрунтовним попереднім дослідженням з аналізом внутрішньониркових механізмів регуляції нефрону і морфологічного стану нирок відомо, що через 30 днів після введення дихлориду ртуті в дозі 5 мг/кг структурно-функціональна перебудова нирок відповідає стану зі зменшенням кількості функціонуючих нефронів – хронізації процесу і характеризується як пізній період поліуричної стадії розвитку сулемової нефропатії та формування тубуло-інтерстиційного синдрому [135, 149].

Особливості ренальної гемодинаміки, а також участь багатьох локальних ферментативно-транспортних систем у процесах елімінації ксенобіотиків та/чи їх метаболітів зумовлюють найбільшу вразливість нирок до токсичних агентів. Порушення стосуються переважно проксимального відділу нефрону, де відбуваються основні процеси реабсорбції профільтрованих клубочками токсичних речовин, білків, більшої частини води, електролітів тощо. Первинне пошкодження епітелію проксимальних каналців з подальшим розповсюдженням тубуло-інтерстиційної дезінтеграції на кіркову, мозкову речовину і ренальні сосочки є головною ланкою хронізації нефропатії зі зниженням концентраційної здатності нирок [37]. Причиною таких зрушень є блокада сулемою енергетичного забезпечення транспортних процесів у проксимальних каналцях. Відомо, що в проксимальному прямому каналці і мозковій товстій висхідній частині петлі нефрону міститься велика кількість SH-груп [19], які відрізняються виключно високою реакційною здатністю та багатогранністю хімічних реакцій за їх участі. Як було вказано вище, відома дуже висока спорідненість тіолових груп до пошкоджувальної дії важких металів, у тому ж числі і до солей ртуті.



Найбільш вірогідним механізмом захисної дії флокаліну є позитивна динаміка тубулярних процесів, що підтверджувала знижена протеїнурія. Безпосереднє відкриття  $K_{ATP}$  каналів забезпечувало окислювальний метаболізм у нирковому епітелії, потреби енергії та кисню, підвищувало витривалість ниркової тканини до гіпоксії. В тубулопротективному ефекті флокаліну певну роль відігравали зміни гемодинаміки, які були спричинені притаманною всім АКК і, особливо вираженою у фторвмісних представників, вазодилатацією [482]. Встановлений позитивний кореляційний зв'язок між проксимальною канальцевою реабсорбцією та ШКФ є відображенням злагодженого функціонування клубочкових і канальцевих процесів. Обидва механізми пригнічували подальший вплив сулемової інтоксикації: збільшення внутрішньониркової генерації ангіотензину II, ішемії кіркової речовини нирок, зниження антирадикального захисту, відновлення активних форм кисню, каскадної активації ліпопероксидації, вторинного пошкодження нефроцитів, посилення виділення іонів натрію. Покращення біохімічної організації ниркових процесів спричинило активацію екскреторної, кислоторегулювальної функції нирок, збереження балансу основних осмотично активних електролітів, антипротеїнуричний ефект флокаліну.

Підвищення реабсорбції іонів натрію в проксимальному відділі нефрону, завдяки взаємопов'язаним канальцево-канальцевим процесам, супроводжувалось зниженням обсягу дистальної натрієвої реабсорбції, але перш за все, забезпечувало зменшення втрат іонів натрію та позитивний натрієвий баланс. На користь тубулопротективних впливів флокаліну слугували стандартизовані показники транстубулярного транспорту іонів натрію. Підвищення розрахованого за КФ показника проксимальної натрієвої реабсорбції свідчило про збільшення функціонально активних нефронів, за рахунок яких активізувалась екскреторна функція нирок. Так, після введення активатора  $K_{ATP}$  каналів екскреція креатиніну зростала та була більшою за рівень у інтактних щурів, при цьому прямо-пропорційно корелювали показники концентрації креатиніну в сечі з ШКФ, а також абсолютної

реабсорбції іонів натрію з екскрецією креатиніну. Збільшення рН сечі до значень контролю, екскреції титрованих кислот, концентрації іонів водню в сечі вказувало на активацію кислоторегулювальної функції нирок на тлі дії флокаліну, що також свідчило про нормалізацію каналцевого транспорту в дистальному відділі нефрону.

Як вже було зазначено, період експериментального дослідження відповідав пізньому періоду поліуричної стадії розвитку сулемової нефропатії та формуванню тубуло-інтерстиційного синдрому. Відновлення зворотного тубуло-гломерулярного взаємозв'язку відображалось зниженням до нормального рівня ШКФ. Стимування ШКФ і зниження діурезу можна вважати захисною реакцією флокаліну на компенсаторну гіперфільтрацію в функціонуючих нефронах, яка одночасно є провідним механізмом прогресування токсичних нефропатій з розвитком ниркової недостатності.

Відносна реабсорбція води під впливом флокаліну зростала. Відомо, що сполуки ртуті блокують у нефроцитах аквапорини AQ1 і одночасно гальмують трансцелюлярний перенос води. Збільшена реабсорбція води в наших дослідженнях підтверджує припущення інших науковців, що поліурія після ведення сулеми є не тільки результатом пошкодження проксимальних каналців, але і наслідком блокади аквапоринів клітин як епітелію проксимальних каналців, так і збиральних трубок іонами ртуті з другого боку. Відповідно, можна думати про функціональний взаємозв'язок  $K_{ATF}$  каналів і аквапоринів, а також, враховуючи залежність фосфорилювання аквапоринів від іонів кальцію та кальцій-залежних протеїнкіназ CDPK [194], використовувати фторвмісний активатор  $K_{ATF}$  каналів для дослідження цих водних транспортерів.

Дилтіазем на стадії хронізації сулемової нефропатії також проявляв нефротропний ефект. Результати наших досліджень демонстрували, що, на відміну від дії флокаліну, в цих серіях експериментів ШКФ і концентраційний індекс ендogenous креатиніну знижувались, навіть у порівнянні з інтактними щурами. В пізньому поліуричному періоді під впливом дилтіазему

підвищувався діурез, показник якого також перевищував контрольне значення. На тлі зниження гломерулярних процесів основну роль у виникненні діуретичної реакції відігравало пригнічення каналцевої реабсорбції, що підтверджувалось зниженим значенням відносної реабсорбції води. Причинами могло бути те, що під впливом дилтіазему не зменшувалась маса пошкоджених сулемою нефронів і водних каналів, не відновлювався знижений гідростатичний і підвищений онкотичний тиск у перитубулярних капілярах. Відомо, що 60% клубочкового ультрафільтрату реабсорбується в проксимальних каналцях, отже, зниження реабсорбції води було одним із проявів збереження каналцевої дисфункції. Крім цього, екскреція білка у перерахунку на 100 мкл КФ під впливом дилтіазему зростала, що виключало залежний від стану каналцевих процесів антипротеїнуричний ефект препарату на стадії хронізації сулемової нефропатії. Відсутність антипротеїнуричного ефекту у дилтіазему констатували і інші дослідники [472]. Можливо, що за умов індукованих сулемою структурно-функціональних порушень клітин, після введення дилтіазему на стадії хронізації процесу не пригнічувався пасивний вхід іонів кальцію в клітини та/чи вихід із внутрішньоклітинних депо. У зв'язку з цим, не реалізовувався ряд притаманних БКК нефропротективних ефектів, виявлених за умов патології нирок на тлі системних захворювань, коли не мало місце пряме первинне пошкодження нефроцитів [53].

Факт значного падіння ШКФ і зменшення фільтраційного заряду іонів натрію свідчили про меншу здатність дилтіазему, порівняно з флокаліном, підтримувати за даних умов один із ниркових механізмів регуляції гомеостазу – ФНР [180]. У той же час зменшення ШКФ могло бути відповіддю на послаблення ефективності проксимальної реабсорбції іонів натрію та води під впливом дилтіазему. Підвищення діурезу у пізньому поліуричному періоді сулемової нефропатії було, найімовірніше, не результатом активації волюморегулювальної функції нирок, а наслідком зниження реабсорбції еквівалентної кількості осмоактивних електролітів. Пригнічення

проксимальної реабсорбції іонів натрію виключало можливість втручання дилтіазему в механізми вторинно-ішемічного пошкодження Анг II проксимального відділу нефрону. Разом з тим, суттєве підвищення дистальної реабсорбції електроліту свідчило про активацію реакцій підтримки каналцево-каналцевих процесів. Однак, збільшення екскреторної фракції іонів натрію під впливом дилтіазему вказувало на те, що енергетика пошкодженої нирки після введення БКК якісно не змінювалась.

На відміну від калійзберігаючого ефекту флокаліну на стадії хронізації сулемової нефропатії, дилтіазем проявляв калійуретичний ефект. Втрати іонів калію та підвищення показників дистальної реабсорбції іонів натрію після застосування БКК вказували на збереження альдостеронозалежних впливів у щурів з токсичною нефропатією.

Після застосування флокаліну за умов хронізації сулемової нефропатії вміст іонів натрію в просвіті каналців був знижений, незважаючи на високе натрієве завантаження нефрону. На тубулопротективний вплив активатора  $K_{ATP}$  каналів і відновлення трансепітеліального транспорту катіону вказував зменшений ступінь втрат іонів натрію нирками. Зниження концентраційного індексу, кліренсу, екскреції іонів натрію демонструвало активацію проксимального транспорту іонів натрію після введення флокаліну. Варто відзначити, що натрійзберігаючий ефект проявлявся на тлі зниження показника дистальної реабсорбції електроліту. Швидше за все, відновлювався каналцево-каналцевий баланс, який є важливим механізмом ниркової фізіологічної регуляції водно-сольового обміну і організації функціональної адаптації пошкодженої нирки. Разом з цим, збереження калієвого балансу за рахунок зниженого калійурезу свідчило про зменшення пошкоджувальних впливів РААС. Варто нагадати, що основним напрямком сучасної нефропротекції є терапія блокаторами РААС з метою пригнічення багатокomпонентних патогенетичних ланцюгів ремоделювання нирок [234, 252, 333, 387, 434].

Найбільш розповсюдженим патологічним станом з одночасним залученням усіх життєво важливих органів є гіпоксія [338, 413]. Явища гіпоксії супроводжують і слугують патогенетичною основою розвитку практично всіх захворювань. Насамперед, фазний розвиток поліорганних гіпоксичних ушкоджень клінічно характеризується порушенням дихання, кардіо- та цереброваскулярними дисфункціями. Завдяки величезним компенсаторним властивостям нирок, ці зміни тривалий час не відображаються на діяльності і гістоструктурі нефроцитів. Разом з тим, навіть легкі порушення адаптивних гомеостатичних ренальних реакцій зумовлюють патофізіологічні механізми незворотних наслідків гіпоксії. Тому перспективним є формування нових напрямків медикаментозної нефропротекції на підґрунті чіткого уявлення про функціональний стан нирок після дії гіпоксичних чинників і під впливом потенційних засобів корекції.

Наступні серії експериментів проводились на запропонованій нами моделі гіпоксичної нефропатії. Модель ГГГН – комбінованого гіпоксичного ураження нирок відтворювалась введенням метгемоглобіноутворювача нітриту натрію та гістотоксиканту 2,4-динітрофенолу, який роз'єднує процеси окиснення і фосфорилування. Варто відмітити, що зменшення кисневої ємності крові за умов якісних змін гемоглобіну зустрічається не тільки при отруєннях оксидом вуглецю (карбоксигемоглобінемія) і нітратами (метгемоглобінемія), які використовуються у виробничій діяльності людини. Порушення здатності гемоглобіну зв'язувати, транспортувати та віддавати тканинам кисень виникають при застосуванні терапевтичних доз лікарських засобів. Спектр медикаментозних метгемоглобіноутворювачів досить значний і включає представники практично всіх класів протимікробних засобів (фурацилін, ампіцилін, амікацин, карбеніцилін, гентаміцин, сульфаніламід, нітрофунгін, хлорохін), анальгетиків (анальгін), місцевих анестетиків (лідокаїн, бензокаїн) [138]. До групи ризику виникнення метгемоглобінемії відносяться пацієнти з серцево-судинною патологією, які приймають препарати нітрогліцерину (нітрогліцерин, ізосорбід, мононітрат тощо).

Гіпоксемію такого типу може спричинити нікорандил, який поєднує властивості нітратів і активаторів  $K_{ATP}$  каналів [352]. Кисневе голодування в ізольованій формі не зустрічається. Гіпоксія будь-якого генезу, зазвичай, ускладнюється ураженнями дихальних ферментів і приєднанням кисневої недостатності тканинного характеру. Враховуючи вищесказане, дослідження ренальної дії і порівняльний аналіз нефротропних ефектів флокаліну на тлі відтворення аналогічної клінічним ситуаціям поєднаної гістогемічної гіпоксії, а також визначення термінових і стійких механізмів підтримки водно-сольового гомеостазу на стадіях розвитку ГГГН мають фундаментальне та практичне значення.

Результати, які були отримані на моделях розвитку ГГГН також продемонстрували нефропротекторну здатність флокаліну. Реакція нирок на гостре гістогемічне ураження характеризувалась зниженням діурезу, збільшенням концентрації креатиніну в сечі, концентраційного індексу і екскреції креатиніну, протеїнуриєю, збільшенням рН сечі, гіперкаліємією, підвищенням калій- і натрійурезу. Після разового введення флокаліну, знижений за умов ГГГН, діурез збільшувався і досягав контрольного значення. Відомі наукові факти про те, що кисневе голодування супроводжується змінами діурезу, і при гіпоксії легкого та середнього ступеню важкості виникає поліурія, зумовлена блокадою антидіуретичного гормону [19]. У змодельованій ситуації гіпоксичного гемічного та цитотоксичного ураження нирок, виникали не тільки загальні, але і місцеві порушення кровообігу та деструкція клітин, які в сукупності зумовлюють олігурію [181]. Підвищувалась проникність стінки ниркових каналців, і відносна реабсорбція води достовірно зростала для збереження об'єму КФ та підвищення ШКФ. Посилення фільтраційних процесів за умов розвитку гострого гіпоксичного впливу є адаптаційною реакцією організму у відповідь на нестачу кисню. Одним із важливих регуляторних механізмів нирок є збільшення потужності гомеостатичних функцій за рахунок включення ФНР [180]. Зростання ФНР у пошкоджених нефронах віддзеркалилось

підвищенням КФ на початковій стадії розвитку гострої гіпоксичної нефропатії та підтримкою, таким чином, екскреторної функції нирок.

Після введення флокаліну знижений рівень діурезу досягав нормальних значень, хоча відносна реабсорбція води лишалась підвищеною. На особливу увагу заслуговує посилена гломерулярна реакція при відкритті  $K_{ATP}$  каналів. Інтегральними механізмами збільшення КФ під впливом флокаліну можна вважати потужну системну вазодилатацію, покращення фібринолітичної активності та гемореологічних властивостей крові, стан судин мікроциркуляторного русла у поєднанні зі зменшенням активації внутрішньониркової РААС. Завдяки регуляторній участі  $K_{ATP}$  каналів і, власне, флокаліну при енергодефіциті [35] зменшувались пошкодження особливо чутливої до гіпоксії юкстагломерулярної зони, пригнічувались вазоконстрикторні впливи РААС на приносні артеріоли нирок, гідростатичний тиск крові та інтенсивність ШКФ зростали і екскреція креатиніну була вище, ніж у контролі. Зменшення екскреції білка заперечувало можливу припущенню, що діючі нефрони при цьому працювали в режимі гіперфункції. Зниження протеїнурії на тлі стимульованої флокаліном ШКФ, а саме – стандартизованого за КФ показника екскреції білка свідчило про покращення функціонального стану нирок, а можливо, і анатомічної структури гломерулярної базальної мембрани.

Після введення дилтіазему двохгодинна екскреція білка також знижувалась. Однак, стандартизований за КФ показник протеїнурії у щурів з ГГГН не змінювався, що вказувало на функціонування меншої кількості нефронів.

Динаміка змін клубочкових процесів відображалась на виділенні електролітів у щурів з ГГГН. Компенсаторне збільшення ШКФ на моделі гіпоксичної нефропатії призвело до підвищення фільтраційної фракції іонів натрію. Суттєве зростання об'єму фільтрату та гломерулярної перфузії під впливом флокаліну спричинило ще більше фільтраційне натрієве завантаження нефрону. Однак, якщо виділення іонів натрію з сечею у

нелікованих щурів значно зростало, то після введення флокаліну натрійурез не відрізнявся від значень контролю. Слід зазначити, що якщо на початковій стадії розвитку гіпоксії, на відміну від ішемії, нирковий кровообіг первинно не порушується, то доставка кисню до ниркових каналців знижується. У нелікованих щурів адаптивні механізми клубочкових і каналцевих процесів не запобігали втратам іонів натрію.

В групі щурів з ГГГН після корекції флокаліном транспорт іонів натрію підвищувався – абсолютна реабсорбція іонів натрію зростала відповідно до динаміки змін ШКФ і фільтраційної фракції іонів натрію. Встановлені позитивні кореляційні зв'язки між ШКФ і абсолютною реабсорбцією іонів натрію, між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію слугували на користь судження про захисні впливи флокаліну за умов ГГГН.

При первинному пошкодженні гіпоксією каналцевого відділу нефрону, внаслідок роз'єднання процесів окиснення і фосфорилювання зменшувалось утворення АТФ, виникали якісні зміни натрієвого обміну за рахунок значного зниження дистальної реабсорбції. Реабсорбція іонів натрію в дистальному відділі нефрону здійснюється проти значного електролітного градієнту і є найбільш енергозалежним каналцевим процесом. За умов тканинної гіпоксії істотний енергодефіцит призводив до гальмування дистального транспорту, що спричинило підвищення концентрації іонів натрію в сечі, збільшення натрійурезу та екскреторної фракції іонів натрію.

Введення флокаліну при ГГГН сприяло відновленню контрольного рівня дистальної реабсорбції іонів натрію та збільшенню його проксимального транспорту і у порівнянні з контрольними, і з нелікованими щурами. Так, концентрація іонів натрію в сечі, концентраційний індекс та екскреція іонів натрію вірогідно не відрізнялись від значень контролю. Таким чином, можна вважати, що відновлювались функціональні транспортні можливості каналцевого епітелію.

В нефроцитах каналців нирок, як у всіх особливо чутливих до гіпоксії клітин, є велика кількість мітохондрій. Фармакологічна підтримка природної



реакції  $K_{ATP}$  каналів на гіпоксію запобігала підвищенню цитоплазматичної концентрації іонів кальцію, що при пошкоджувальних впливах є основною ланкою втрати здатності мітохондрій до продукції АТФ. Відомо, що одним з багатьох механізмів кардіопротективної дії флокаліну є пригнічення кальційіндукованого відкривання мітохондріальної пори в серці щурів [133, 166]. Індукуючи, таким чином, помірне набухання мітохондрій, флокалін відтворює власний захист мітохондрій, спрямований на збереження структури і функції їх міжмембранного простору [169, 170, 525]. Покращення енергопродукційної системи клітин прямо відображалось на енергетичному забезпеченні процесів, у тому ж числі і в тубулярному відділі нефрону. Проксимальні канальці після дії прогіпоксичних чинників також зазнали ушкодження, на що вказували підвищені показники концентраційного індексу і кліренсу іонів натрію. Найбільш чутлива до гіпоксії зовнішня частина мозкової речовини і S3-сегменти проксимальних канальців цієї області [36]. Перевага пасивного транспорту при виникненні гіпоксичного ураження канальців спричинила підвищення абсолютної реабсорбції іонів натрію, що було пов'язано з розвитком прихованого ушкодження канальців при ГГГН. Після введення флокаліну енергозалежна реабсорбція іонів натрію в проксимальному відділі нефрону зростала в більшій мірі завдяки реалізації відновленого механізму клубочкового-канальцевого балансу, що є одним із ключових механізмів ренопротективної дії флокаліну.

На початковій стадії ГГГН зростала концентрація іонів калію в плазмі крові. Концентрація іонів калію в сечі та калійурез підвищувались. Після введення флокаліну показники калієвого балансу були також вищими за контроль. Не виключено, що у нелікованих щурів і в групі корекції флокаліном спрацьовували подвійні механізми захисту. Природна і фармакологічна індукція відкриття  $K_{ATP}$  каналів клітин призводила до збільшення іонів калію в плазмі крові і в обох випадках зберігалась ниркова секреція катіону, спрямована на корекцію гіперкаліємії. В той же час, саме

після разового введення флокаліну спостерігалось зниження вмісту іонів калію в плазмі крові, порівняно з нелікованими щурами.

За умов розвитку ГГН змінювалась кислотно-лужна рівновага, що підтверджувалось підвищеним значенням рН сечі. Залужнення сечі, можливо, свідчило про реакцію нирок на компенсаторний газовий алкалоз, що виник у відповідь на метаболічний ацидоз, спровокований прогіпоксичними чинниками. Зниження практично до значень контролю показника рН сечі демонструвало активацію кислоторегулювальної функції нирок у відповідь на введення флокаліну.

Співставлення показників між групами корекції показало, що, на відміну від дії флокаліну, після введення дилтіазему ацидогенез домінував над амоніогенезом, і значення рН сечі було нижче за контроль. В інших позиціях оцінки кислоторегулювальної функції нирок, отримані після введення БКК величини мали аналогічну впливам флокаліну тенденцію змін. Відсутність у серії експериментів з БКК вірогідних відмінностей з контрольними даними підтверджувала існуючі наукові відомості про нефропротекторні можливості дилтіазему [53].

Пригнічення гіпоксичних ниркових дисфункцій прямо залежить від раннього застосування лікарських засобів, які володіють безпосередніми і опосередкованими захисними впливами на нирки. Аналіз функціонального стану нирок після разового введення флокаліну показав, що відкриття  $K_{ATP}$  каналів активує енергозалежні процеси в нирках, які зазнали пошкодження при гострому гістогемічному ураженні нирок. Особливе місце в механізмах розвитку, як і в формуванні постгіпоксичної клінічної картини організму в цілому, належить ниркам. Враховуючи взаємозалежність електролітних порушень від стану адаптивних реакцій у постгіпоксичному періоді структурно-функціональних змін, важливе значення мав аналіз функцій нирок і порівняльна оцінка ефектів флокаліну після семиденного курсу лікування на початковій стадії розвитку гострої ГГН.

Після семиразового введення модуляторів іонних каналів на початковій стадії розвитку ГГГН в обох групах щурів мала місце активація кислоторегулювальної функції нирок на тлі нерівнозначних показників іонорегуляції та протеїнурії.

Привертала увагу знижена динаміка ШКФ після курсового застосування модуляторів іонних каналів. Вже було зазначено, що ступінь зниження ШКФ є маркером ренальної патології та ризику ускладнень ХХН та оцінювальною мірою кількості функціонуючих нефроцитів. Але тенденцію до зменшення ШКФ, більш виражену після введення флокаліну, не варто вважати фактом зниження функціональної здатності нирок. На початковій стадії розвитку гострого гіпоксичного ураження нирок стан фільтраційних процесів підтримувався ФНР [180]. За умов пошкоджувальних впливів гіпоксії активується РААС [19, 140, 277], відповідно підвищувався поєднаний з ШКФ внутрішньогломерулярний тиск. Гіперфільтрація внаслідок активації РААС зумовлена вазоконстрикторним впливом Анг II на аферентні артеріоли. Однак, тривало існуюча гіперфільтрація, як в перший день формування ГГГН, призвела б до виснаження резервних можливостей нирок – ФНР, розвитку структурних змін судин і самих нефронів. Крім того, Анг II є колагеностимулювальним фактором, що може призвести до інтерстиційного фіброзу як безпосередньо, так і через стимуляцію синтезу TGF- $\beta$  [188]. За умов патології і високого фільтраційного завантаження нефрону не виключена можливість таким чином пошкодження каналців нефрону. Загальним компонентом фармакодинаміки флокаліну і дилітазему є розслаблення гладком'язових клітин судин і вазодилатація [416]. Можливо, зменшення впливів Анг II у пролікованих щурів призвело до зниження системного АТ, тому пригнічувались і механізми клубочкової гіперфільтрації, і гіпертензії. Між тим, усунення системної гіпертензії не завжди нормалізує внутрішньогломерулярний гідростатичний тиск та зменшення пошкодження клубочків. Однак, під впливом модуляторів іонних каналів не пригнічувалась екскреторна функція нирок, а також зменшувалась двохгодинна протеїнурія.

Свідченням про переважний захисний вплив флокаліну на гломерулярні процеси слугував знижений перерахований на 100 мкл КФ показник протеїнурії під впливом АКК, а також негативний кореляційний зв'язок між ШКФ і стандартизованою за КФ екскрецією білка. Швидше за все, гломерулопротективний механізм приймав безпосередню участь в антипротеїнуричному ефекті флокаліну. В той же час, дилтіазем не змінював цей важливий показник оцінки гломерулярних процесів і функціонального стану нирок у щурів з ГГН.

Підвищення тонуру РААС внаслідок дії прогіпоксичних чинників також було пов'язане з розвитком метаболічного ацидозу за умов гіпоксії [19, 36]. Модулятори іонних каналів сприяли участі нирок у підтримці кислотно-основного балансу на сьомий день розвитку 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 гіперкаліємія у щурів з ГГН не змінювалась. У теперішній час не існує доказів існування в організмі чітких механізмів гомеостатичної регуляції іонів калію у відповідь на його зміни в плазмі крові чи в тканинних депо. Однак відомо, що концентрація іонів калію в біологічних рідинах змінюється при порушенні ниркових функцій (ниркова недостатність) і зрушенні кислотно-основної рівноваги. Тому причинами гіперкаліємії під впливом дилтіазему слід вважати збереження альдостерозалежної апікальної калієвої провідності при гіпоксичному пошкодженні каналців.

Після семикратного введення флокаліну у щурів з гіпоксичним ураженням нирок зменшувалась гіпернатріємія. Пониження концентрації іонів натрію в плазмі крові могло бути наслідком зменшення активності

альдостерону. В той же час, зниження втрат іонів натрію з сечею забезпечувалось клубочково-канальцевим балансом: мав місце прямий кореляційний зв'язок між ШКФ і проксимальним транспортом іонів натрію і канальцева реабсорбції електроліту здійснювалась в обмін на іони водню. Варто врахувати, що при дії 2,4-динітрофенолу зменшувався вдвічі рівень АТФ у ниркових канальцях [139]. За умов дефіциту АТФ активація  $K_{ATF}$  каналів призводила до відтворення природного збалансування енергетичного метаболізму [170, 388]. Відповідно, збільшувалась інтенсивність головного енергозалежного процесу ниркових канальців – реабсорбції іонів натрію та знижувались втрати цього катіону. На користь покращення стану канальців нефрону під впливом флокаліну свідчив знижений показник екскреторної фракції іонів натрію. Порівняно з ефектом флокаліну, натрійурез після введення дилтіазему зростав.

Динаміка формування структурно-функціональних зрушень нирок визначається станом компенсаторно-пристосувальних реакцій, які залежать від сили і тривалості впливів гіпоксії та часу з моменту дії прогіпоксичних чинників. У формуванні відтермінованих адаптативних реакцій до поліорганичних постгіпоксичних змін також значну роль відіграють  $K_{ATF}$  канали [364, 471]. Тому інтерес становило дослідження ренальних ефектів флокаліну за умов хронізації ГГН.

На стадії хронізації ГГН іонорегулювальна функція характеризувалась зниженням натрійурезу і калійурезу. На постгіпоксичні ренальні ускладнення вказувало зменшення ШКФ, концентраційного індексу ендogenous креатиніну, відносної реабсорбції води. Зберігався активуючий вплив гіпоксії на РААС: крім зниження ШКФ і кліренсу безнатрієвої води, підвищувалась дистальна, стандартизована за КФ, реабсорбція іонів натрію. Пониження вмісту іонів натрію в зменшеному об'ємі гломерулярного фільтрату відображалось на канальцевому завантаженні та транспорті цього електроліту. Фракції іонів натрію, що екскретуються та реабсорбуються зменшувались, знижувалась реабсорбція іонів натрію в проксимальному відділі нефрону.

Можна було б охарактеризувати ниркові процеси, як збалансовану роботу клубочків і каналців. Однак, збільшення екскреції білка свідчило про прогресування ГГН. Унаслідок інактивації гемоглобіну нітритом натрію та цитотоксичного впливу 2,4-динітрофенолу фільтраційні процеси у віддаленому постгіпоксичному періоді не відновлювались. Можливо, що частина нефроцитів була вже втрачена. Гіпоксичні пошкодження гломерулярних структур спричинили збільшення проникнення білка в просвіт каналців. Зниження ШКФ було віддзеркаленням погіршення ниркового кровообігу внаслідок активації РААС, що, як і можливе виключення частки нефронів із процесу сечоутворення, призводило до зниження діурезу.

Активация  $K_{ATF}$  каналів протягом семи днів на тлі хронізації ГГН призвела до системної вазодилатації, релаксації аферентної артеріоли, збільшення кровопостачання клубочків, підвищення ультрафільтрації. Підвищення ШКФ відображало позитивний вплив флокаліну на стан ауторегуляції ниркового кровотоку, від якого залежать як клубочкові, так і каналцеві процеси. Мав місце непрямий кореляційний зв'язок ШКФ з стандартизованою за 100 мкл КФ протеїнурією та прямий кореляційний зв'язок ШКФ з проксимальною реабсорбцією іонів натрію і з екскрецією креатиніну. Отже, за рахунок зростання ШКФ покращувались тубулярні процеси, а також підвищувалась екскреторна функція нирок: зменшувалась концентрація креатиніну в плазмі крові у щурів з ГГН і збільшувався концентраційний індекс ендogenous креатиніну. Слід зазначити, що така динаміка обох показників має важливе клініко-діагностичне значення для оцінки ефективності терапії.

Співставлення ефектів флокаліну з показниками функції нирок після введення дилтіазему показало, що за умов хронізації ГГН препарат дилтіазем у меншій мірі впливав на прогресування патології. До позитивних ефектів БКК можна віднести подібні до дії флокаліну зміни кислоторегулювальної функції нирок, спрямовані на усунення наслідків гіпоксичного гіперхлоремічного метаболічного ацидозу. Незважаючи на притаманну

вазодилатуючу дію, дилтіазем і флокалін, швидше за все, різняться за інтенсивністю впливу на системи нейрогуморальної регуляції кардіовазоренальних взаємозв'язків. Слід ще раз зауважити, що серед БКК саме недигідропіридинові похідні вважаються більш ефективною групою регуляції внутрішньогломерулярних механізмів. Однак, у цій серії експериментів під впливом дилтіазему зменшувалась ШКФ, зростала ретенційна азотемія, збільшувалась протеїнурія. Відмінності нефротропної дії були, можливо, пов'язані з наслідками збереженого підвищеного тону РААС при хронізації ГГН, що підтверджувало наукову інформацію про відсутність позитивних впливів дилтіазему на кровопостачання нирок [314].

Порівняно з дією дилтіазему, для флокаліну був притаманний антипротеїнуричний ефект. Під впливом флокаліну зміни фільтраційного заряду іонів натрію відповідали динаміці ШКФ: фільтраційна фракція іонів натрію зростала. Підвищення відносної реабсорбції іонів натрію і зменшення стандартизованого за КФ натрійурезу також свідчило про збалансування клубочково-канальцевих процесів і підтверджувало тубулопротективні властивості флокаліну. Внаслідок гальмування реакцій РААС після активації  $K_{ATP}$  каналів знижувався натрійзатримувальний ефект альдостерону. Стандартизований за КФ показник дистальної реабсорбції іонів натрію зменшувався. Здатність  $K_{ATP}$  каналів підтримувати енергетичний баланс пошкоджених гіпоксією клітин відображали зміни енергозалежного процесу транспорту іонів натрію в проксимальному відділі нефрону. Проксимальна реабсорбція іонів натрію збільшувалась, що разом з антипротеїнуричним ефектом підтверджувало ренопротективні властивості флокаліну.

Після багаторазового введення активатора  $K_{ATP}$  каналів на стадії хронізації ГГН зменшувалась концентрація іонів калію в сечі та калійурез. Калійзберігаючу реакцію не варто пов'язувати лише зі зниженням альдостеронових впливів. Зважаючи на підвищений коефіцієнт концентрації  $Na^+/K^+$  в сечі, можна припустити, що відновлення енергозалежних канальцевих процесів відображалось збалансуванням реабсорбції та секреції

іонів натрію та зменшенням втрат іонів калію за умов ГГГН. У порівнянні з ефектами флокаліну після введення дилтіазему зростав калійурез, збільшувався стандартизований за КФ показник екскреції іонів натрію. Аналіз змін дистального транспорту іонів натрію показав, що підтримка натрієвого балансу під впливом дилтіазему здійснюється за рахунок активації альдостеронозалежних впливів, що, як було зазначено вище, відображається відсутністю позитивної реакції клубочкового сектору нефрону та підвищеною калійуретичною реакцією. Порівняно з флокаліном, дилтіазем не змінював знижений рівень проксимальної реабсорбції іонів натрію. За умов розвитку гіпоксичної нефропатії дилтіазем, як і всі БКК, протидіє звуженню судин, однак, порівняно з флокаліном, не викликав цитопротективної дії, швидше за все, в зв'язку з недостатнім усуненням енергодефіциту проксимальних каналців.

Зміни функціонального стану нирок, які були виявлені на стадіях розвитку експериментальних нефропатій, перш за все – на новій моделі ГГГН, підтвердили фундаментальні наукові уявлення про універсальність пошкодження каналців, у першу чергу – проксимального відділу нефрону [37]. Серед механізмів загального дефекту проксимальної реабсорбції виділяють зростання в сечі реабсорбційно здатних речовин. Виявлена нами протеїнурія на всіх стадіях розвитку сулемової та ГГГН, згідно сучасним уявленням про механізм тубулопатій [38, 381], разом з прямим нефротоксичним впливом сулеми та 2,4-динітрофенолу, призводила до пошкодження проксимальних каналців перевантаженням клітин великою кількістю білка. Антипротеїнуричний ефект флокаліну супроводжувався збільшенням реабсорбції іонів натрію в тубулярному, переважно в проксимальному, відділі нефрону. Перенос натрію є базовим транспортним процесом у каналцях, на здійснення якого в нирках витрачається більша кількість енергії. Відтворення флокаліном природних механізмів захисту до гіпоксії та ішемії пригнічувало загальні реакції метаболічної дезадаптації, що відображалось на показниках каналцевих процесів.



Разом з тим, стимуляція альдостероном реабсорбції іонів натрію відбувається і в дистальних, і в проксимальних каналцях. Якщо припустити, що натрійзатримувальний ефект флокаліну реалізовується лише за участі альдостерону в реакціях підтримки системного АТ, внутрішньогломерулярного тиску і захисту КФ під час гіперперфузії та підтримки електролітного балансу, то блокада РААС запобігатиме притаманним флокаліну нирковим реакціям. Для з'ясування ролі РААС в механізмах активатора  $K_{ATF}$  каналів ренальні ефекти флокаліну зіставлялись зі змінами функціонального стану нирок під впливом ІАПФ еналаприлу та після їх комбінованого застосування протягом семи днів. Було встановлено, що на тлі гіпоактивності РААС також проявлявся стимулюючий вплив флокаліну на ШКФ, екскреторну функцію нирок, відносну реабсорбцію води, проксимальний транспорт іонів натрію. За рахунок зменшення дистальної реабсорбції мав місце характерний для зниженої мінералокортикоїдної активності натрійуретичний ефект, однак зберігався нормальний рівень натріємії і каліємії. При цьому були виявлені позитивні кореляційні залежності: між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію, між ШКФ і абсолютною реабсорбцією цього катіону, між ШКФ і екскрецією креатиніну, що свідчило про збалансованість факторів судинних і гуморальних механізмів КФ на тлі дії двох вазоактивних сполук. Збереження гомеостатичних процесів виключало переважну роль РААС в ренальній дії флокаліну та дозволяло припущення про доцільність подальших досліджень поєднаного застосування фторвмісного активатора  $K_{ATF}$  каналів і блокаторів РААС на інших експериментальних моделях. Не виключено, що різниця в локалізації механізмів обох вазодилататорів забезпечить ефективну органопroteкцію.

За умов поєднання з ІАПФ, 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, комбінація препаратів спричинила зниження КФ і екскреції креатиніну. Варто зауважити, що сучасною клінічною медициною накопичено успішний досвід

поєднаного застосування ІАПФ і БКК, а також і фіксованих комбінацій «Тарка» (трандолаприл і верапамілу гідрохлорид, Abbott GmbH, Німеччина), «Гиприл-А» (лізиноприл і амлодипіну бесилат, Micro Labs, Індія), «Екватор» (лізиноприлу дегідрат і амлодипіну безилат, Гедеон Ріхтер, Угорщина) [27, 118]. Однак, переважно це стосується дигідропіридинових БКК і похідних фенілалкіламіну. Не виключено, що на тлі потенціювання вазодилатації, під впливом бензотіазепінового похідного дилтіазему не спрацьовувала блокада контррегуляторних механізмів зниження внутрішньогломерулярного тиску, що і відображалось зниженням ШКФ. Слід зауважити, що на 7 день поєднаного застосування БКК і ІАПФ також було встановлено кореляційні зв'язки, які позитивно характеризують функціональний стан нирок: між ШКФ і проксимальною реабсорбцією іонів натрію, між ШКФ і абсолютною реабсорбцією цього катіону, між ШКФ і екскрецією креатиніну. Однак, зниження ШКФ при комбінації БКК і ІАПФ заслуговує на увагу, особливо в контексті притаманних побічних ІАПФ ефектів – можливого розвитку ниркової недостатності.

Беззаперечним фактом є те, що «зменшення кількості реабсорбованого натрію нирками в цілому та функціонуючими нефронами поєднуються з порушенням окислювального фосфорилування в мітохондріях кіркової речовини нирок і зменшення кількості фосфору АТФ у них» [36]. Основним джерелом енергетики в кірковій речовині є окислювальне фосфорилування як джерело АТФ. Переважна кількість енергії в ниркових каналцях витрачається на роботу іонних насосів для переносу іонів натрію, при цьому більша частина – на забезпечення функції натрієвого насосу –  $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -АТФази. Враховуючи провідну роль порушення енергетичного обміну в патогенетичних механізмах ренальної дисфункції, ми вважали за доцільне дослідити стан енергетичного метаболізму тканин нирок після введення флокаліну та співставити з результатами впливу дилтіазему.

Біохімічний стан за умов сулемової нефропатії і ГГГН характеризувався зниженням активності лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази в тканинах

нирок як на початкових стадіях розвитку нефропатій, так і при хронізації процесу. Аналогічні зміни показників енергетики пошкодженої нирки були отримані іншими дослідниками на моделях токсичних і гіпоксичних нефропатій [13, 36, 51]. Лужна фосфатаза, фермент з групи гідролаз, що здійснює дефосфорилювання (відщеплення фосфату,  $\text{PO}_4^{3-}$ ), належить до більш поширених і універсальних ферментів організму. Серед п'яти тканинноспецифічних ізоферментів лужної фосфатази сучасна клінічна біохімія виділяє і нирковий (RALP-Renal Alkaline phosphatase) фермент. Значна кількість лужної фосфатази міститься в щітковій облямівці проксимальних каналців сегменту S1 і S2. Специфічною складовою енергетичного метаболізму клітин є сукцинатдегідрогеназа, фермент класу оксидоредуктаз, який слугує маркером стану мітохондрій у зв'язку з локалізацією на внутрішній мембрані мітохондрій.

У наших дослідженнях на моделях розвитку сулемової нефропатії та ГГН зниження активності лужної фосфатази в кірковому шарі нирок, а також зменшення активності сукцинатдегідрогенази в кірковій та мозковій речовині нирок свідчили про пошкодження клітин епітелію проксимального відділу нефрону. Слід зауважити, що отримані нами дані співпадали з іншими результатами з визначення механізмів патогенезу нефропатій, спричинених важкими металами, прогіпоксичними та іншими чинниками, які супроводжувались функціонально-біохімічними і морфологічними змінами проксимального відділу нефрону [13, 19, 36, 135, 144, 149].

Після введення флокаліну активність ферментів лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази в кірковій речовині нирок збільшувалась незалежно від стадії та етіології нефропатій. Слід зазначити, що активація лужної фосфатази є свідченням покращення стану ниркового епітелію, пошкодження якого відіграє суттєву роль у продукції профіброгенних цитокінів [231]. Під впливом дилтіазему активність лужної фосфатази зростала лише в перший день формування та при хронізації сулемової нефропатії. Відсутність позитивної динаміки змін лужної фосфатази після введення БКК за умов

розвитку ГГГН свідчило про збереження наслідків патогенних впливів гіпоксії: енергодефіциту, накопичення продуктів перекисного окиснення ліпідів, окисної модифікації білків [338]. Особливістю дії дилтіазему також було підвищення активності сукцинатдегідрогенази в мозковому шарі після разового введення препарату через дві години після моделювання сулемової нефропатії та на стадії хронізації ГГГН. Порівняльний аналіз впливу модуляторів іонних каналів через призму реабсорбції і втрат іонів натрію, протеїнурії та показників механізмів енергозабезпечення ренальних процесів дозволяє зробити висновок про переважну протекторну дію флокаліну на реакції ушкодження проксимальних відділів нефрону за умов розвитку сулемової та ГГГН.

Захисний вплив флокаліну на енергетичне забезпечення ниркових процесів можна було б передбачити завдяки існуючим уявленням про властивий  $K_{ATP}$  каналам ендогенний механізм збереження енергоресурсів клітин, зокрема АТФ при ішемії та гіпоксії [393]. Крім того, існують наукові відомості про біохімічні зміни в різних зонах серця за умов ішемії-реперфузії, які дали змогу ідентифікувати декілька можливих механізмів флокаліну [132, 170, 481]. Вони полягають в інгібуванні окисного метаболізму, надлишкового індукційного і реутилізаційного синтезу оксиду азоту і утворення пероксинітриту, вільної арахідонової кислоти та ейкозаноїдів (PG,  $TxB_2$ , лейкотрієнів), деградації основних джерел енергії АТФ і ГТФ. До кардіопротекторних механізмів автори цих повідомлень відносять і виявлену стимуляцію гемоксигеназної реакції, спрямованої на фізіологічну активність гемопротеїнів, а також пригнічення деградації L-аргініну аргіназою і утворення сечовини. Варто зауважити, що синдром гіперметаболізму є універсальним ланцюгом патогенезу. Складовою поліорганної дисфункції є кардіоренальний континуум, що дає право пов'язати між собою (чи екстраполювати) зміни метаболізму в міокарді з механізмами ренопротекції, які виникають при відкриванні  $K_{ATP}$  каналів сарколемальної та мітохондріальної мембран. Разом з тим, виявлення в наших дослідженнях

покращення енергетичного стану нирок за умов дії потужних цитотоксикантів значно доповнює спектр метаболічних ефектів флокаліну. Іони ртуті, звільняючись від низькомолекулярного альбуміну, блокують SH-групи ферментів у тому числі і сукцинатдегідрогенази та  $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATФази}$  в проксимальних каналцях [37]. За умов впливу гіпоксичних чинників зниження вмісту в крові сульфгідрильних груп також є характерною метаболічною ознакою та діагностичним критерієм гострої гіпоксії [19]. Як відомо, SH-сполуки, до яких відноситься глутатіон, цистеїн, метіонін, відіграють провідну роль у захисті клітин від гідроксильного радикалу [13]. Посилення активності сукцинатдегідрогенази в кірковій речовині нирок і активація енергозалежного транспорту іонів натрію дають можливість припустити ефективність флокаліну у випадках, які потребують призначення донаторів сульфгідрильних груп (інтоксикація важкими металами чи препаратами їх солей, знижена чутливість до нітрогліцерину), а також в інших клінічних ситуаціях, які потребують покращення антирадикального захисту клітин. Варто зазначити, іншими науковцями було встановлено, що відкриття  $\text{K}_{\text{ATФ}}$  каналів захищало клітини від пошкодження іонами кобальту [337].

Завдяки зменшенню входу іонів кальцію в мітохондрії, БКК також попереджають незворотну ферментативну деструкцію мітохондріальних мембран вільними іонами кальцію за умов впливу патологічних чинників. Однак, на тлі підвищення активності сукцинатдегідрогенази після введення дилтіазему в перший день розвитку сулемової нефропатії стандартизована за КФ проксимальна реабсорбція іонів натрію зменшувалась. Переважна кількість проксимальних каналців знаходиться в кірковому шарі нирок, де не змінювався показник енергетики, і тому нирки втрачали іони натрію. Збільшення активності сукцинатдегідрогенази в кірковій речовині після введення дилтіазему на стадії хронізації сулемової нефропатії не супроводжувалось якісними функціональними змінами. При цьому зростали стандартизовані за КФ показники проксимальної реабсорбції іонів натрію та протеїнурії. Отже, після застосування дилтіазему, навіть на тлі покращення

кровопостачання за рахунок вазодилатації, не вистачало енергії для пригнічення тубулярної дисфункції.

Отримані дані про позитивний вплив флокаліну на енергетичний баланс співпадають як з нашими даними про відновлення функціональних можливостей нефронів, так і з результатами інших науковців стосовно енергетичного статусу міокарду та головного мозку після введення фторвмісних АКК. Так, експериментальним шляхом було встановлено, що під впливом фторвмісного аналогу діазоксиду в міокарді відбувалось посилення синтезу АТФ [172], після введення флокаліну зменшувалась деградація АТФ в міокарді [481]. Курсове застосування флокаліну щурам з гострим порушенням мозкового кровообігу, аналогічно ефектам мексидолу, супроводжувалось нормалізацією показників біоенергетичних процесів в ішемізованому мозку [47]. Враховуючи вплив на енергетику нирок, які є метаболічними мішенями гіпоксії, а також встановлену здатність істотно попереджувати деструкцію мітохондрій [166], можна вважати флокалін потенційним засобом корекції енергетичного апарату при функціонально-метаболічних порушеннях.

За сучасними уявленнями, патогенетичним підґрунтям нефрологічної патології є накопичення в мезангії та інтерстиціальній тканині нирок компонентів екстрацелюлярного матриксу – колагенів I, III, IV типів, фібронектину, ламініну, протеогліканів, які формують гломерулосклероз, інтерстиційний фіброз, редукцію функціонуючої ниркової маси [384]. Також розвиток і прогресування нефропатій індукується внутрішньосудинною коагуляцією з відкладанням фібрину в судинах нирок і послідовній заміні ділянками гіалінозу та склерозу. Зміни стану протеолізу/фібринолізу та протеазно-інгібіторних систем розглядають як патофізіологічне підґрунтя хвороб нирок і як мішень нефропротективної стратегії.

В зв'язку з цим, наступним етапом роботи було дослідження впливу модуляторів іонних каналів на величини необмеженого (тотального) протеолізу та фібринолітичної активності плазми крові, сечі, кіркової,

мозкової речовини та сосочку нирок за умов розвитку експериментальних нефропатій.

Оцінка показників протеолізу в перший день після введення сулеми показала зростання лізису азоколагену в кірковій, мозковій речовині та в сосочку нирок. На сьомий день розвитку сулемової нефропатії збільшувався лізис азоколагену в сечі, зберігався підвищений лізис азоколагену в кірковому та мозковому шарі. Підтверджував структурні зміни нефроцитів підвищений лізис високомолекулярного білка азоказеїну в крові, сечі, кірковій речовині в перший день розвитку, а також і аналогічна динаміка показника в усіх шарах нирок через тиждень після токсичного ураження. Активація лізису альбуміну в плазмі крові, сечі, кірковій речовині на першу добу, а також в сечі та сосочку нирок за умов прогресування гострого ураження нирок засвідчувала незбалансований лізосомальний розпад ферментів, деструкцію нефроцитів і залучення в патологічний процес сосочку нирок. Отримані нами дані співпадають з результатами інших досліджень, які демонструють активацію протеїназ і їх участь в утворенні, модифікації та інактивації ферментів при гострих патологічних станах [19]. На стадії хронізації сулемової нефропатії лізис азоальбуміну та азоказеїну знижувався на всіх гістологічних рівнях, а колагеназна активність зменшувалась у сосочку нирок. Зниження протеолізу на стадії хронізації патології проксимального відділу нефрону індукує взаємопов'язане збільшення профіброгенних факторів – ангіотензину II, альдостерону та TGF- $\beta$  [210, 242]. Пониження інтенсивності колагенозу прискорює фіброзування тканин у відповідь на хронічне запалення.

Після застосування флокаліну за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії динамічні зміни протеолізу наближували значення показників до рівня контролю, за винятком лізису азоказеїну сечі в день моделювання патології. Захисний вплив активатора  $K_{ATP}$  каналів був пов'язаний з вазодилатацією і покращенням кровопостачання нирок. Відомо, що відновлення медикаментозними засобами кровообігу чи конструктивна реваскуляризація зменшують показники протеолізу. Механізмами флокаліну,

як і інших коректорів протеолізу, можуть бути здатність інгібувати перекисне окиснення ліпідів, зменшувати надмірний рівень NO в тканинах, збільшувати антиоксидантну активність супероксиддисмутази [169, 170], 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. На стадії хронізації сулемової нефропатії під впливом флокаліну активується знижена протеолітична активність низькомолекулярних білків і понижується розпад колагену, що призводить до зменшення ступеня інтерстиційного фіброзу, індукованого гіпоксією клітин [307], а також до збільшення функціональних можливостей проксимальних каналців щодо реабсорбції іонів натрію та білка.

Після введення дилтіазему щурам з сулемовим ураженням нирок позитивна динаміка показників лізису низькомолекулярних білків була статистично значуща лише в плазмі крові та в сечі на перший день моделювання токсичної патології, а також у сечі та кірковій речовині нирок при хронізації процесу. Підвищення протеолізу після введення БКК також констатували інші дослідники [20]. У той же час лізис високомолекулярних білків під впливом дилтіазему за умов хронізації сулемової нефропатії лишався нижчим за контроль, а в кірковому та мозковому шарі був значно меншим, ніж після введення флокаліну. В даній ситуації різке зниження колагеназної активності можна розглядати як процес, спрямований на збереження колагену, який є частиною базової структури фільтрів нирок: молекули колагену, з'єднуючись між собою, формують більшу частину гломерулярної базальної мембрани. В той же час суттєве зниження лізису колагену може індукувати ренальний фіброз. Відомо, що виявлення до проявів альбумінурії колагену IV в сечі має прогностичне значення і корелює зі стадією хвороби [109].

Стан фібринолізу за умов розвитку сулемової нефропатії характеризувався зниженням сумарної фібринолітичної активності. Ключову



роль у регуляції процесів внутрішньосудинної коагуляції і накопичення екстрацелюлярного матриксу в патогенезі нефропатії через розщеплення фібрину та протеоліз матриксних білків відіграє фібринолітична система нирки, функціонування якої визначається співвідношенням активності активаторів плазміногену та їх інгібіторів, зокрема інгібітора активатора плазміногену І. Після застосування флокаліну фібринолітична активність зростала, за винятком показників у кірковій речовині після семиденного введення активатора  $K_{ATF}$  каналів на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії. Але і в цьому випадку відновлювався фібриноліз сосочку нирок за рахунок зростання ферментативної складової, що свідчить про покращення реологічних властивостей крові та мікроциркуляції в мозковій речовині нирок.

Враховуючи участь іонів кальцію в реології крові, спільні кальцій-модуючі механізми спричинили підвищену динаміку фібринолітичної активності під впливом дилтіазему в першій день формування і при хронізації сулемової нефропатії. В той же час відсутність змін в кірковій та мозковій речовині нирок після семиденного введення препарату за умов початкової стадії розвитку сулемової нефропатії вказувала на пригнічену активність ферменту урокінази, яка синтезується в епітелії каналців, є активатором плазміногену і при взаємодії з ним перетворює на плазмін [511].

Розвиток гіпоксичної нефропатії супроводжувався підвищенням показників, які характеризують протеолітичну активність плазми крові, сечі, та тканин нирок на сьому добу початкової стадії розвитку і на стадії хронізації ГГГН. Надмірна активація протеолізу, що спричинена еміграцією в уражені тканини та екзоцитозом нейтрофільних гранулоцитів з подальшим вивільненням неспецифічних протеїназ, пошкодженням, у тому ж числі і вільнорадикальним, лізосомальних мембран клітин відіграє як адаптивну, так і деструктивну роль. Руйнівні ефекти протеолітичних ферментів спрямовані, перш за все, на сполучнотканинні компоненти строми, гістогемічні бар'єри, білкові та глікопротеїдні складові клітинних мембран. Активація

неспецифічних протеїназ на тлі зниження рівня їх інгібіторів, індукує плазмові регуляторні системи (калікреїн-кінінової системи, систем комплементу, зсідання крові та фібринолізу) з наступним накопиченням медіаторів, вазоактивні та тромбогенні ефекти яких відіграють ключову роль у порушенні мікроциркуляції та посиленні гіпоксичного пошкодження тканин нирок. Після застосування флокаліну та дилтіазему мало місце пригнічення протеолізу. Слід зауважити, що захисний вплив модуляторів іонних каналів проявлявся по відношенню до всіх підвищених за умов гострого періоду ГГГН показників лізису та деструктуризації білків. Подібна динаміка протеолізу має місце і за фізіологічних умов і відіграє важливу роль у регуляції внутрішньоклітинного метаболізму, тобто протеолітична модифікація ферментів модулює їх активність, змінює конфігурацію та специфіку участі в утворенні біологічно активних сполук.

Виявлене зниження фібринолітичної активності в плазмі крові, сечі, мозковій речовині нирок на сьому добу розвитку ГГГН можна пояснити пошкодженням проксимального відділу нефрону зі зниженням продукції урокінази, яка в нормі забезпечує достатню активність системи фібринолізу. Зниження констрикторних судинних реакцій під впливом флокаліну призводить до покращення кровообігу нирок, зменшення ішемії в кірковій речовині, збільшення виділення урокінази в юктагломерулярному апараті [287], проксимальних каналцях, активації сумарного фібринолізу сечі та мозкової речовини за рахунок ферментативної активності. Слід зауважити, що активація лужної фосфатази та ферментативного фібринолізу свідчить про покращення стану епітелію каналців під впливом флокаліну, що є важливою прогностичною ознакою для гомеостатичної діяльності нирок [327, 475]. Флокалін спричинив підвищення неферментативного фібринолізу, який зумовлений комплексними сполуками гепарину з тромбогенними білками, біогенними амінами, гормонами, які здійснюють конформаційні зміни в молекулі фібрину-S. Для дії флокаліну притаманно зменшення утворення окиснених метаболітів арахідонової кислоти, в тому ж числі і  $\text{TxV}_2$ , не тільки

через пригнічення ліпокси- та циклооксигеназного шляхів її метаболізму, а також внаслідок зменшення пулів самої кислоти [59]. На думку цих дослідників ефектів флокаліну, зменшення вмісту вільної арахідонової кислоти при активації  $K_{ATP}$  каналів, можливо, відбувається завдяки інгібуванню L-типу кальцієвих каналів цитоплазматичної мембрани, що супроводжується зниженням концентрації вільного кальцію в цитоплазмі та пригніченням активності кальцій-залежних ферментів, зокрема фосфоліпази  $A_2$ . Саме цими ж авторами була описана властивість флокаліну інгібувати високопорогові кальцієві канали. В свою чергу, покращення фібринолітичної активності впливає на реологічні властивості крові, відновлює судинне русло при внутрішньосудинному згортанні крові та перешкоджатиме розвитку уротромбозу в просвіті каналців нефрону, який значно погіршує перебіг нефрологічних захворювань.

Для дії дилтіазему було притаманно зниження ферментативної фібринолітичної активності в мозковій речовині. Після семиденного введення БКК у мозковому шарі знижувалась ферментативна і неферментативна фібринолітична активність.

На стадії хронізації ГГН також підвищувалась протеолітична активність плазми крові, сечі, кіркової, мозкової речовини, що могло бути наслідком руйнування пошкоджених гіпоксією тканин і провідним фактором ушкодження нефроцитів. Активація лізису азоколагену була зумовлена розвитком ацидозу з лабілізацією ферментів лізосом, таких як колагеназа. Погіршення мікроциркуляції, пригнічення антиоксидантного захисту і розвиток фіброзних змін у сосочку нирок відображалось зниженням папілярної протеолітичної активності. Відкриття калієвих каналів покращувало кровопостачання, метаболічні реакції змінювались у відповідності до потреби в кисні, зберігались енергоресурси клітин, відновлювалась активність ферменту антиоксидантної системи супероксиддисмутази [59]. Ймовірно, що наслідком цього є гальмування механізмів формування характерного для прогресування нефропатій

гепаторенального синдрому [19] та, відповідно, стабілізація окремих показників протеолітичної активності під впливом флокаліну. 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 [19, 135], спрямованою на деградацію, в тому ж числі і дефектного, колагену. Лізис азоальбуміну в сосочку нирок не відновлювався, однак підвищений лізис азоказеїну в мозковій речовині засвідчував активацію репаративних процесів.

Особливістю дії дилтіазему на стадії хронізації ГГГН було відновлення протеолітичної активності в кірковій речовині, зниження протеолізу в мозковому шарі та сосочку нирок. Пригнічувальні впливи дилтіазему на протеоліз/фібриноліз могли зумовлюватись недостатнім, порівняно з активатором  $K_{ATP}$  каналів, відновленням енергетичного забезпечення тканин і супроводжувались зменшеною сумарною фібринолітичною активністю в мозковій речовині та в сосочку нирок за рахунок ферментативного фібринолізу.

Ступінь вираженості ренальних дисфункцій, як і результати лікування, залежать від структурної перебудови нирок. Виникнення сулемової та ГГГН нефропатії є складовою синдрому соматогенної фази екзотоксичних впливів та віддзеркалює взаємопов'язане прогресування пошкодження інших органів і систем. У зв'язку з цим, порівняльний морфологічний аналіз після корекції універсальних неспецифічних ланцюгів патогенезу, до яких відноситься порушення проксимального відділу нефрону, має першорядне значення для оцінки ренопротективних механізмів та ролі флокаліну в підтримці внутрішнього середовища організму.

Після разового введення флокаліну та дилтіазему в перший день формування токсичної нефропатії зберігались спричинені сулемою окремі осередки некрозу епітелію каналців і ділянки кальцинатів. На відміну від дії дилтіазему, морфологічну картину змінених флокаліном тканин доповнювали групи новоутворених епітеліоцитів каналців, які вказували на початкові явища регенерації. Значення виявлених змін у відповідь на відкриття  $K_{ATP}$  каналів полягало в тому, що вони свідчили про послаблену реакцію тубулярних клітин на пошкодження SH-груп, відповідали позитивній динаміці біохімічних показників і взаємозалежних клубочково-каналцевих процесів. Відсутність реакції КФ на вазодилатацію під впливом БКК, як і втрати іонів натрію з сечею, являли собою наслідок збереження альтернаційних процесів і порушеної регенераційної здатності епітеліоцитів каналців після разового введення дилтіазему за умов гострої сулемової нефропатії.

Морфологічні дослідження на початковій стадії розвитку сулемової нефропатії після семиденного введення флокаліну засвідчили різке збільшення кровонаповнення капілярів ниркових тканин. На тлі збереження загального питомого об'єму осередків регенерації у вигляді грануляційної тканини в кортикальній речовині (на місцях колишніх компактних ділянок некрозу) та в полях відновлення її епітеліального компоненту, регенерація відбувалась за рахунок паренхіми, а не строми, що вказувало на ефективність корекції АКК. Після введення флокаліну не спостерігалось характерних для сулемової нирки ознак некрозу клітин звивистих каналців і, відповідно, не було білкових циліндрів у просвіті каналців і збірних трубочок. Такий ефект, ймовірно, був пов'язаний з кровопостачанням, поліпшенням обміну кисню, що є дуже важливим для особливо чутливих до гіпоксії тубулярних клітин. Покращення кровопостачання нирок під впливом активатора  $K_{ATP}$  каналів супроводжувалось не тільки антипротеїнуричним ефектом, але також відновленням проксимального транспорту іонів натрію і зменшенням втрат електролітів. Кровопостачання в мікропрепаратах тканин нирок після застосування дилтіазему характеризувалось як звичайне, або місцями дещо

посилене. Ознак некрозу груп клітин каналців не було. Регенерація кіркової речовини нирки відбувалась за рахунок її паренхіми з явищами прискореної регенерації – наявністю ділянок ефективного диференціювання з безкомірчастих полів незрілих світлих клітин у звивисті каналці. Структурна перебудова нирок під впливом дилтіазему в кортикальному шарі, де знаходиться переважна кількість проксимальних каналців відображалась зменшенням екскреції білка з сечею. Разом з тим, ступінь репаративної регенерації, як і енергетичного метаболізму був недостатнім для відновлення гомеостатичних процесів і механізмів їх взаємозв'язків у нефроні, на що вказувало збільшення екскреторної фракції іонів натрію та зниження екскреторної функції нирок під впливом семиразового введення дилтіазему.

Динаміка морфологічних змін на стадії хронізації токсичної нефропатії свідчила про покращення структурного стану кіркової речовини нирок після семиденного застосування модуляторів іонних каналів. Разом з тим, порівняльний аналіз мікропрепаратів вказував на переважну ефективність корекції флокаліном. Після активації  $K_{ATP}$  каналів не спостерігалось вапнування осередків некротизованих раніше груп епітеліоцитів каналців без вираженої реакції строми, тоді як після введення дилтіазему ознаки ураження такого типу зрідка зустрічались. На місцях загиблих епітеліоцитів під впливом флокаліну розросталася грануляційна тканина без кальцинозу, тобто мав місце більш сприятливий варіант регенерації ніж вапнування ділянок некрозу. Після введення дилтіазему зберігалось в юкстамедулярній зоні максимальне відкладання нерозчинних солей кальцію в некротизованих осередках з вираженою реакцією строми у вигляді формування грануляційної тканини різного ступеня зрілості. Крім того, під впливом АКК і БКК поширеність оборотного набухання епітелію ниркових каналців, які вижили, зменшувалась на 20% і на 10%, відповідно. Вказані відмінності структурних змін, перш за все, відображались різницею антипротеїнуричної здатності модуляторів іонних каналів з переважним впливом флокаліну. Внаслідок кальцинозу юктагломерулярної зони, на тлі введення дилтіазему зберігались

патогенетичні впливи РААС, що проявлялось зниженням ШКФ, підвищенням стандартизованого за КФ показника протеїнурії. Збереження більшої кількості, порівняно з дією флокаліну, гідратованих клітин каналців відображалось зменшенням проксимальної натрієвої реабсорбції та підвищенням калійурезом після введення БКК.

Для структурних змін нирок після разового введення модуляторів іонних каналів у перший день моделювання ГГГН було характерно зменшення кількості клубочків з ознаками інтеркапілярного набряку. Порівняльний аналіз динаміки деструктивних процесів у гломерулярному відділі нефрону показав суттєвіший вплив флокаліну, що підтверджувалось кількісними відмінностями. Разом з тим, після разового введення активатора  $K_{ATP}$  каналів не змінювався морфологічний стан епітелію каналців, де мали місце притаманні для ГГГН ознаки важкого і легкого ступеня оборотного набухання клітин. У той же час, під впливом дилтіазему зменшувався відсоток уражених епітеліоцитів і спостерігались лише явища гідропічного набухання без утворення прозорих вакуолей, що відображалось збереженням натрієвого балансу. Покращення морфологічного стану клубочкового сектору нефрону домінувало в ренальних ефектах флокаліну і було пов'язано з якісними змінами ниркового кровообігу, фібринолітичної активності та збільшенням ШКФ. Відновлення тубулярних процесів з позитивною динамікою енергозалежного транспорту іонів натрію в проксимальному відділі нефрону відбувалось завдяки підвищенню компенсаторних можливостей клубочково-каналцевих взаємозв'язків.

За умов початкової стадії розвитку ГГГН після семиразового введення флокаліну структурний стан клубочків практично відповідав морфологічній картині гломерулярного відділу інтактних щурів. У каналцевому секторі нефрону під впливом активатора  $K_{ATP}$  каналів значно знижувалась кількість епітеліоцитів з явищами оборотного набухання клітин і половина з них мала ознаки легкого ступеня гідропічного набухання без вакуолізації. Суттєвих відмінностей морфологічної картини після курсового застосування дилтіазему

не спостерігалось. Після семиразового введення БКК структурна перебудова гломерулярного і тубулярного відділів нефрону лишалась на рівні змін першого дня корекції. При цьому, на відміну від ефектів флокаліну, зменшення виділення нирками іонів натрію у щурів з ГГГН, як і стандартизованого за КФ показника протеїнурії, не було статистично значущим.

На стадії хронізації ГГГН після семиразового введення обидва модулятори іонних каналів викликали подібні зміни морфологічної картини нирок. На тлі осередків фіброзу строми кіркової речовини нирок і атрофії окремих клубочків нирки, спостерігалось зменшення поширення оборотного набухання на епітеліоцити звивистих каналців, пошкоджених гіпоксією. Патогенетичними ланцюгами інтоксикації нітритом натрію та 2,4-динітрофенолом є збільшення утворення метгемоглобіну і розщеплення процесів окиснення і фосфорилування, що призводило до розвитку ГГГН. Клінічні прояви поліорганної дисфункції залежать від стану органів і тканин з високим рівнем аеробного енергообміну до яких відносяться і нирки. Тому, незважаючи на віддалений період після індукції гіпоксії потужними екзотоксичними чинниками, зберігались розлади ренальних функцій. Варто відзначити значно менший ступінь морфологічних порушень, ніж виявлені нами зміни в тканинах нирок через дві години після введення метгемоглобіноутворювача і цитотоксиканта. Структурний стан нефроцитів стабілізувався паралельно згасанню пошкоджувальних впливів прогіпоксичних чинників завдяки збереженню ниркового кровообігу на тлі гемічної гіпоксії та поступової активації власних механізмів захисту і розвитку толерантності до енергодефіциту. Відсутність специфічних морфологічних ознак виключала цитологічні відмінності після фармакологічної модуляції іонних каналів. Разом із тим, сукупність порушень клубочкових і каналцевих процесів вказувала на хронізацію гіпоксичної нефропатії.



У реалізації ефектів антигіпоксичного захисту організму кінцевими ефекторами є  $K_{ATP}$  канали біологічних мембран і пригнічення реакцій, опосередкованих кальцієвим перевантаженням клітин. Ефекти флокаліну і дилтіазему опосередковуються через зменшення внутрішньоклітинного пулу іонів кальцію, що зумовлює схожість фармакодинамічного спектру та механізмів здійснення багатогранної дії АКК і БКК. Високий рівень внутрішньоклітинних 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 [166, 405], у тому ж числі і нефроцитів. Не виключено, що саме завдяки прямій активації  $K_{ATP}$  каналів мітохондрій флокаліном ініціювались тригерні антигіпоксичні реакції, стабілізувались процеси окислювального фосфорилування, підвищувалась стійкість клітин до гіпоксії за рахунок оптимізації біохімічних процесів. За умов постгіпоксичних функціональних змін нирок флокалін відновлював реакції протеолізу, збільшував ферментативний фібриноліз, що свідчило про пригнічення кальцій-активуючих коагуляційних і тромбоцитарних ланцюгів гомеостазу. Перевагами при цьому є те, що на тлі закономірної вазодилатації і збільшення (чи підтримки) кровообігу нирок, покращуються реологія крові, мікроциркуляція, енергетичний метаболізм, які в сукупності забезпечували переважний захист нефроцитів під впливом флокаліну.

Отже, вивчення ренальних ефектів фторвмісного активатора  $K_{ATP}$  каналів на моделях гострого токсичного і гіпоксичного ураження нирок, а також на стадії хронізації експериментальної нефрологічної патології 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 виникнення

тубулоінтерстицію, стає можливим судження про універсальність ренальної фармакодинаміки флокаліну. Безперечним підґрунтям для цього є виявлена здатність нового АКК, незалежно від кратності введення та 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.

Таким чином, 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 організму з подальшим пошкодженням нефрону і 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  $K_{ATF}$  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 канальців 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 канальцевому 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-канальцевих 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 канальцевої реабсорбції.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Айзман Р.И. Современные представления о механизмах регуляции гомеостаза калия / Р.И. Айзман // Физиология и патология почек и водно-солевого обмена: матер. междунар. науч. конф., посв. 100-летию проф. Н.Н. Прониной (18-21 декабря 2012 г.). – Владикавказ, 2012. – С. 10–18.
2. Альдостерон как маркер дисфункции ренин-ангиотензин-альдостероновой системы и коррекция его уровня у больных с артериальной гипертензией II-III степени и хронической болезнью почек / О.В. Дралова, М.П. Максимов, Е.А. Дербенцева [и др.] // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2011. – Т.74, №4. – С. 14–17.
3. Аналіз структури смертності пацієнтів, які отримують лікування гемодіалізом / І.М. Шіфріс, І.О. Дудар, Ю.І. Гончар [та ін.] // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – №1. – С. 14–21.
4. Аналоги активатора калиевых каналов диазоксида, содержащие дифторметокси- и трифторметокси-группы / Л.М. Ягупольский, И.И. Малетина, К.И. Петко [и др.] // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2008. – Т.6, вип.2. – С. 37–47.
5. Анохіна С.І. Вивчення змін фібринолізу і протеолізу у плазмі крові статевонезрілих самців щурів за звичайних умов утримання та дії системної гіпобаричної гіпоксії / С.І. Анохіна // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.11, №4. – С. 13–15.
6. Антиоксидантная активность фуросемида в условиях экспериментальной ишемии почек / [О.С. Рытикова, В.М. Брюханов, Я.Ф. Зверев, И.Е. Госсен] // Нефрология. – 2015. – Т.19, №2. – С. 87–92.
7. Антиоксиданти в лікуванні хворих на хронічну хворобу нирок II-III стадії / О.М. Лобода, І.О. Дудар, О.М. Мюнталь [та ін.] // Український журнал нефрології та діалізу. – 2012. – №1. – С. 27–31.
8. Арутюнов Г.П. Экспериментальные модели поражения тубулоинтерстициальной ткани почек при артериальной гипертензии / Г.П.

- Арутюнов, А.В. Соколова, Л.Г. Оганезова // Клиническая нефрология. – 2011. – №2. – С.75–78.
9. Арутюнов Г.П. Ирбесартан и нефропротекция: влияние на тубулоинтерстициальную ткань и функцию почки в целом / Г.П. Арутюнов, Л.Г. Оганезова // Фарматека. – 2011. – №10. – С. 33–37.
  10. Арьев А.Л. Факторы риска развития и прогрессирования патологии почек, сердечно-сосудистой и цереброваскулярной систем едины (взгляд гериатра) / А.Л. Арьев, Н.А. Овсянникова, Г.Т. Арьева // Нефрология. – 2011. – Т.15, №1. – С. 76–83.
  11. АТФ-чутливі калієві канали та зміни їх функціональної активності при стрептозоцин-викликаному цукровому діабеті / Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко, С.М. Пивовар. [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2003. – Т.49, №6. – С. 22–31.
  12. Батюшин М.М. Клинические проявления поражения почек при хронической сердечной недостаточности / М.М. Батюшин, Н.С. Врублевская // Нефрология. – 2010. – Т.14, №4. – С. 27–30.
  13. Белявський В.В. Механізм розвитку псевдогепаторенального синдрому при роз'єднанні окиснення і фосфорилювання: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.04 „Патологічна фізіологія” / В.В. Белявський. – Чернівці, 2014. – 20 с.
  14. Белявський В.В. Стан клубочково-канальцевого та канальцево-канальцевого балансу за умов введення 2,4-динітрофенолу / В.В. Белявський // Галицький медичний вісник. – 2011. – Т.18, №1. – С. 8–14.
  15. Берхин Е.Б. Методы экспериментального исследования почек и водно-солевого обмена / Е.Б. Берхин, Ю.И. Иванов. – Барнаул: Алтайское книжн. изд-во, 1972. – 199 с.
  16. Билецкий С.В. Кардиоренальные механизмы адаптации в норме и при ишемической болезни сердца: автореф. дис. на соискание учен. степ. докт. мед. наук: спец. 14.00.32 „Авиационная, космическая и морская медицина”, 14.00.06 „Кардиология” / С.В. Билецкий. – Одесса, 1994. – 43 с.



17. Блокирование клонированных низкопороговых кальциевых каналов нейролептическими препаратами / [В.Н. Осипенко, В.Г. Найденов, П.Г. Костюк, Я.М. Шуба] // Нейрофизиология. – 2003. – Т.35, №1. – С. 9–18.
18. Боголепова А.Е. Физиологический анализ функций почки при различных типах диуреза // А.Е. Боголепова, Ю.В. Наточин // Нефрология. – 2005. – Т.9, №2. – С. 9–15.
19. Бойчук Т.М. Патофизиология гепаторенального синдрому при гемічній гіпоксії / Т.М. Бойчук, Ю.Є. Роговий, Г.Б. Попович. – Чернівці: Медичний університет, 2012. – 192 с.
20. Василичук Н.Н. Влияние дилтизема на содержание холестерина, фосфолипидов и интенсивность свободнорадикальных окислительных процессов в плазматических мембранах кардиомиоцитов и клеток крови в условиях экспериментальной гиперхолестеринемии / Н.Н. Василичук // Український біохімічний журнал. – 2004. – Т.76, №2. – С. 80–86.
21. Вислобоков А.И. Цитофармакологическое исследование механизмов действия мембранотропных лекарственных средств / А.И. Вислобоков, Ю.Д. Игнатов // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2003. – Т.2, №1. – С. 14–22.
22. Візір В.А. Порівняльна оцінка впливу карведіолу та амлодипіну на гемодинамічні та нейроімунологічні показники у хворих на гіпертонічну хворобу / В.А. Візір, І.М. Волошина // Буковинський медичний вісник. – 2011. – №4. – С. 18–23.
23. Візір В.А. Вплив кандесартану на показники добового артеріального тиску у пацієнтів на хронічну хворобу нирок на програмному гемодіалізі / В.А. Візір, О.Г. Омська, О.С. Садовов // Український журнал нефрології та діалізу. – 2014. – №3. – С. 27–35.
24. Власик Л.І. До питання оцінки нефротоксичності наночастинок та наноматеріалів / Л.І. Власик, Н.Й. Андрійчук // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.16, №3. – С. 71–74.

25. Влияние эналаприла, дигоксина, атенолола и дилтиазема на перекисное окисление липидов при сочетанных метаболических нарушениях (Экспериментальное исследование) / [А.А. Усанова, А.А. Александровский, А.В. Зорькина, О.М. Киселева] // Рациональная фармакотерапия в кардиологии. – 2009. – №6. – С. 63–67.
26. Внутрішньоклітинний кальцієвий гомеостаз сенсорних нейронів при гіпоксичних впливах / [П.Г. Костюк, Р.І. Станіка, Л.М. Коваль, О.О. Лук'янець] // Фізіологічний журнал. – 2003. – Т.49, №3. – С. 3–10.
27. Возможности комбинированной антигипертензивной терапии ингибиторами АПФ и дигидропиридиновыми антагонистами кальция / О.Д. Остроумова, О.В. Головина, Н.Л. Ролик [и др.] // Фарматека. Ежегодный сборник избранных научно-медицинских статей. – М.: Бионика, 2006. – С. 52–58.
28. Возможные механизмы кардиопротекторных эффектов активации  $K_{ATP}$ -каналов при ишемии-реперфузии миокарда / О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинский, Ю.Л. Ягупольский [и др.] // Бюл. Х-читань ім. В.В. Підвисоцького (26-27 травня 2011 р.). – Одеса, 2011. – С. 135–136.
29. Войтичук О.І. Модуляція збудливості кардіоміоцитів активатором аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліном / О.І. Войтичук, О.О. Мойбенко, Я.М. Шуба // Фізіологічний журнал. – 2010. – Т.56, №1. – С. 41–52.
30. Вплив активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліном на функцію серцево-судинної системи / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, Н.А. Струтинська [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т.59, №1. – С. 11–16.
31. Вплив лікарської форми флокаліну на перебіг ішемії-реперфузії міокарда / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, О.П. Нещерет [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2011. – Т.57, №1. – С. 55–65.

32. Вплив препарату GA-40 на поліуричній стадії сулемової нефропатії / [Т.М. Бойчук, Ю.Є. Роговий, В.В. Білоокий, О.В. Злотар] // Одеський медичний журнал. – 2011. – №4. – С. 4–7.
33. Вплив фармакологічної активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів на спонтанну скоротливу активність ізольованих неонатальних кардіоміоцитів щура / К.В. Тарасова, Т.С. Лагодич, Т.І. Древицька [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2014. – Т.60, №6. – С. 10–16.
34. Вплив флокаліну на розвиток апоптозу та некрозу при аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів / Р.Б. Струтинський, В.С. Нагібін, Н.А. Струтинська [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т.59, №3. – С. 3–9.
35. Вплив фторвмісних активаторів мітохондріальних аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів на окисне фосфорилування / С.М. Пивовар, В.І. Коржов, Р.Б. Струтинський [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2006. – Т.52, №6. – С. 25–33.
36. Гоженко А.И. Энергетическое обеспечение основных почечных процессов и функций в норме и при повреждении почек: дис. на соискание учен. степ. докт. мед. наук: спец. 14.00.16 „Патологическая физиология” / А.И. Гоженко. – Киев, 1987. – 38 с.
37. Гоженко А.И. Патогенез токсических нефропатий / А.И. Гоженко // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2006. – №2. – С. 9–15.
38. Гоженко А.И. Типовые патогенетические механизмы формирования заболеваний почек / А.И. Гоженко // Патологія. – 2008. – Т.5, №3. – С. 66.
39. Гоженко А.И. Функциональный почечный резерв: механизмы, методики определения и диагностическое значение // Нефрология. – 2009. – Т.13, №3. – С. 149.
40. Гоженко А.И. Функциональный почечный резерв в физиологии и патологии почек / А.И. Гоженко, Е.А. Гоженко // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.16, №3. – С. 18–25.

- 41.Гоженко А.И. Почечные механизмы регуляции цикла оксида азота у белых крыс при нагрузке нитритом натрия / А.И. Гоженко, С.И. Доломатов, И.Ю. Бадьин [и др.] // Нефрология – 2005. – Т.9, №3. – С. 95–98.
- 42.Гоженко А.И. Влияние глютаргина и аргинина на течение индуцированной ифосфамидом экспериментальной почечной недостаточности у белых крыс / А.И. Гоженко, М.В. Трусова // Нефрология. – 2007. – Т.11, №3. – С. 82–85.
- 43.Гоженко А. И. Вплив аргініну на функціональний стан нирок у щурів при сулемовій нефропатії / А.И. Гоженко, О.С. Федорук, І.В. Погоріла // Фізіологічний журнал. – 2002. – Т.48, №3. – С. 26–30.
- 44.Гоженко А.И. Вплив комбінації аргініну глутамату і мельдонію на хронічне запалення та функцію ендотелію у хворих із кальціфікацією клапанів серця на додіалізному етапі хронічної хвороби нирок / А.І. Гоженко, О.Б. Сусла, О.Л. Сидоренко // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.11, №3, ч.2. – С. 83–88.
- 45.Гоженко А.И. Функциональная классификация синдрома почечной недостаточности / А.И. Гоженко, О.С. Федорук // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.11, №3, ч.2. – С. 25–29.
- 46.Гоженко А.І. У пошуках універсального біомаркеру гострої ниркової недостатності при гострому коронарному синдромі / [А.І. Гоженко, Л.А. Ковалевська, О.В. Телятников] // XIV чтения В.В. Подвысоцкого: Бюллетень материалов научной конференции (27-28 мая 2015 г.). – Одесса: УкрНИИ медицины транспорта, 2015. – С. 54–55.
- 47.Денисюк О.М. Порівняльний вплив флокаліну та мексидолу на перебіг біоенергетичних процесів при гострій експериментальній ішемії головного мозку / О.М. Денисюк // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т.15, №1. – С. 131–133.
- 48.Денисюк О.М. Вплив активатора калієвих каналів флокаліну на кровопостачання головного мозку / О.М. Денисюк, Г.І. Степанюк, О.С. Пашинська // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2009. – Т.13, №2. – С. 421–424.

49. Динамика концентрации калия в сыворотке крови на фоне «трехкомпонентной» и «двухкомпонентной» фармакологической блокады ренин-ангиотензин-альдостероновой системы у больных на постоянном гемодиализе / [И.В. Зарипова, А.М. Есаян, А.Н. Нимгирова, И.Г. Каюков] // Нефрология. – 2011. – Т.15, №1. – С. 43–47.
50. Динаміка гломеруло-тубулярного балансу в підтриманні ниркою циркадіадного ритму / Л.Г. Доцюк, Т.М. Бойчук, І.Г. Кушнір // Клінічна та експериментальна патологія. – 2012. – Т.11, №1. – С. 55–57.
51. Динамічна система дослідження фібринолізу / К.С. Андріанова, В.Г. Вартанов, О.Ю. Сломінський [та ін.] // Лабораторна діагностика. – 2008. – Т.46, №4. – С. 39–44.
52. Дікал М. В. Особливості дегідрогеназної і  $H^+$ -АТФ-азної активності в нирках щурів за умов інтоксикації 2,4-динітрофенолом та її корекція мелатоніном / М.В. Дікал, Є.О. Ференчук // Медична хімія. – 2014. – Т.16, №3. – С. 66–69.
53. Добронравов В.А. Блокаторы кальциевых каналов в нефропротекции / В.А. Добронравов, О.В. Царькова // Нефрология. – 2004. – Т.8, №1. – С. 7–21.
54. Дралова О.В. Периндоприл – возможности антигипертензивной и нефропротекторной терапии / О.В. Дралова, М.Л. Максимов // Рациональная терапия в кардиологии. – 2011. – №6. – С. 501–506.
55. Дядык А.И. Кардиоренальные и ренокардиальные синдромы / А.И. Дядык // Серцева недостатність. – 2009. – №2. – С. 10–19.
56. Есаян А.М. Эффективность и безопасность блокаторов рецепторов ангиотензина II у диализных пациентов / А.М. Есаян, И.В. Зарипова // Нефрология. – 2010. – Т.14, №3. – С. 13–16.
57. Ефремова Е.В. Клинические особенности, качество жизни и прогноз больных с хроническим кардиоренальным синдромом / Е.В. Ефремова, А.М. Шутов // Нефрология. – 2015. – Т.19, №2. – С. 63–67.

- 58.Зверев Я.Ф. Диуретики как фактор сердечно-сосудистого риска. Сообщение I / Я.Ф. Зверев, В.М. Брюханов // Нефрология. – 2002. – Т.6, №3. – С. 15–21.
- 59.Зміни метаболізму в міокарді при ішемії-реперфузії та активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюруба, О.П. Нещерет [та ін.] // Фізіологічний журнал. – 2012. – Т.58, №1. – С. 13–26.
- 60.Зупанець І.А. Моделювання мембранозної нефропатії у лабораторних тварин для скринінгових досліджень лікарських препаратів / І.А. Зупанець, С.К. Щебеко // Клінічна фармація. – 2004. – Т.8, №3. – С. 36–40.
- 61.Изменение функции почек при острой интоксикации нитритом натрия в эксперименте / А.И. Гоженко, А.С. Федорук, С.Г. Котюжинская [и др.] // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2003. – №1. – С. 28–30.
- 62.Іванов В.П. Блокатори рецепторів до ангіотензину II: аспекти клінічного застосування в терапевтичній практиці / В.П. Іванов // Український медичний часопис. – 2013. – №1. – С. 97–101.
- 63.К проблеме оценки величины скорости клубочковой фильтрации у пациентов с хронической болезнью почек / Р.Т. Науэль, О.А. Дегтерева, И.Г. Каюков [и др.] // Нефрология. – 2011, Т.15, №1. – С. 104–110.
- 64.Казаченко А.В. Протекторная и регенерационная терапия при остром и хроническом повреждении почки: автореф. дис. на соискание учен. степ. докт. мед. наук: спец. 14.00.40 „Урология” / А.В. Казаченко. – Москва, 2009. – 35 с.
- 65.Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. – Москва: МЕДпресс-информ., 2009. – 896 с.
- 66.Кардиоренальные взаимоотношения у больных с артериальной гипертензией в сочетании с сахарным диабетом 2-го типа / [М.Е. Стаценко,

- М.В. Деревянченко, М.Н. Титаренко, О.Р. Пастухова] // Нефрология. – 2014. – Т.18, №5. – С. 44–51.
67. Катеренчук І.П. Возможности современной фитотерапии в комплексном лечении и профилактике заболеваний почек и мочевыводящих путей у практикующего семейного врача / І.П. Катеренчук, Л.А. Ткаченко, Т.І. Ярмола // Практикуючий лікар. – 2013. – №1. – С. 67–72.
68. Качество жизни больных на различных стадиях хронической болезни почек / И.А. Васильева, В.А. Добронравов, И.Ю. Панина [и др.] // Нефрология. – 2013. – Т.17, №2. – С. 60–66.
69. Козлов А.В. Определение калия и натрия в пробе: проблемы выбора метода / А.В. Козлов // Клиническая и лабораторная диагностика. – 2003. – №10. – С. 39–41.
70. Койро О.О. Экспериментальная терапия ишемической острой почечной недостаточности с использованием биологически активных веществ и препаратов сноты обыкновенной / О.О. Койро // Український біофармацевтичний журнал. – 2014. – №5. – С. 62–68.
71. Коломиец В.В. Эффективность антигипертензивной терапии фелодипином у больных с эссенциальной гипертензией с различной чувствительностью артериального давления к солевой нагрузке / В.В. Коломиец, К.А. Бобрышев, С.В. Мищенко // Український кардіологічний журнал. – 2005. – №1. – С. 44–46.
72. Комбинированное влияние возраста и сокращения массы действующих нефронов на ремоделирование миокарда у крыс / О.Н. Береснева, М.М. Парастаева, Н.В. Швед [и др.] // Нефрология. – 2015. – Т.19, №4. – С. 100–107.
73. Комплексная оценка сердечно-сосудистых факторов риска, как инструмент прогнозирования развития хронической болезни почек / [А.А. Галушкин, М.М. Батюшин, В.П. Терентьев, Ю.Ю. Горблянский] // Нефрология. – 2013. – Т.17, №5. – С. 54–59.

- 74.Костиненко Т.В. Зміни вмісту альбуміну, гострофазових білків у сироватці крові та ліпідного спектру у пацієнтів з хронічною хворобою нирок III-IV стадії залежно від вираженості ішемічної хвороби серця / Т.В. Костиненко // Український журнал нефрології та діалізу. – 2006. – №4. – С. 60–63.
- 75.Костюк Е.П. Роль изменений трансмембранных ионных токов при патологических состояниях организма / Е.П. Костюк, П.Г. Костюк // Успехи физиологических наук. – 2003. – Т.34, №1. – С. 3–13.
- 76.Костюк П.Г. Біофізика клітини як основа сучасної фармакотерапії / П.Г. Костюк // Журнал академії медичних наук України. – 2004. – Т.10, №2. – С. 219–224.
- 77.Костюк П.Г. Іони кальцію у функції мозку – від фізіології до патології / П.Г. Костюк, О.П. Костюк, О.О. Лук'янець. – Київ: Наукова думка, 2005. – 197 с.
- 78.Косуба Р.Б. Фітохімічна корекція металотоксикозу в експерименті / Р.Б. Косуба, Л.О. Перепелиця, В.В. Гордієнко // Медична хімія. – 2014. – Т.16, №4. – С. 90.
- 79.Крайдашенко О.В. Біомаркери пошкодження нирок у хворих на гіпертонічну хворобу / О.В. Крайдашенко, М.О. Долінна // Український журнал нефрології та діалізу. – 2014. – №3. – С. 48–51.
- 80.Крутиков Е.С. Сравнительная эффективность блокады ренин-ангиотензин-альдостероновой системы комбинациями алискирен с амлодипином и рамиприл с амлодипином у больных с гипертонической болезнью / Е.С. Крутиков, С.И. Чистякова, В.В. Горбатюк // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – №4. – С. 24–30.
- 81.Кузнецова И.В. Экзогенный оксид азота – активатор калиевых каналов миелинизированных нервных волокон амфибий / И.В. Кузнецова, И.А. Евстигнеев, Н.В. Глухова // Фундаментальные исследования. – 2007. – №8. – С. 57–58.



82. Кузьмин О.Б. Нейрогуморальный дисбаланс как причина дисфункции почки при первичной артериальной гипертензии / О.Б. Кузьмин, М.О. Пугаева // Нефрология. – 2004. – Т.8, №1. – С. 29–35.
83. Кузьмин О.Б. Механизмы развития и прогрессирования нефропатии у больных сердечной недостаточностью с хроническим кардиоренальным синдромом / О.Б. Кузьмин // Нефрология. – 2011. – Т.15, №2. – С. 20–29.
84. Кузьмин О.Б. Хроническая болезнь почек: механизмы развития и прогрессирования гипоксического гломерулосклероза и тубулоинтерстициального фиброза / О.Б. Кузьмин // Нефрология. – 2015. – Т.19, №5. – С. 9–16.
85. Кутырина И. Нейропротективные свойства лерканидипина / И. Кутырина, Т. Руденко // Врач. – 2011. – №4. – С. 80–83.
86. Лебедева Т.Л. Состояние гомеостатических функций почек при водно-солевых нагрузках / Т.Л. Лебедева // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2011. – №2. – С. 93–96.
87. Левицкая Е.С. Факторный анализ прогнозирования развития микроальбуминурии у пациентов с ишемической болезнью сердца с учетом влияния параметров локальных коронарных факторов / Е.С. Левицкая, М.М. Батюшин, Г.В. Шавкута // Нефрология. – 2014. – Т.18, №5. – С. 35–43.
88. Лимаренко І.В. Біохімічні аспекти активації АТФ-залежних калієвих каналів судин та кардіоміоцитів / І.В. Лимаренко // Буковинський медичний вісник. – 2005. – Т.9, №2. – С. 152–153.
89. Лимаренко І.В. Пошук потенційних міотропних детрузорселективних сполук в ряду похідних гуанідину: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.05 „Фармакологія” / І.В. Лимаренко. – Київ, 2006. – 20 с.
90. Луговський С.П. Ультраструктурна характеристика епітелію проксимальних каналців нирок щурів при свинцевій інтоксикації // Актуальные проблемы транспортной медицины. – 2009, №4. – С. 58–69.

91. Лукьянова Л.Д. Роль биоэнергетических нарушений в патогенезе гипоксии / Л.Д. Лукьянова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2004. – №2. – С. 2–10.
92. Мальков П.С. Структурные и функциональные изменения в почках при артериальной гипертензии / П.С. Мальков, В.Э. Олейников, Ю.А. Томашевская // Международный медицинский журнал. – 2004. – №1. – С. 135–138.
93. Малышева А.М. Применение никорандила – препарата с дополнительными кардиопротективными свойствами – у пациентов с ишемической болезнью сердца / А.М. Малышева, С.Ю. Марцевич, М.Л. Гинзбург // Терапевтический архив. – 2011. – Т.83, №9. – С. 10–14.
94. Мельников К.Н. Разнообразие и свойства кальциевых каналов возбудимых мембран / К.Н. Мельников // Психофармакология и биологическая наркология. – 2006. – Т.6, вып.1-2. – С. 1139–1155.
95. Мерзон А.К. Сравнительная оценка методов химической индикации креатинина / А.К. Мерзон, О.Т. Титаренко, Е.К. Андреева // Лабораторное дело. – 1970. – №7. – С. 416–418.
96. Минушкина А.О. Лекарнидипин в лечении артериальной гипертензии / А.О. Минушкина, И.К. Иосава // Кардиология. – 2012. – №12. – С. 123–127.
97. Минушкина А.О. Лечение артериальной гипертензии у больных с хронической болезнью почек: фиксированная комбинация лекарнидипина и эналаприла / А.О. Минушкина // Кардиология. – 2013. – №12. – С.64–69.
98. Митохондриальные АТФ-зависимые калиевые каналы как точка приложения действия при дистантном прекондиционировании / Л.М. Даниленко, М.В. Покровский, А.С. Королев [и др.] // Научные ведомости. Серия Медицина. Фармация. – 2010. – №22, вып.12/2. – С. 15–18.
99. Михеева А.И. К методике определения общего белка в моче на ФЭК-Н-56 / А.И. Михеева, И.А. Богодарова // Лабораторное дело. – 1969. – №7. – С. 441–442.

100. Моделювання промислового процесу виробництва препарату Флокалін та визначення його оптимально-ефективної дози для лікування захворювань серця / Р.Б. Струтинський, О.О. Мойбенко, В.А. Чебанов [та ін.] // Наука та інновації. – 2013. – Т.9, №1. – С. 55–63.
101. Мойбенко О.О. Эндогенные механизмы кардиопротекции как основа патогенетической терапии заболеваний сердца / О.О. Мойбенко. – К.: Наукова думка, 2008. – 518 с.
102. Москаленко А.М. О возможности развития хронической почечной недостаточности у онкологических больных при проведении химиотерапии цисплатином / А.М. Москаленко, А.И. Гоженко, В.М. Сирман // Буковинський медичний вісник. – 2011. – Т.15, №4. – С. 47–50.
103. Мохорт М.А. Аденозинтрифосфатзалежні калієві канали: класифікація, структура та функції / М.А. Мохорт, І.В. Лимаренко // Фізіологічний журнал. – 2005. – Т.51, №1. – С. 109–120.
104. Мохорт М.А. Влияние новых фторсодержащих аналогов пинацидила на сократительную активность мочевого пузыря и тонус сосудов / М.А. Мохорт, И.В. Самарская, Л.М. Ягупольский // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т.40, №4. – С. 32–34.
105. Мохорт М.А. Кардіотоксичні ефекти доксорубіцину і доцільність їх фармакологічної корекції антагоністами кальцію дигідропіридинового ряду та активаторами АТФ-чутливих каналів гуанідинового ряду / М.А. Мохорт, Н.М. Серединська, Л.М. Киричок // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2010. – №4. – С. 35–44.
106. Мохорт М.А. Порівняльна спазмолітична активність дротаверину, пінацидилу та його аналога флокаліну / М.А. Мохорт, О.В. Пупишева // Досягнення біології та медицини. – 2011. – №1. – С. 4–7.
107. Мохорт Н.А. Влияние новых фторсодержащих аналогов пинацидила на сократительную активность мочевого пузыря и тонус сосудов // Н.А. Мохорт, И.В. Самарская. Л.М. Ягупольский // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2007. – Т.7, №4. – С. 32–34.

108. Мохорт М.А. Кардіотропна дія нового антагоніста кальцію дигідропіридинового ряду / М.А. Мохорт, Н.М. Серединська, А.С. Шаламай // Вісник Вінницького Національного медичного університету. – 2007. – Т.11, №2/1. – С. 489–493.
109. Мочевая экскреция коллагена IV типа – ранний маркер фиброзирования почек при сахарном диабете / [И.А. Бондарь, В.В. Климонтов, Е.М. Парфентьева, В.В. Романов] // Сахарный диабет. – 2011. – №4. – С. 29-31.
110. Мухин И.В. Сравнительная ренопротекторная и гипотензивная эффективность дигидропиридиновых и недигидропиридиновых блокаторов кальциевых каналов у гипертензивных больных с хроническим гломерулонефритом без нефротического синдрома / И.В. Мухин // Український терапевтичний журнал. – 2006. – №2. – С. 53–57.
111. Мухин И.В. Современные представления о факторах и механизмах прогрессирования хронической болезни почек и основные направления нефропротекции // Український журнал нефрології та діалізу. – 2007. – №3. – С. 45–49.
112. Мухин Н.А. Снижение скорости клубочковой фильтрации – общепопуляционный маркер неблагоприятного прогноза / Н.А. Мухин // Терапевтический архив. – 2007. – Т.79, №6. – С. 5–10.
113. Мухин Н.А. Альбуминурия – маркер поражения почек и риска сердечно-сосудистых осложнений / Н.А. Мухин, Г.П. Арутюнов, В.В. Фомин // Клиническая нефрология. – 2009. – №1. – С. 5–10.
114. Напалкова С.М. Влияние глицина на функциональные и оксидативные показатели почек крыс в условиях доксорубициновой нефропатии / С.М. Напалкова, О.С. Селиванова // Вестник Воронежского госуниверситета. Серия Химия. Биология. Фармация. – 2006. – №1. – С. 146–149.
115. Наточин Ю.В. Основы физиологии почки / Ю.В. Наточин. – Л.: Медицина, 1982. – 207 с.

116. Наточин Ю.В. Новый подход к интегративной функциональной характеристики почек при разных типах диуреза / Ю.В. Наточин, А.В. Кутырина // Нефрология. – 2009. – Т.13, №3. – С. 19–21.
117. Национальные рекомендации. Хроническая болезнь почек: основные принципы, диагностика, профилактика и подходы к лечению / А.В. Смирнов, Е.В. Шилов, В.А. Добронравов [и др.] // Клиническая нефрология. – 2012. – №4. – С. 2–5.
118. Нефропротективный эффект фиксированной комбинации лизиноприла и амлодипина у больных с сахарным диабетом и артериальной гипертензией / К.В. Протасов, О.В. Федоришина, А.А. Дзизинский [и др.] // Український медичний часопис. – 2012. – №6. – С. 59–63.
119. Нефропротекция при хронических заболеваниях почек и принципы продления додиализного периода / М.А. Власенко, О.А. Чучелина, О.М. Годлевская [и др.] // Международный медицинский журнал. – 2011. – №3. – С. 101–104.
120. Нефротоксичність як прояв побічної дії ліків / Л.В. Деримедвідь, С.М. Дроговоз, Е.В. Матвеева [та ін.] // Український фармацевтичний журнал. – 2014. – №5. – С. 59–61.
121. Нові фармакологічні підходи в розслабленні гладеньких м'язів сечоводу при уретеропієлоскопії / Т.М. Бойчук, Б.В. Джуран, Р.І. Янчій [та ін.] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т.9, №3. – С. 12–13.
122. Нові фторвмісні активатори аденозинтрифосфат-чутливих калієвих каналів флокалін і тіофлокалін пригнічують кальційіндуковане відкривання мітохондріальної пори в серці щурів / Н.А. Струтинська, Р.Б. Струтинський, С.В. Чорна [та ін.]. // Фізіологічний журнал. – 2013. – Т.59, №6. – С. 3–11.
123. Определение мочевых маркеров протеолиза/фибринолиза и фиброангиогеназа в почке у больных гипертонической болезнью // М.Л. Нанчикеева, Л.В. Козловская, В.В. Рамеев [и др.] // Терапевтический архив. – 2011. – Т.83, №6. – С. 23–27.

124. Організація промислового виготовлення препарату Флокалін – нового вітчизняного міотропного спазмолітика і кардіопротектора / О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський [та ін.] // Наука та інновації. – 2009. – Т.5, №1. – С. 80–84.
125. Особенности работы митохондриального АТФ-зависимого калиевого канала у животных с разной толерантностью к гипоксии до и после курсовой гипоксической тренировки / Г.Д. Миронова, М.И. Шигаева, Е.Н. Гриценко [и др.] // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2011. – №1. – С. 30–35.
126. Острое повреждение почек: концептуальные проблемы / [А.В. Смирнов, И.Г. Каюков, В.А. Добронравов, А.Ш. Румянцев] // Нефрология. – 2014. – Т.18, №2. – С. 8–24.
127. Острое повреждение почек у больных с инсультом / М.В. Мензоров, А.М. Шутов, В.А. Лукьянова [и др.] // Нефрология. – 2014. – Т.18, №2. – С. 55–60.
128. Пасевич С.П. Перебіг гострої ниркової недостатності за умов екзогенної гіпоксії: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.04 „Патологічна фізіологія” / С.П. Пасевич. –Тернопіль, 2010. –20с.
129. Пат. 3072700 Україна, МПК G 01 №33/48 Спосіб визначення тканинної фібринолітичної активності // Боднар Б.М., Кухарчук О.Л., Магальяс В.М., Пенішкевич Я.І., Пішак О.В., Роговий Ю.Є., Сливка В.І., Шаповалов В.П.; заявник і власник патенту Буковинська державна медична академія. – №98042121; заявл. 28.04.1998; опубл. 15.12.2000, Бюл.№7–11.
130. Пат.71067 Україна, МПК А61К 31/00 (2012.01) Спосіб зменшення розміру інфаркту міокарда при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда. / Безпалько Л.В., Струтинський Р.Б., Ягупольський Ю.Л., Шаламай А.С., Петко К.І., Мойбенко О.О.; заявник та патентовласник Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. –№u 2012 04588; заявл. 12.04.12; опубл. 25.06.12, Бюл.№12.

131. Пат.98023 Україна, МПК А61К 31/00 (2015.01) Спосіб попередження апоптозу та некрозу за аноксії-реоксигенації ізольованих неонатальних кардіоміоцитів / Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Нагібін В.С., Ягупольський Ю.Л.; заявник та патентовласник Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. – №и 2014 12692; заявл. 26.11.14; опубл. 10.04.15, Бюл.№7.
132. Пат.91257 Україна, МПК А61К 31/00 (2014.01) Спосіб попередження інфаркту міокарда при експериментальній гострій ішемії-реперфузії міокарда / Мойбенко О.О., Струтинський Р.Б., Ягупольський Ю.Л., Струтинський В.Р., Петко К.І.; заявник та патентовласник Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. –№и 2014 01101; заявл. 06.02.14; опубл. 25.06.14, Бюл.№12.
133. Пат.98022 Україна, МПК А61К 31/00 (2015.01) Спосіб попередження кальційіндукованого відкривання мітохондріальної пори у серці / Струтинський Р.Б., Струтинська Н.А., Сагач В.Ф., Мойбенко О.О., Ягупольський Ю.Л.; заявник та патентовласник Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ. – №и 2014 12691; заявл. 26.11.14; опубл. 10.04.15, Бюл.№7.
134. Пат.99508 Україна, МПК А61К 31/00 (2015.01) Спосіб створення нових активаторів АТФ-залежних калієвих каналів клітинних мембран / Кришталь О.О., Максимюк О.П., Струтинський Р.Б., Мойбенко О.О., Платонов М.О., Бойко О.М., Васильченко О.В.; заявник та патентовласник Інститут фізіології ім. О.О. Богомольця НАНУ, товариство з обмеженою відповідальністю «Науково-виробниче підприємство Укроргсинтез». – №и 2014 13557; заявл. 17.12.14; опубл. 10.06.15, Бюл.№11.
135. Пішак В.П. Тубуло-інтерстиційний синдром / В.П. Пішак, А.І. Гоженко, Ю.Є. Роговий. – Чернівці–Одеса: Медакадемія, 2002. – 221 с.
136. Подкисление мочи как фактор, повышающий диуретическую и салуретическую активность фуросемида у крыс / И.В. Смирнов,

- В.М. Брюханов, А.А. Бондарев [и др.] // Нефрология. – 2010. – Т.14, №1. – С. 77–80.
137. Проблема оценки скорости кубочковой фильтрации в современной нефрологии: новый индикатор – цистатин С / А.В. Смирнов, И.Г. Каюков, А.М. Есаян [и др.] // Нефрология. – 2005. – Т.9, №3. – С. 16–27.
138. Проданчук Г.Н. Токсические метгемоглобинемии: механизмы формирования и пути оптимизации лечения / Г.Н. Проданчук, Г.М. Балан // Сучасні проблеми токсикології. – 2007. – №1. – С. 23–28.
139. Путилина Ф.Е. Влияние гипоксии и 2,4-динитрофенола на лактатдегидрогеназную реакцию в мозгу, печени, в почках / Ф.Е. Путилина, Н.Д. Ещенко // Вопросы медицинской химии. – 1971. – Т.17, №2. – С.161–165.
140. Ранние механизмы патогенеза повреждения почек и печени при разобщении окисления и фосфорилирования [Электронный ресурс] / [Ю.Е. Роговый, В.В. Белявский, Л.О. Филипова, В.А. Дорошко] // Современные проблемы науки и образования: интернет-журн. – 2013. – №6. – URL: [www.science-education.ru/113-11345](http://www.science-education.ru/113-11345) (дата звернення: 19.09.2015).
141. Ребров Б.А. Бессимптомная протеинурия как проявление хронической болезни почек / Б.А. Ребров, В.Н. Смирнов // Український журнал нефрології та діалізу. – 2005. – №4. – С. 59–63.
142. Редкие заболевания в практике «взрослого нефролога»: состояния, ассоциированные с гипокалиемией. Сообщение I. Гомеостаз калия, классификация и клиника гипокалиемий // И.Г. Каюков, А.В. Смирнов, М.А. Шабунин и др. // Нефрология. – 2008. – Т.12, №4. – С. 81–92.
143. Роговий Ю.Є. Патолофізіологічний аналіз кореляційно-оптичної діагностики кіркової речовини нирок за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому / Ю.Є. Роговий, В.Г. Савка // Вісник наукових досліджень. – 2006. – №1. – С. 108–110.



144. Роговий Ю.Є. Патолофізіологія гепаторенального синдрому на поліуричній стадії сулемової нефропатії / Ю.Є. Роговий, О.В. Злотар, Л.О. Філіпова. – Чернівці: «Місто», 2012. – 200 с.
145. Роговий Ю.Є. Окисномодифіковані білки у нирках і печінці при інтоксикації 2,4-динітрофенолом та дії мелатоніну в експерименті / Ю.Є. Роговий, В.В. Беявський, М.В. Дикал // Клінічна анатомія та оперативна хірургія. – 2011. – Т.10, №3. – С. 18–21.
146. Розробка та підготовка до впровадження нового вітчизняного кардіопротекторного препарату – фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів Флокалін / [О.О. Мойбенко, Р.Б. Струтинський, Л.М. Ягупольський, А.М. Мохорт] // Наука та інновації. – 2006. – Т.2, №4. – С. 114–119.
147. Роль некоторых биомаркеров в оценке характера хронического повреждения почек у пациентов с первичными гломерулопатиями / Я.Ю. Пролетов, Е.С. Саганова, О.В. Галкина [и др.] // Нефрология. – 2013. – Т.17, №1. – С. 60–69.
148. Рябов С.И. Функциональная нефрология / С.И. Рябов, Ю.В. Наточин. – Спб: Лань, 1997. – 304 с.
149. Савка В.Г. Комплексне патофізіологічне та кореляційно-оптичне дослідження функціонально-морфологічного стану нирки за умов розвитку тубуло-інтерстиційного синдрому: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: спец. 14.03.04 „Патологічна фізіологія” / В.Г. Савка. – Чернівці, 2010. – 20 с.
150. Сачок В.В. Вплив блокаторів кальцієвих каналів амлодипіну та диметилдипіну на стан енергетичного обміну в серці щурів за умов адреналінової міокардіодистрофії / В.В. Сачок, Л.Л. Аршиннікова // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2012. – №4. – С. 40–43.
151. Саенко Ю.В. К механизму токсического действия доксорубина на почки / Ю.В. Саенко, А.М. Шутов, Р.Х. Мусина // Нефрология. – 2006. – Т.10, №4. – С. 72–76.

152. Серединська Н.М. Кардіотоксичні ефекти при дії фосфорорганічних сполук та шляхи їх фармакологічної корекції: автореф. дис. на здобуття наук. ступеня докт. мед. наук: спец. 14.03.06 „Токсикологія”, 14.03.05 „Фармакологія” / Н.М. Серединська. – Київ, 2006. – 40 с.
153. Серединська Н.М. Порівняльна оцінка специфічної фармакологічної активності антагоністів кальцію дигідропіридинового ряду – амлодипіну та димеодипіну – при експериментальній ішемії міокарда / Н.М. Серединська // Журнал Національної академії медичних наук України. – 2010. – Т.16, №2. – С. 343–351.
154. Серединська Н.М. Модуляція кальцієвого току – підхід до пошуку ефективних засобів фармакологічної корекції кардіотоксичного впливу фосфорорганічних сполук / Н.М. Серединська // Сучасні проблеми токсикології. – 2011. – №5. – С. 128.
155. Середюк Н.М. Нейропротекторні властивості комбінованого низькодозового антигіпертензивного лікування хворих на артеріальну гіпертензію, поєднану з хронічним пієлонефритом / Н.М. Середюк, О.Р. Лучко // Львівський медичний вісник. – 2013. – №2. – С. 7–10.
156. Сигитова О.Н. Особенности гипертрофии левого желудочка и варианты ремоделирования миокарда у пациентов с гипертонической нефропатией / О.Н. Сигитова, Э.И. Саубанова // Вестник современной клинической медицины. – 2013. – Т.6, вып.4. – С. 33–10.
157. Синяченко О.В. Результаты длительного применения блокаторов кальциевых каналов в лечении гипертензивных больных хроническим гломерулонефритом / О.В. Синяченко, Г.А. Игнатенко, И.В. Мухин // Нефрология. – 2005. – Т.9, №2. – С. 67–72.
158. Сирман В.М. Функция почек у крыс с адьювантным артритом Пирсона и ее коррекция эмбриональными прогениторными клетками / В.М. Сирман // Journal of Health Sciences. – 2014. – Vol.4, №14. – P. 63–68.
159. Слободян К.В. Вікові особливості функцій нирок за умов надлишку і дефіциту іонів натрію при сулемовій нефропатії: автореф. дис. на

здобуття наук. ступеня канд. мед. наук: 14.03.04 „Патологічна фізіологія”  
/ К.В. Слободян. – Чернівці, 2013. – 20 с.

160. Смирнов А.В. Кардио-ренальный континуум: патогенетические основы превентивной нефрологии / А.В. Смирнов, В.А. Добронравов, В.А. Каюков // Нефрология. – 2005. – Т.9, №3. – С. 7–14.
161. Соловьев А.И. Таргетная терапия ионных каналопатий / А.И. Соловьев // Таврический медицинский вестник. – 2012. – Т.15, №3 (ч.2). – С. 337.
162. Соловьев А.И. Ионные каналы как фармакологические мишени. Время смены парадигм классической фармакотерапии / А.И. Соловьев // Фармакологія та лікарська токсикологія. – 2013. – №6. – С. 101–106.
163. Соломенчук Т.М. Стратегія ангіопротекції при лікуванні хворих на артеріальну гіпертензію високого кардіоваскулярного ризику / Т.М. Соломенчук // Український медичний часопис. – 2012. – №4. – С. 103–106.
164. Спосіб визначення ниркового функціонального резерву: методичні рекомендації / А.І. Гоженко, В.М. Сирман, О.А. Гоженко [та ін.]. – Київ, 2012. – 26 с.
165. Стан вуглеводного, ліпідного обміну та швидкість клубочкової фільтрації у хворих на гіпертонічну хворобу II стадії та в поєднанні з цукровим діабетом типу 2 / [С.В. Білецький, О.З. Новицька, О.А. Петринич, Т.В. Казанцева] // Буковинський медичний вісник. – 2014. – Т.18, №2. – С. 8–10.
166. Струтинська Н.А. Фармакологічна активація АТФ-залежних калієвих каналів – важливий механізм регуляції циклоспорин-чутливої мітохондріальної пори у серці щурів / Н.А. Струтинська // Вісник Вінницького Національного медичного університету. – 2014. – Т.18, №2. – С. 410–412.
167. Струтинський Р.Б. Вазодилаторні ефекти флокаліну фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Р.Б. Струтинський // Фізіологічний журнал. – 2010. – Т.56, №4. – С. 59–65.
168. Струтинський Р.Б. Вплив нового активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну на зміни вмісту глюкози в крові / Р.Б.

- Струтинський, Р.А. Ровенець, О.П. Нещерет // Фізіологічний журнал. – 2010. – Т.56, №6. – С. 39–47.
169. Струтинський Р.Б. Кардіопротекторні ефекти лікарської форми фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів флокаліну / Р.Б. Струтинський // Фізіологічний журнал. – 2009. – Т.55, №4. – С. 83–90.
  170. Струтинський Р.Б. Механізми кардіопротекторної дії вітчизняного активатора  $K_{ATP}$ -каналів флокаліну / Р.Б. Струтинський, Р.А. Ровенець, О.О. Мойбенко // Таврический медико-биологический вестник. – 2012. – Т.15, №3, ч.2. – С. 226–229.
  171. Сывороточная концентрация цистатина С и мочевой кислоты у пациентов с хронической болезнью почек и гипертрофией левого желудочка сердца / [Т.Е. Руденко, М.П. Васильева, И.М. Кутырина, Н.И. Соломахина] // Нефрология. – 2015. – Т.19, №2. – С. 68–75.
  172. Тарасова К.В. Вікові особливості енергетичного забезпечення міокарда: вплив активаторів  $K^+_{ATP}$ -каналів / К.В. Тарасова, С.Б. Французова // Проблемы старения и долголетия. – 2013. – Т.22, №3. – С. 234–248.
  173. Товчига О.В. Лекарственные растения и выделительная функция почек / О.В. Товчига, С.Ю. Штрыголь, О.О. Койро // Буковинський медичний вісник. – 2012. – Т.16, №3, ч.2. – С. 29–31.
  174. Трисветова Е.Л. Нефропротекция ингибитором ангиотензин-превращающего фермента лизиноприлом при артериальной гипертензии / Е.Л. Трисветова // Международные обзоры: клиническая практика и здоровье. – 2013. – №4. – С. 85–95.
  175. Тубулярні пошкодження нирок щурів при впливі комбінованої дії солей важких металів / В.Г. Висоцька, М.І. Кривчанська, Н.В. Черновська [та ін.] // Український журнал екстремальної медицини ім. Г.О. Можасєва. – 2011. – Т.12, №4. – С. 56–59.

176. Тугушева Ф.А. Оксидативный стресс и его участие в неиммунных механизмах прогрессирования хронической болезни почек // Ф.А. Тугушева, И.М. Зубина // Нефрология. – 2009. – Т.13, №3. – С. 42–48.
177. Туманский В.А. Натрийуретические пептиды: биогенез, функции и роль в патологии / В.А. Туманский, Н.В. Туманская // Патологія. – 2008. – Т.5, №4. – С. 4–13.
178. Факторы риска повышения альбуминурии как раннего маркера хронической болезни почек в разных возрастных группах / С.С. Нагайцева, М.Ю. Швецов, Ю.Д. Шалягин [и др.] // Нефрология. – 2013. – Т.17, №4. – С. 58–62.
179. Флокалін – новий вітчизняний кардіопротектор / [Р.Б. Струтинський, М.А. Мохорт, Л.М. Ягупольський, О.О. Мойбенко] // Вісник фармакології та фармації. – 2010. – №3. – С. 44–56.
180. Функціональний нирковий резерв: монографія / А.І. Гоженко, А.В. Кравчук, О.П. Никитенко [та ін.]: за ред. А.І. Гоженко. – Одеса: Фенікс, 2015. – 182 с.
181. Функція нирок і фактор некрозу пухлин-альфа за умов введення 2,4-динітрофенолу / [В.В. Белявський, Ю.Є. Роговий, М.В. Дікал, В.В. Білоокій] // Клінічна та експериментальна патологія. – 2010. – Т.IX, №4. – С. 5–9.
182. Чекман І.С. Фізіологічні властивості та перспективи корекції функції аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / І.С. Чекман, К.В. Тарасова, В.Г. Шевчук // Фізіологічний журнал. – 2008. – Т.54, №1. – С. 94–106.
183. Шилов А.М. Место блокаторов кальциевых каналов третьего поколения в континууме метаболического синдрома. / АМ. Шилов // Трудный пациент. – 2014. – №4. – С. 20–25.
184. Шіфріс І.М. Госпіталізована захворюваність хворих на хронічну хворобу нирок VД стадії / І.М. Шіфріс, В.Ф. Крот, Ю.І. Гончар // Український журнал нефрології та діалізу. – 2014. – №4. – С. 31–41.

185. Шуба Я.М. Кальцієва сигналізація в канцерогенезі / Я.М. Шуба // Фізіологічний журнал. – 2007. – Т.53, №4. – С. 110–128.
186. Шюк О. Функциональное исследование почек / О. Шюк. – Прага: Авиценум, 1981. – 344 с.
187. Экспериментальная оценка новых технологий профилактики и лечения почечной недостаточности / В.И. Кирпатовский, А.В. Казаченко, Е.Ю. Плотников [и др.] // Экспериментальная и клиническая урология. – 2010. – №1. – С. 27–31.
188. Этиопатология хронической тубулярной, гломерулярной и реноваскулярной нефропатий: клинические аспекты / Дж.М. Лопес-Новоюя, А.Б. Родригес-Пена, А. Ортис [и др.] // Нефрология. – 2013. – Т.17, №2. – С. 9–38.
189. Эффекты фармакологического прекондиционирования никорандилом и миноксидилом в хирургии / [И.М. Колесник, М.В. Покровский, В.А. Лазаренко, Д.А. Ефременкова] // Кубанский научный медицинский вестник. – 2012, №3. – С. 86–88.
190. Ягмуров О.Д. Морфология острых экзогенных нефротоксических воздействий / О.Д. Ягмуров, Л.В. Петров // Нефрология. – 2011. – Т.15, №1. – С. 27–31.
191. Ягупольский Л.М. Фторсодержащие активаторы калиевых каналов – флокалин и его аналоги / Л.М. Ягупольский, К.И. Петко, Е.В. Тарасова // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2004. – Т.2, вып.4. – С. 11–16.
192. Ягупольський Л.М. Хімія фторорганічних сполук / Л.М. Ягупольський, Ю.Л. Ягупольський, Г.І. Матюшечева // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2009. – Т.7, вып.2. – С. 47–61.
193. A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels / N. Inagaki, T. Gono, J.P. Clement IV [et al.] // Neuron. – 1996. – Vol.16. – P. 1011–1017.
194. Agre P. The Aquaporin Water Channels / P. Agre // Proc Am Thorac Soc. – 2006. – Vol.3, №1. – P. 5–13.

195. A new ATP-sensitive potassium channel opener protects endothelial function in cultured aortic endothelial cells / H. Wang, C. Long, Z. Duan [et al.] // Cardiovascular Research. – 2007. – Vol.73. – P. 497–503.
196. A novel sulfonylurea receptor forms with BIR (Kir6.2) a smooth muscle type ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel / S. Isomoto, C. Kondo, M. Yamada [et al.] // The Journal of Biological Chemistry. – 1996. – №271. – P. 24321–24324.
197. A simple risk score for prediction of contrast-induced nephropathy after percutaneous coronary intervention: development and initial validation / R. Mehran, E.D. Aymong, E. Nikolsky [et al.] // J Am Coll Cardiol. – 2004. – №44. – P. 1393–1399.
198. Abbate M. How does proteinuria cause progressive renal damage? / M. Abbate, C. Zoja, G. Remuzzi // J Am Soc Nephrol. – 2006. – Vol.17, №11. – P. 2974–2984.
199. Abdel-Kader K. Acute kidney injury in the elderly / K. Abdel-Kader, P. Palevsky // Clin Geriatr Med. – 2009. – Vol.25, №3. – P. 331–358.
200. Abe M. T-type Ca channel blockers in patients with chronic kidney disease in clinical practice / M. Abe, K. Okada, M. Soma // Curr Hypertens Rev. – 2013. – Vol.9, №3. – P. 202–209.
201. Acute kidney injury and chronic kidney disease as interconnected syndromes / L.S. Chawla, P.W. Eggers, R.A. Star [et al.] // N Engl J Med. – 2014. – Vol.371. – P. 58–66.
202. Additive antioxidative effects of azelnidipine on angiotensin receptor blocker olmesartan treatment for type 2 diabetic patients with albuminuria / M. Abe, N. Maruyama, K. Okada [et al.] // Hypertens Res. – 2011. – Vol. 34, №8. – P. 935–941.
203. Administered mesenchymal stem cells protect against ischemic acute renal failure through differentiation-independent mechanism / F. Togel, Z. Hu, K. Weiss [et al.] // Am. J. Physiol. Renal Physiol. – 2005. – Vol.289, №1. – P. 31–42.
204. Agarwal R. The role of statins in chronic kidney disease / R. Agarwal, T.M. Curley // Am J Med Sci. – 2009. – Vol.330, №2. – P. 69–81.

205. Ahmed L.A. Renoprotective effect of egyptian cape gooseberry fruit (*Physalis peruviana* L.) against acute renal injury in rats / L.A. Ahmed // The Scientific World Journal. – 2014. – Vol.2014. – P. 273–287.
206. Ahnfelt-Rønne I. Pinacidil: history, basic pharmacology, and therapeutic implications / I. Ahnfelt-Rønne // Journal of Cardiovascular Pharmacology. – 1988. – Vol.12, Suppl 2. – P. 1–4.
207. Aliskiren: review of efficacy and safety data with focus on past and recent clinical trials / [S. Sen, S. Sabırlı, T. Özyiğit, Y. Üresin] // Ther Adv Chronic Dis. – 2013. – Vol.4, №5. – P. 232–241.
208. Angiotensin 1–7 mediates renoprotection against diabetic nephropathy by reducing oxidative stress, inflammation, and lipotoxicity / J. Mori, V.B. Patel, T. Ramprasath [et al.] // American Journal of Physiology – Renal Physiology. – 2014. – Vol.306, №8. – P. F812–F821.
209. Angiotensin II receptor blockade inhibits acute glomerular injuries with the alteration of receptor expression / A. Mii, A. Shimizu, Y. Masuda [et al.] // Lab Invest. – 2009. – Vol.89, №2. – P. 164–177.
210. Angiotensin II stimulates the synthesis of vascular endothelial growth factor through the p38 mitogen activated protein kinase pathway in cultured mouse podocytes / Y.S. Kang, Y.G. Park, B.K. Kim [et al.] // J Mol Endocrinology. – 2006. – Vol.36. – P. 377–388.
211. Angiotensin subtype-2 receptors inhibit rennin biosynthesis and angiotensin II formation / [H.M. Siragy, C. Xue, P. Abadir, R.M. Carey] // Hypertension. – 2005. – Vol.45, №1. – P. 133–137.
212. Anti-albuminuric effect of the aldosterone blocker eplerenone in non-diabetic hypertensive patients with albuminuria: a double-blind, randomised, placebo-controlled trial / K. Ando, H. Ohtsu, S. Uchida [et al.] // The Lancet Diabetes & Endocrinology. – 2014. – Vol.2, №12. – P. 944–953.
213. Antiproteinuric effects of angiotensin receptor blockers: telmisartan versus valsartan in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus and overt



- nephropathy / J. Galle, E. Schwedhelm, S. Pinnetti [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2008. – Vol.23, №10. – P. 3174–3183.
214. Aparicio M. Keto-acid therapy in predialysis chronic kidney disease patients: consensus statements / M. Aparicio, N.J. Cano, A. Cupisti [et al.] // *J. Ren. Nutr.* – 2009. – Vol.19, Issue 5. – P. 33–35.
215. ATP-dependent potassium channel blockade strengthens microglial neuroprotection after hypoxia-ischemia in rats / F.J. Ortega, J. Gimeno-Bayon, J.F. Espinosa-Parrilla [et al.] // *Exp Neurol.* – 2012. – Vol.235, №1. – P. 282–296.
216. ATP-sensitive  $K^+$  channel channel/enzyme multimer: metabolic gating in the heart / A.E. Alekseev, D.M. Hodgson, A.B. Karger [et al.] // *J Moll Cell Cardiol.* – 2005. – Vol.38, №6. – P. 895–905.
217. ATP-sensitive  $K^+$  channels in the mitochondrial inner membrane / [I. Inoue, H. Nagase, K. Kishi, T. Higuti] // *Nature.* – 1991. – Vol.352, №6332. – P. 244–247.
218. Azelnidipine reduces urinary protein excretion and urinary liver-type fatty acid binding protein in patients with hypertensive chronic kidney disease / T. Nakamura, T. Sugaya, Y. Kawagoe [et al.] // *Am J Med Sci.* – 2007. – Vol.333, №6. – P. 321–326.
219. Babenko A.P. SUR-dependent modulation of  $K_{ATP}$  channels by an N-terminal KIR6.2 peptide. Defining intersubunit gating interactions / A.P. Babenko, J. Bryan // *J Biol Chem.* – 2002. – Vol.277, №46. – P. 4397–4004.
220. Baines R.J. Tubular toxicity of proteinuria / R.J. Baines, N.J. Brunskill // *Nat Rev Nephrol.* – 2011. – Vol.7, №3. – P. 177–180.
221. Bakris G. Are there effects of renin-angiotensin system antagonists beyond blood pressure control? / G. Bakris // *Am J Cardiol.* – 2010. – Vol.105, №1. – P. 21A–29A.
222. Bakris G.L. Slowing nephropathy progression: focus on proteinuria reduction / G.L. Bakris // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2008. – №3. – P. 3–10.
223. Baltatzi M. Role of angiotensin converting enzyme inhibitors and angiotensin receptor blockers in hypertension of chronic kidney disease and renoprotection.

- Study results / M. Baltatzi, Ch. Savopoulos, A. Hatzitolios // *Hippokratia*. – 2011. – Vol.15, Suppl 1. – P. 27–32.
224. Basile D.P. Pathophysiology of acute kidney injury / D.P. Basile, M.D. Anderson, T.A. Sutton // *Compr Physiol*. – 2012. – Vol.2, №2. – P. 1303–1353.
225. Berl T. Review: renal protection by inhibition of the renin-angiotensin-aldosterone system / T. Berl // *J Renin Angiotensin Aldosterone Syst*. – 2009. – Vol.10, №1. – P. 1–8.
226. Beta-blockers, trimethoprim-sulfamethoxazole, and the risk of hyperkalemia requiring hospitalization in the elderly: a nested case-control study / M.A. Weir, D.N. Juurlink, T. Gomes [et al.] // *Clin J Am Soc Nephrol*. – 2010. – Vol.5, №9. – P. 1544–1551.
227. Blocking the RAAS at different levels: an update on the use of the direct renin inhibitors alone and in combination / F. Cagnoni, C.A.N. Njwe, A. Zaninelli [et al.] // *Vasc Health Risk Manag*. – 2010. – Vol.6. – P. 549–559.
228. Blood-pressure control for renoprotection in patients with non-diabetic chronic renal disease (REIN-2): multicentre, randomised controlled trial / P. Ruggenenti, A. Perna, G. Loriga [et al.] // *Lancet*. – 2005. – Vol.365. – P. 939–946.
229. Bone marrow stem cells contribute to repair of the ischemically injured renal tubule / S. Kale, A. Karihaloo, P.L. Clark [et al.]. // *J. Clin. Invest*. – 2003. – Vol.112, №1. – P. 42–49.
230. Bonny O. Circadian regulation of renal function and potential role in hypertension / O. Bonny, D. Firsov // *Curr Opin Nephrol Hypertens*. – 2013 – Vol.22, №4. – P. 439–444.
231. Bonventre J.V. Pathophysiology of AKI: injury and normal and abnormal repair / J.V. Bonventre // *Contrib Nephrol*. – 2010. – Vol.165. – P. 9–17.
232. Boudoulas K.D. Beyond membrane channelopathies: alternative mechanisms underlying complex human disease / K.D. Boudoulas, P.J. Mohler // *Acta Pharmacol Sin*. – 2011. – Vol.32, №6. – P. 798–804.

233. Braden G.L. Tubulointerstitial diseases / G.L. Braden, M.H. O'Shea, J.G. Mulhern // *Am J Kidney Dis.* – 2005. – Vol.46, №3. – P. 560–572.
234. Bramlage P. Differences in pharmacology and their translation into differences in clinical efficacy – a comparison of the renin angiotensin blocking agents irbersartan and losartan / P. Bramlage, C. Schindler // *Expert Opin Pharmacother.* – 2010. – Vol.11, №4. – P. 521–535.
235. Brosnahan G. Chronic kidney disease: whom to screen and how to treat, part 1: definition, epidemiology, and laboratory testing / G. Brosnahan, M. Fraer // *South Med J.* – 2010. – Vol.103, №2. – P.140–146.
236. Brosnahan G. Management of chronic kidney disease: what is the evidence? / G. Brosnahan, M. Fraer // *South Med J.* – 2010. – Vol.103, №3. – P. 222–230.
237. Burnier M. Renal protection with calcium antagonists: the role of lercanidipine / M. Burnier // *Current medical research and opinion.* – 2013. – Vol.29, №12. – P. 1727–1735.
238. Calcium channel blockers and renal disease / [ed. by N.R. Robles]: Nova Science Publishers. Series: Cerebrovascular Research and Disorders. – 2009. – 181 p.
239. Camerino D.C. Ion Channel Pharmacology / D.C. Camerino, D. Tricarico, J-F. Desaphy // *Neurotherapeutics.* – 2007. – Vol.4. – P. 184–198.
240. Cardioprotective effects of flocalin in vivo experiments: influence on the hemodynamic and on the damage of myocardium under ischemia-reperfusion / R.B. Strutynskyi, A.P. Neshcheret, L.V. Tumanovska [et al.] // *Int. J. Phys. Pathophys.* – 2010. – Vol.1, №3. – P. 211–218.
241. Cardioprotective effects of potassium channel openers on rat atria and isolated hearts under acute hypoxia / J.K.Y. Law, C.K. Yeung, J. Frisch [et al.] // *J. Phys. Pharm. Adv.* – 2012. – Vol.2, №1. – P. 41–48.
242. Cardioprotective mechanisms of spironolactone associated with the angiotensin-converting enzyme/epidermal growth factor receptor/extracellular signal-regulated kinases, NAD(P)H oxidase/lectin-like oxidized low-density lipoprotein receptor-1, and rho-kinase pathways in aldosterone/salt-induced

- hypertensive rats /S. Nakano, N. Kobayashi, K. Yoshida [et al.] // Hypertension Research. – 2005. – Vol.28. – P. 925–936.
243. Castle N.A. Pharmacological modulation of voltage-gated potassium channels as a therapeutic strategy / N.A. Castle // Expert Opin Ther Pat. – 2010. – Vol.20, №11. – P. 1471–503.
  244. Cells of renin lineage are progenitors of podocytes and parietal epithelial cells in experimental glomerular disease / J.W. Pippin, M.A. Sparks, S.T. Glenn [et al.] // Am J Pathol. – 2013. – Vol.183, №2. – P. 542–547.
  245. Chen J.B. A comparison of progression of chronic renal failure: low dose vs standard dose ketoacids / J.B. Chen, B.C. Cheng, T.W. Kao // Kidney Research and Clinical Practice. – 2012. – Vol.31, Issue 2. – P. 24.
  246. Cherla G. Role of L-arginine in the pathogenesis and treatment of renal disease / G. Cherla, E.A. Jaimes // Journal of Nutrition. – 2004. – Vol.134, Suppl 10. – P. 2801–2806.
  247. Chronic kidney disease and clinical outcome in patients with acute stroke / G. Yahalom, R. Schwartz, Y. Schwammenthal [et al.] // Stroke. – 2009. – №40. – P. 1296–1303.
  248. Circadian expression of Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup>exchanger NHE 3 in the mouse renal medulla / H. Nishinaga, R. Komatsu, M. Doi [et al.] // Biomed Res. – 2009. – Vol.30, №2. – P. 87–93.
  249. Circadian rhythms in renal function in hypertensive TGR(mRen-2)<sup>27</sup> rats and their normotensive controls / M. Pons, A. Schnecko, K.Witte [et al.] // Am J Physiol. – Vol.271, №4 (Pt 2). – P. 1002–1008.
  250. Closure of multiple types of K<sup>+</sup> channels is necessary to induce changes in renal vascular resistance in vivo in rats / C.M. Sorensen, I. Giese, T.H. Braunstein [et al.] // Pflügers Archiv. – 2011. – Vol.462, Issue 5. – P. 655–667.
  251. Common pathophysiological mechanisms of chronic kidney disease: Therapeutic perspectives / J.M. López-Novoa, C. Martínez-Salgado,

- A.B. Rodríguez-Peña [et al.] // Pharmacol Ther. – 2010. – Vol.128, №1. – P. 61–81.
252. Comparative effect of direct renin inhibition and AT1R blockade on glomerular filtration barrier injury in transgenic Ren2 rat / A. Whaley-Connel, R. Nistala, J. Habibi [et al.] // Am J Physiol Renal Physiol. – 2010. – Vol.298, №3. – P. 655–661.
253. Comparison of the antiproteinuric effects of the calcium channel blockers benidipine and amlodipine administered in combination with angiotensin receptor blockers to hypertensive patients with stage 3-5 chronic kidney disease / M. Abe, K. Okada, T. Maruyama [et al.] // Hypertens Res. – 2009. – Vol.32, №4. – P. 270–275.
254. Comparison of the effects of three angiotensin II receptor type 1 blockers on metabolic parameters in hypertensive patients with type 2 diabetes mellitus / N. Ozaki, Y. Nomura, H. Sobajima [et al.] // Eur J Intern Med. – 2010. – Vol.21, №3. – P. 236–239.
255. Contrast-induced kidney injury: mechanisms, risk factors, and prevention / [E. Seeliger, M. Sendeski, C.S. Rihal, P.B. Persson] // European Heart Journal. – 2012. – Vol.33, №16 – P. 2007-2015.
256. Current concepts in combination therapy for the treatment of hypertension: combined calcium channel blockers and RAAS inhibitors / [A.F. Rubio-Guerra, D. Castro-Serna, C.I. Barrera, L.M. Ramos-Brizuela] // Integr Blood Press Control. – 2009. – №2. – P. 55–62.
257. Cytokine cooperation in renal tubular cell injury: the role of TWEAK / P. Justo, A.B. Sanz, M.D. Sanchez-Niño [et al.] // Kidney Int. – 2006. – Vol.70, №10. – P. 1750–1758.
258. Czarniak P. Treatment strategies to prevent renal damage in hypertensive children / P. Czarniak, A. Zurowska // Curr Hypertens Rep. – 2014. – Vol.16, №4. – P. 423.

259. Davidson S.M. Endothelial mitochondria contributing to vascular function and disease / S.M. Davidson, M.R. Duchon // *Circulat. Res.* – 2007. – Vol.100, №8. – P. 1128–1141.
260. De Broe M.E. Clinical nephrotoxins: renal injury from drugs and chemicals / M.E. de Broe, G.A. Porter. – Springer, 3rd ed., 2008. – 987 p.
261. Delayed pharmacological pre-conditioning effect of mitochondrial ATP-sensitive potassium channel opener on neurologic injury in a rabbit model of spinal cord ischemia / [K.O. Kim, G. Choe, S.H. Chung, C.S. Kim] // *Acta Anaesthesiol Scand.* – 2008. – Vol.52, №2. – P. 236–242.
262. Design and rationale of Japanese evaluation between Formula of Azelnidipine and amlodipine add on olmesartan to Get antialbuminuric effect study (J-FLAG): evaluation of the antialbuminuric effects between calcium channel blocker with sympatholytic action in hypertensive patients with diabetes and albuminuria / K. Ando, M. Haneda, S. Ito [et al.] // *Cardiovasc Drugs Ther.* – 2011. – Vol.25, №4. – P. 341–347.
263. Devarajan P. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin – an emerging troponin for kidney injury / P. Devarajan // *Nephrol Dial Transplant.* – 2008. – №23. – P. 3737–3743.
264. Devarajan P. Update on mechanisms of ischemic acute kidney injury / P. Devarajan // *JASN.* – 2006. – Vol.17, №6. – P. 1503–1520.
265. Diabetic nephropathy and proximal tubular damage / [S.C. Tang, W.H. Yiu, M. Lin, K.N. Lai] // *J Ren Nutr.* – 2015. – Vol.25, №2. – P. 230–233.
266. Diazoxide attenuates hypothermic preservation-induced renal injury via down-regulation of CHOP and caspase-12 / L. Xu, F. Han, A. Mandal [et al.] // *Dialysis Transplantation.* – 2010. – Vol.25, №12. – P. 3859–3867.
267. Dimethylarginine dimethylaminohydrolase prevents progression of renal dysfunction by inhibiting loss of peritubular capillaries and tubulointerstitial fibrosis in a rat model of chronic kidney disease / Y. Matsumoto, S. Ueda, S. Yamagishi [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2007. – Vol.18, №5. – P. 1525–1533.

268. Direct relationship between levels of TNF-alpha expression and endothelial dysfunction in reperfusion injury / C. Zhang, J. Wu, X. Xu [et al.] // *Basic Res Cardiol.* – 2010. – Vol.105, №4. – P. 453-464.
269. Discovery of metabolomics biomarkers for early detection of nephrotoxicity / *Toxicologic Pathology* // K.J. Boudonck, M.W. Mitchell, L. Német [et al.] – 2009. – Vol.37, №3. – P. 280–292.
270. Diuretic effect induced by intrarenal infusion of pinacidil in anesthetized dogs / S. Morimoto, Y. Matsumura, Y. Sasaki [et al.] // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* – 1987. – Vol. 242, №3. – P. 1050–1055.
271. Divers J. Susceptibility genes in common complex kidney disease / J. Divers, B.I. Freedman // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2010. – Vol.19, №1. – P. 79–84.
272. Domain reorientation and rotation of an intracellular assembly regulate conduction in Kir potassium channels / O.B. Clarke, A.T. Caputo, A.P. Hill [et al.] // *Cell.* – 2010. – №141. – P. 1018–1029.
273. Eardley K.S. Macrophages and progressive tubulointerstitial disease / K.S. Eardley, P. Cockwell // *Kidney International.* – 2005. – №68. – P. 437–455.
274. Early detection of acute renal failure by serum cystatin C / S. Herget-Rosenthal, G. Marggraf, J. Hüsing [et al.] // *Kidney Int.* – 2004. – №66. – P. 1115–1122.
275. Effect of atorvastatin on kidney function in chronic kidney disease: a randomised double-blind placebo-controlled trial / R.G. Fassett, I.K. Robertson, M.J. Ball [et al.] // *Atherosclerosis.* – 2010. – Vol.213. – P. 218–224.
276. Effect of eplerenone, a selective aldosterone blocker, on the development of diabetic nephropathy in type 2 diabetic rats / J.H. Ahn, H.C. Hong, M.J. Cho [et al.] // *Diabetes Metab J.* – 2012. – Vol.36, №2. – P. 128–135.
277. Effects of hypoxia on renin secretion and renal renin gene expression / B.K. Krämer, T. Ritthaler, F. Schweda [et al.] // *Kidney International.* – 1998. – Vol.54. – P. 155–158.

278. Effect of pentoxifylline on proteinuria, markers of tubular injury and oxidative stress in non-diabetic patients with chronic kidney disease: placebo controlled, randomized, cross-over study / M. Renke, L. Tylicki, P. Rutkowski [et al.] // *Acta Biochim Pol.* – 2010. – Vol.57. – P. 119–123.
279. Effect of statin therapy on cardiovascular and renal outcomes in patients with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis / W. Hou, J. Lv, V. Perkovic [et al.] // *Eur Heart J.* – 2013. – Vol.34, №24. – P. 1807–1817.
280. Effect of treatment of high fat fed/low dose streptozocin-diabetic rats with lilepatril on vascular and neural complications / E.P. Davidson, L.J. Coppey, A. Holmes [et al.] // *European Journal of Pharmacology.* – 2011. – Vol.668. – P. 497–506.
281. Effects of carvedilol as third-line add-on therapy on blood pressure and glucose metabolism in type 2 diabetic patients with chronic renal disease stage 3 and above / [G. Yasuda, K. Yatsu, Y. Yamamoto, N. Hirawa] // *Kidney Blood Press Res.* – 2012. – Vol.36. – P. 131–138.
282. Effects of iptakalim on endothelin-1-induced pulmonary hypertension in rats / [H. Wang, W.P. Xie, H. Wang, G. Hu] // *The Chinese Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics.* – 2005. – Issue 1. – P. 9–14.
283. Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative flocalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels / [O. Voitychuk, R. Strutynskyi, O. Moibenko, Y. Shuba] // *NSAP.* – 2012. – Vol.385, №11. – P. 1095–1102.
284. Egan C.G. Role of the fixed-dose combination lercanidipine-enalapril in renal protection / C.G. Egan, R. Pontremoli // *J Nephrol.* – 2011. – Vol.24, №4. – P. 428–437.
285. Elliott W.J. Calcium channel blockers / W.J. Elliott, C. Venkata, S. Ram // *Journal of Clinical Hypertension.* – 2011. – Vol.13, Issue 9. – P. 687–689.
286. Emerging drugs which target the renin-angiotensin-aldosterone system / [U.M. Steckelings, L. Paulis, T. Unger, M. Bader] // *Expert Opin Emerg Drugs.* – 2011. – Vol.16, №4. – P. 619–630.



287. Endogenous urokinase lacks antifibrotic activity during progressive renal injury / I. Yamaguchi, J.M. Lopez-Guisa, X. Cai [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2007. – Vol.293, №1. – P. 12–19.
288. Enkvetchakul D. Gating mechanism of  $K_{ATP}$  channels: function fits form / D. Enkvetchakul, C.G. Nichols // *J Gen Physiol.* – 2003. – Vol.122, №5. – P. 471–480.
289. Erkan E. Proteinuria and progression of glomerular diseases / E. Erkan // *Pediatr Nephrol.* – 2013. – Vol.28, №7. – P. 1049–1058.
290. Estimated glomerular filtration rate, inflammation, and cardiovascular events after an acute coronary syndrome / L.M. Mielniczuk, M.A. Pfeffer, E.F. Lewis [et al.] // *Am Heart J.* – 2008. – Vol.155, №4. – P.725–731.
291. Etiopathology of chronic tubular, glomerular and renovascular nephropathies: Clinical implications [электронный ресурс] / J.M. López-Novoa, A.B Rodríguez-Peña, A. Ortiz [et al.] // *J Transl Med.* – 2011. – Vol.9:13. <http://www.translational-medicine.com/content/9/1/13> (дата звернення: 21.09.2015).
292. European convention for the protection of vertebrate animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe 18.03.1986. – Strasbourg, 1986. – №123. – 52 p.
293. Evaluation of role of Low Molecular Weight Heparin and Vitamin E on renal functions in patients with diabetic nephropathy // [H.K. Aggarwal, D. Jain, S. Sindhu, R. Yadav] // *Dicle Medical Journal.* – 2011. – Vol.38, №2. – P. 129–133.
294. Evaluation of the usefulness of urinary biomarkers for nephrotoxicity in rats / [Y. Tonomura, N. Tsuchiya, M. Torii, T. Uehara] // *Toxicology.* – 2010. – Vol.273, №1–3. – P. 53–59.
295. Feig D.I. Uric acid: a novel mediator and marker of risk in chronic kidney disease? / D.I. Feig // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2009. – Vol.18, №6. – P. 526–530.

296. Ferdinand K.C. A Review of the antihypertensive and renal-protective effects of irbesartan / K.C. Ferdinand // US Cardiology. – 2010. – Vol.7, Issue 2. – P. 25–33.
297. Fervenza F.C. Idiopathic membranous nephropathy: diagnosis and treatment / F.C. Fervenza, S. Sethi, U. Specks // CJASN. – 2008. – Vol.3, №3. – P. 905–919.
298. Fractional urinary excretion of IgG is the most powerful predictor of renoprotection by ACE inhibitors in IgA nephropathy / C. Bazzi, V. Rizza, M. Paparella [et al.] // J NEPHROL. – 2009. – Vol.22. – P. 387–396.
299. Functional analysis of a structural model of the ATP-binding site of the K<sub>ATP</sub> channel Kir6.2 subunit / J.F. Antcliff, S. Haider, P. Proks [et al.] // EMBO J. – 2005. – Vol.24, №2. – P. 229–239.
300. Ganesh A. Management of chronic kidney disease and end-stage renal disease in diabetes / A. Ganesh, K. Lee // UBCMJ. – 2011. – Vol.3, №1. – P. 13–16.
301. García-Sánchez O. An integrative view on the role of TGF-beta in the progressive tubular deletion associated with chronic kidney disease / O. García-Sánchez, F.J. López-Hernández, J.M. Lopez-Novoa // Kidney Int. – 2010. – Vol.77, №11. – P. 950–955.
302. Glomerular filtration rate, proteinuria, and the incidence and consequences of acute kidney injury: a cohort study / M.T. James, B.R. Hemmelgarn, N. Wiebe [et al.] // The Lancet. – 2010. – Vol.376, №9758. – P. 2096–2103.
303. Gorriz J.L. Proteinuria: detection and role in native renal disease progression / J.L. Gorriz, A. Martinez-Castelao // Transplantation Reviews. – 2012. – Vol.26, №1. – P. 3–13.
304. Grande M.T. Fibroblast activation and myofibroblast generation in obstructive nephropathy / M.T. Grande, J.M. López-Novoa // Nat Rev Nephrol. – 2009. – Vol.5, №6. – P. 319–328.
305. Griffin K.A. Potential risks of calcium channel blockers in chronic kidney disease / K.A. Griffin, A.K. Bidani // Current Cardiology Reports. – 2008. – Vol.10, Issue 6. – P. 448–455.

306. Haase V.H. Mechanisms of hypoxia responses in renal tissue / V.H. Haase // ASN. – 2013. – Vol.24, №4. – P. 537–541.
307. Haase V.H. Pathophysiological Consequences of HIF Activation: HIF as a modulator of fibrosis / V.H. Haase // Ann N Y Acad Sci. – 2009. – Vol.1177. – P. 57–65.
308. Hamed A.T. Renoprotective effect of aliskiren monotherapy and aliskiren-pentoxifylline combination in hypertensive-diabetic type 2 patients with diabetic nephropathy / A.T. Hamed, M.M. Taha, L.M. Nasser // Bulletin of Faculty of Pharmacy, Cairo University. – 2013. – Vol.51, Issue 2. – P. 221–227.
309. Hart P. Calcium antagonists: Do they equally protect against kidney injury? / P. Hart, G.L. Bakris // Kidney Int. – 2008. – Vol.73, №7. – P. 795–796.
310. Hart P.D. Should  $\beta$ -blockers be used to control hypertension in people with chronic kidney disease? / P.D. Hart, G.L. Bakris // Seminars in Nephrology. – 2007. – Vol.27, №5. – P. 555–564.
311. Hayashi K. L-/T-type Ca channel blockers for kidney protection: ready for sophisticated use of Ca channel blockers / K. Hayashi // Hypertens Res. – 2011. – Vol.34, №8. – P. 910–912.
312. Herbal treatments of glomerulonephritis and chronic renal failure: Review and recommendations for research / R. Nowack, F. Flores-Suarez, R. Birck [et al.] // Journal of Pharmacognosy and Phytotherapy. – 2011. – Vol.3, №9. – P. 124–136.
313. Hilde R.H. Biomarkers for the prediction of acute kidney injury: a narrative review on current status and future challenges / R.H. Hilde, G. Michiel, J. Bakker // Clinical Kidney Journal. – 2012. – Vol.5, Issue 2. – P. 102–108.
314. Histologic alterations of rat kidneys perfused with a euro-collins diltiazem solution / [F. Meyer, J.N. Lizana, L.F. Dziedricki, L.F. Bleggi-Torres] // Acta Cir. Bras. – 2010. – Vol.25, №6. – P. 496–500.
315. Hodgkins K.S. Tubulointerstitial injury and the progression of chronic kidney disease / K.S. Hodgkins, H.W. Schnaper // Pediatr Nephrol. – 2012. – Vol.27, №6. – P. 901–909.

316. Hou S. Modulation of BKCa Channel Gating by Endogenous Signaling Molecules / S. Hou, S.H. Heinemann, T. Hoshi // *Physiology*. – 2009. – №24. – P. 26–35.
317. Humphries B.D. Mesenchymal stem cells in acute kidney injury / B.D. Humphries, J.V. Bonventre // *Annu. Rev. Med.* – 2008. – Vol.59. – P. 11–25.
318. Hyperuricemia is a significant risk factor for the onset of chronic kidney disease / [A. Toda, Y. Ishizaka, M. Tani, M. Yamakado] // *Nephron Clin Pract.* – 2014. – Vol.126, №1. – P. 33–38.
319. Hypoxia and fibrosis in chronic kidney disease: crossing at pericytes / T. Kawakami, I. Mimura, K. Shoji [et al.] // *Kidney International Supplements*. – 2014. – Vol.4. – P. 107–112.
320. Incidence and prognostic importance of acute renal failure after percutaneous coronary intervention / C.S. Rihal, S.C. Textor, D.E. Grill [et al.] // *Circulation*. – 2002. – Vol.105, №19. – P. 2259–2264.
321. Increased mitochondrial KATP channel activity during chronic myocardial hypoxia. Is cardioprotection mediated by improved bioenergetics? / J.T. Ells, M.M. Henry, G.J. Gross [et al.] // *Circulat. Res.* – 2000. – Vol.87, №10. – P. 915–921.
322. Inhibition of integrin-linked kinase blocks podocyte epithelial-mesenchymal transition and ameliorates proteinuria / Y.S. Kang, Y. Li, C. Dai [et al.] // *Kidney Int.* – 2010. – Vol.78, №4. – P. 363–373.
323. Interleukin 18 and Interleukin 18 Binding Protein: Possible Role in Immunosuppression of Chronic Renal Failure / [C. Dinarello, D. Novick, M. Rubinstein, G. Lonnemann] // *Blood Purif.* – 2003. – Vol.21. – P. 258–270.
324. Interleukin-18 binding protein transgenic mice are protected against ischemic acute kidney injury / Z. He, L. Lu, C. Altmann [et al.] // *American Journal of Physiology–Renal Physiology*. – 2008. – Vol.295, №5. – P. 1414–1421.
325. International Union of Pharmacology. LIII. Nomenclature and molecular relationships of voltage-gated potassium channels / G.A. Gutman,

- K.G. Chandy, S. Grissmer [et al.] // *Pharmacol Rev.* – 2005. – Vol.57. – P. 1061–1067.
326. Interstitial, tubular and vascular factors in progression of primary glomerulonephritis / K. Okoń, W. Sułowicz, O. Smoleński [et al.] // *Pol J Pathol.* – 2007. – Vol.58, №2. – P.73–78.
327. Intrinsic epithelial cells repair the kidney after injury / B.D. Humphreys, M.T. Valerius, A. Kobayashi // *Cell Stem Cell.* – 2008. – Vol.2, №3. – P. 284–291.
328. Investigation of possible prophylactic, renoprotective, and cardioprotective effects of thromboprophylactic drugs against ischemia-reperfusion injury / S. Demirtas, O. Karahan, S. Yazıcı [et al.] // *Kaohsiung J Med Sci.* – 2015. – Vol.31, №3. – P. 115–122.
329. Inward rectifier  $K^+$  currents Kir2.1 expression in renal afferent and efferent arterioles // L. Chilton, K. Loutzenhiser, E. Morales [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2008. – Vol.19, №1. – P.69–76.
330. Ion-channel modulators: more diversity than previously thought / S. Dilly, C. Lamy, Nv. Marrio [et al.] // *ChemBioChem.* – 2011. – Vol.12, №12. – P. 1808–1812.
331. Iptakalim inhibited endothelin-1-induced proliferation of human pulmonary arterial smooth muscle cells through the activation of K (ATP) channel / Y. Zhu, S. Zhang, W. Xie [et al.] // *Vascular Pharmacology.* – 2008. – Vol.48, №2-3. – P. 92–99.
332. Iptakalim: A novel multi-utility potassium channel opener / P. Sikka, S. Kapoor, V.K. Bindra [et al.] // *Journal of Pharmacology and Pharmacotherapeutics.* – 2012. – Vol.3, №1. – P. 12–14.
333. Irbersartan inhibits advanced glycation end product (AGE) – induced proximal tubular cell injury in vitro by suppressing receptor for AGEs (RAGE) expression / T. Matsui, S. Yamagishi, M. Takeuchi [et al.] // *Pharmacol Res.* – 2010. – Vol.61, №1. – P. 34–39.
334. Jörres A. Management of acute kidney problems / A. Jörres, C. Ronco, J.A. Kellum. – Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 2010. – 667 p.

335. Klahr S. L-arginine as a therapeutic tool in kidney disease / S. Klahr, J. Morrissey // *Semin Nephrol.* – 2004. – Vol.24, №4. – P. 389–394.
336.  $K_{ATP}$  activation prevents progression of cardiac hypertrophy to failure induced by pressure overload via protecting endothelial function / S. Gao, C.L. Long, R.H. Wang [et al.] // *Cardiovascular Research.* – 2009. – Vol.83, №3. – P. 444–456.
337.  $K_{ATP}$  channel openers may protect MOG-G-UVW cells from hypoxia mimetic insult induced by CoCl / J. Zhang, M. Khudheyer, J. Nowak [et al.] // *Life Science Journal.* – 2012. – Vol.9, №4. – P. 2026–2034.
338. Kiang J.G. Biology of Hypoxia / J.G. Kiang, K.T. Tsen // *J Physiol.* – 2006. – Vol.49, №5. – P. 223–233.
339. Kidney injury molecule-1 expression in rat proximal tubule after treatment with segment-specific nephrotoxics: a tool for early screening of potential kidney toxicity / A. Trevisan, A. Chiusolo R. Defazio [et al.] // *Toxicologic Pathology.* – 2010. – Vol.38, №3. – P. 338–345.
340. Kidney injury molecule-1 is a phosphatidylserine receptor that confers a phagocytic phenotype on epithelial cells / T. Ichimura, E.J. Asselton, B.D. Humphreys [et al.] // *J Clin Invest.* – 2008. – Vol.118, №5. – P. 1657–1668.
341. Kimura G. Kidney and circadian blood pressure rhythm / G. Kimura // *Hypertension.* – 2008. – Vol.51. – P. 827–828.
342. Kir6.2-containing ATP-sensitive potassium channels protect cortical neurons from ischemic/anoxic injury in vitro and in vivo / H.S. Sun, Z.P. Feng, P.A. Barber [et al.] // *Neuroscience.* – 2007. – Vol.144, №4. – P. 1509–1510.
343. Kir6.2-deficient mice are susceptible to stimulated ANP secretion:  $K_{ATP}$  channel acts as a negative feedback mechanism? / N. Saegusa, T. Sato, T. Saito [et al.] // *Cardiovasc Res.* – 2005. – Vol.67, №1. – P. 60–68.
344. Kobori H. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease / [H. Kobori, M. Nangaku, L.G. Navar, A. Nishiyama] // *Pharmacol Rev.* – 2007. – Vol.59, №3. – P. 251–287.
345. Kocic I. Potassium channels as a target for clinical therapeutics / I. Kocic. – Bentham Books, Medical University of Gdansk, 2012. – 98 p.

346. Komlosi P. Tubuloglomerular feedback mechanisms in nephron segments beyond the macula densa / P. Komlosi, P.D. Bell, Z.R. Zhang // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2009. – Vol.18, №1. – P. 57–62.
347. Koren-Morag N. Renal dysfunction and risk of ischemic stroke or TIA in patients with cardiovascular disease / N. Koren-Morag, U. Goldbourt, D. Tanne // *Neurology.* – 2006. – Vol. 67, №2. – P. 224–228.
348. Lattanzio M.R. Acute kidney injury: new concepts in definition, diagnosis, pathophysiology, and treatment / M.R. Lattanzio, N.P. Kopyt // *J Am Osteopath Assoc.* – 2009. – Vol.109, №1. – P. 13–19.
349. Lea W.B. Aldosterone antagonism or synthase inhibition reduces end-organ damage induced by treatment with angiotensin and high salt / W.B. Lea, E.S. Kwak, J.M. Luther // *Kidney International.* – 2009. – Vol.75. – P. 936–944.
350. Lecarnidipin in patients with chronic renal failure: the ZAFRA Study / N.R. Robeles, J. Ocon, C.F. Gomez [et al.] // *Renal Failure.* – 2005. – Vol.27, №1. – P. 73–80.
351. Lee H.S. Differential role of mesangial cells and podocytes in TGF- $\beta$ -induced mesangial matrix synthesis in chronic glomerular disease / H.S. Lee, C.Y. Song // *Histol Histopathol.* – 2009. – Vol.24. – P. 901–908.
352. Lee T.M. Effect of nicorandil on proteinuria in well controlled hypertensive patients / T.M. Lee, N.C. Chang // *J Hypertens.* – 2009. – Vol.27, №3. – P. 618–625.
353. Lee C.H. Minoxidil-Related Renal Function Deterioration and Pulmonary Edema / C.H. Lee, K.S. Chen, H.H. Kao // *Acta Nephrologica.* – 2011. – Vol.25, №1. – P. 33–36.
354. Leendert C.P. Glomerular hypertension – an underappreciated aspect of chronic rejection / C.P. Leendert // *Nephrol Dial Transplant.* – 2001. – Vol.16, Suppl 1. – P. 213–229.
355. Lehmann J. Antihypertensive drugs in the pipeline / J. Lehmann // *PHARMAKON.* – 2013. – Vol.1, №5. – P. 420–424.

356. Lerman L.O. Mechanisms of tissue injury in renal artery stenosis: ischemia and beyond / L.O. Lerman, S.C. Textor, J.P. Grande // *Prog Cardiovasc Dis.* – 2009. – Vol.52, №3. – P. 196–203.
357. Liang C.-K. The design of a prospective, randomized, open-labeled study to compare the efficacy of lercanidipine with amlodipine on renal function in hypertensive patients aged at least 55 years (LEADER study) / C.-K. Liang, M.-Y. Chou, L.-N. Peng // *Journal of Clinical Gerontology and Geriatrics.* – 2011. – Vol.2, Issue 3. – P. 88–92.
358. Lisinopril attenuates renal oxidative injury in L-NAME-induced hypertensive rats / F. Oktem, A. Kirbas, A. Armagan [et al.] // *Mol Cell Biochem.* – 2011. – Vol.352, №1-2. – P. 247–253.
359. Liu Y. Renal fibrosis: new insights into the pathogenesis and therapeutics / Y. Liu // *Kidney Int* 2006. – Vol.69, №2. – P. 213–217.
360. Longaretti L. Endothelin receptor selectivity in chronic renal failure / L. Longaretti, A. Benigni // *Eur J Clin Invest.* – 2009. – Vol.39, Suppl 2. – P. 32–37.
361. López-Hernández F.J. The lord of the ring: Mandatory role of the kidney in drug therapy of hypertension / F.J López-Hernández, J.M. López-Novoa // *Pharmacol Ther.* – 2006. – Vol.111, №1. – P. 53–80.
362. López-Novoa J.M. Inflammation and EMT: an alliance towards organ fibrosis and cancer progression / J.M. López-Novoa, M.A. Nieto // *EMBO Mol Med.* – 2009. – Vol.1, №6-7. – P. 303–314.
363. Lucas C. RAAS intervention in chronic kidney disease / C. Lucas // *Port J Nephrol Hypert.* – 2013. – Vol.27, №3. – P. 163–171.
364. Mac Kinnon R. Potassium channels /R. Mac Kinnon // *FEBS Letters.* – 2003. – Vol.555, Issue 1. – P. 602–605.
365. Martinez-Maldonado M. Role of hypertension in the progression of chronic renal disease / M. Martinez-Maldonado // *Nephrol Dial Transplant.* – 2001. – Vol.16, Suppl 1. – P. 63–66.



366. McCully J.D. The mitochondrial  $K_{ATP}$  channel and cardioprotection / J.D. McCully, S. Levitsky // *Ann. Thorac. Surg.* – 2003. – Vol.75, №2. – P. 667–673.
367. Mechanisms of renal apoptosis in health and disease / A.B. Sanz, B. Santamaria, M.R. Ortega [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2008. – Vol.19, №9. – P. 1634–1642.
368. Mechanistic view of renal protective action of calcium channel blockade / N. Sugano, K. Hayashi, T. Hosoya [et al.] // *Current Hypertension Reviews.* – 2014. – Vol.9, №3. – P. 187–192.
369. Medical practice patterns and socio-economic factors may explain geographical variation of end-stage renal disease incidence / C. Couchoud, C. Guihenneuc, F. Bayer [et al.] // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2012. – Vol.27, №6. – P. 2312–2322.
370. Meta-analysis: effect of monotherapy and combination therapy with inhibitors of the renin angiotensin system on proteinuria in renal disease / R. Kunz, C. Friedrich, M. Wolbers [et al.] // *Ann Intern Med.* – 2008. – Vol.148, №1. – P. 30–48.
371. Metabolic syndrome and kidney disease: a systematic review and meta-analysis / G. Thomas, A.R. Sehgal, S.R. Kashyap [et al.] // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2011. – Vol.6, №10. – P. 2364–2373.
372. Meyer K.B. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: report from the National Kidney Foundation Task Force on cardiovascular disease / K.B. Meyer, A.S. Levey // *J Am Soc Nephrol.* – 1998. – Vol.9, Suppl 12. – P. 31–42.
373. Minoxidil opens mitochondrial  $K_{ATP}$  channels and confers cardioprotection / T.Sato, Y.Li, T.Saito [et al.] // *British Journal of Pharmacology.* – 2004. – Vol.141, №2. – P. 360–366.
374. Mitochondria and energetic depression in cell pathophysiology / E. Seppet, M. Gruno, A. Peetsalu [et al.] // *Int J Mol Sci.* – 2009. – Vol.10, №5. – P. 2252–2303.

375. Molecular clock is involved in predictive circadian adjustment of renal function / A.M. Zuber, G. Centeno, S. Pradervand [et al.] // Current Issue. – 2009. – Vol.106, №38. – P. 16523–16528.
376. Morimoto S. Effects of pinacidil on renal hemodynamics and function in anesthetized dogs / S. Morimoto, Y. Sasaki, Y. Matsumura // Journal of Pharmacobio-Dynamics. – 1986. – Vol.9, №2. – P.146–155.
377. Musabayane C.T. The effects of medicinal plants on renal function and blood pressure in diabetes mellitus / C.T. Musabayane // Cardiovasc J Afr. – 2012. – Vol.23, №8. – P. 462–468.
378. Mutations in the formin gene INF2 cause focal segmental glomerulosclerosis / E.J. Brown, J.S. Schlöndorff, D.J. Becker [et al.] // Nat Genet. – 2010. – Vol.42, №1. – P.72–76.
379. Mutations within the P-loop of Kir6.2 modulate the intraburst kinetics of the ATP-sensitive potassium channel / [P. Proks, C.E. Capener, P. Jones, F.M. Ashcroft] // J Gen Physiol. – 2001. – Vol.118, №4. – P. 341–353.
380. Nadeem A. Ion channels and channelopathies / A. Nadeem, M.M. Hussain // Pak J Physiol. – 2010. – Vol.6, №1. – P. 54–57.
381. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure // M. Nangaku // J Am Soc Nephrol. – 2006. – Vol.17, №1. – P. 17–25.
382. Nath K.A. The role of renal research in demonstrating the protective properties of heme oxygenase-1 / K.A. Nath // Kidney Int. – 2013. – Vol.84, №1. – P. 3–6.
383. National Kidney Foundation. K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification and Stratification // Am J Kidney Dis. – 2002. – Vol.39, Suppl. 1. – P. 1–266.
384. Neilson E.G. Mechanisms of Disease: fibroblasts – a new look at an old problem / E.G. Neilson // Nature Reviews Nephrology. – 2006. – Vol.2, №2. – P. 101–108.
385. Neutrophil gelatinase-associated lipocalin in the diagnosis of type 1 cardio-renal syndrome in the general ward / M. Alvelos, R. Pimentel, E. Pinho [et al.]

- // Clinical Journal of the American Society of Nephrology. – 2011. – Vol.6, №3. – P. 476–481.
386. New era of antihypertensive agents-vasopeptidase inhibitors / S. Divya, N. Bhavya, K. Pavan Kumar [et al.] // World Journal of Medical Sciences. – 2011. – Vol.6, №4. – P. 193–201.
  387. New standards in hypertension and cardiovascular risk management: focus on telmisartan / D. Galzerano, C. Capogrosso, S. Di Michele [et al.] // J of Vascular Health and Risk Management. – 2010. – Vol.6. – P. 113–133.
  388. Nichols C.G. KATP channels as molecular sensors of cellular metabolism / C.G. Nichols // Nature. – 2006. – Vol.440, №7083–7086.
  389. Nicorandil Ameliorated Hypertensive Renal Injury without Lowering Blood Pressure in Spontaneously Hypertensive Rats / K. Serizawa, K. Yogo, Y. Tashiro [et al.] // Pharmacology. – 2013. – Vol.91, №1-2. – P. 92–103.
  390. Nicorandil ameliorates ischaemia-reperfusion injury in the rat kidney [S. Shimizu, M. Saito, Y. Satoh [et al.] // British Journal of Pharmacology. – 2011. – Vol.163, №2. – P. 272–282.
  391. Nicorandil as a novel therapy for advanced diabetic nephropathy in the eNOS-deficient mouse / K. Tanabe, M.A. Lanasa, W. Kitagawa [et al.] // Am J Physiol Renal Physiol. – 2012. – Vol.302, №9. – F.1151–1160.
  392. Nicorandil improves glomerular injury in rats with mesangioproliferative glomerulonephritis via inhibition of proproliferative and profibrotic growth factors / H. Sudo, M. Hirata, H. Kanada [et al.] // J Pharmacol Sci. – 2009. – Vol.111, №1. – P. 53–59.
  393. Noma A. ATP-regulated K<sup>+</sup> channels in cardiac muscle / A. Noma // Nature. – 1983. – Vol.305, №5930. – P. 147–148.
  394. Nussbaum J. Restorative physical and occupational therapy: a critical need for patients with chronic kidney and end-stage renal disease / J. Nussbaum, R.K. Garcia // Adv Chronic Kidney Dis. – 2009. – Vol.16, №6. – P. 529–535.
  395. Obesity, hypertension, and chronic kidney disease / M.E Hall, J.M. do Carmo, A.A. da Silva [et al.] // Int J Nephrol Renovasc Dis. – 2014. – Vol.7. – P. 75–88.

396. Ojo A. Addressing the global burden of chronic kidney disease through clinical and translational research / A. Ojo // *Trans Am Clin Climatol Assoc.* – 2014. – Vol.125. – P. 229–246.
397. Okpechi I.G. Renoprotection in diabetes mellitus / I.G. Okpechi, C.R. Swanepoel // *CME.* – 2010. – Vol.28, №10. – P. 466–469.
398. One-year renal and cardiac effects of bisoprolol versus losartan in recently diagnosed hypertensive patients: a randomized, double-blind study / G. Parrinello, S. Paterna, D. Torres [et al.] // *Clin Drug Investig.* – 2009. – Vol.29, №9. – P. 591–600.
399. Oral nicorandil to reduce cardiac death after coronary revascularization in hemodialysis patients: a randomized trial / M. Nishimura, T. Tokoro, M. Nishida [et al.] // *American Journal of Kidney Diseases.* – 2009. – Vol.54, №2. – P. 307–317.
400. Overweight, obesity and chronic kidney disease / S.M. Ting, H. Nair, I. Ching [et al.] // *Nephron Clin Pract.* – 2009. – Vol.112, №3. – P. 121–127.
401. Owolabi O.J. Levromakalim (BRL38227): A potassium channel activator alters some biochemical parameters in streptozotocin – induced diabetic rats / O.J. Owolabi, E.K.I. Omogbai // *Journal of Diabetes and Metabolism.* – 2011. – Vol.2, Issue 9. – P.155–159.
402. Oxidative stress contributes to renovascular hypertension / E.B. Oliveira-Sales, A.P. Dugaich, B.A. Carillo [et al.] // *Am J Hypertens.* – 2008. – Vol.21, №1. – P. 98–104.
403. Panchapakesan U. DPP-4 inhibitors – renoprotection in diabetic nephropathy? / U. Panchapakesan, C.A. Pollock // *Diabetes.* – 2014. – Vol.63, №6. – P. 1829–1830.
404. Pannu N. An overview of drug-induced acute kidney injury / N. Pannu, M.K. Nadim // *Critical care medicine.* – 2008. – Vol.36, Suppl.4. – P. 216–223.
405. Parikh S.M. Therapeutic targeting of the mitochondrial dysfunction in septic acute kidney injury / S.M. Parikh // *Curr Opin Crit Care.* – 2013. – Vol.19, №6. – P. 554–559.

406. Pathologic Classification of Diabetic Nephropathy / T.W. Tervaert, A.L. Mooyaart, K. Amann [et al.] // J Am Soc Nephrol. – 2010. – Vol.21, №4. – P. 556–563.
407. Pathophysiology of voltage-gated K<sup>+</sup> channels in vascular smooth muscle cells: modulation by protein kinases / E.A. Ko, W.S. Park, A.L. Firth [et al.] // Prog Biophys Mol Biol. – 2010. – Vol.103, №1. – P. 95–101.
408. Paulis L. New developments in the pharmacological treatment of hypertension: dead-end or a glimmer at the horizon? / L. Paulis, R. Rajkovicova, F. Simko // Curr Hypertens Rep. – 2015. – Vol.17, №6. – P. 557.
409. Pentoxifylline for Renoprotection in Diabetic Nephropathy: the PREDIAN study. Rationale and basal results / J.F. Navarro-González, M. Muros, C. Mora-Fernández [et al.] // Diabetes and its complications. – 2011. – Vol.25, Issue 5. – P. 314–319.
410. Peptides regulate expression of signaling molecules in kidney cell cultures during in vitro aging / V.Kh. Khavinson, N.S. Lin'kova, V.O. Polyakova [et al.] // Biogerontology. Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2014. – Vol.157, Issue 2, – P. 261–264.
411. Perazella M.A. Renal vulnerability to drug toxicity / M.A. Perazella // CJASN. – 2009. – Vol.4, №7. – P. 1275–1283.
412. Perico N. Present and future drug treatments for chronic kidney diseases: evolving targets in renoprotection / N. Perico, A. Benigni, G. Remuzzi // Nat Rev Drug Discov. – 2008. – Vol.7, №11. – P. 936–953.
413. Perspective in chronic kidney disease: targeting hypoxia-inducible factor (HIF) as potential therapeutic approach / A.B. Deshmukh, J.K. Patel, A.R. Prajapati [et al.] // Ren Fail. – 2012. – Vol.34, №4. – P. 521–532.
414. Peters H. L-Arginine supplementation accelerates renal fibrosis and shortens life span in experimental lupus nephritis / H. Peters, W.A. Border, M. Rückert [et al.] // Kidney International. – 2003. – Vol.63, №4. – P. 1382–1392.

415. Peti-Peterdi J. Macula densa sensing and signaling mechanisms of renin release / J. Peti-Peterdi, R.S. Harris // *J Am Soc Nephrol.* – 2010. – Vol.21, №7. – P. 1093–1096.
416. Potassium channel openers and prostacyclin play a crucial role in mediating the vasorelaxant activity of *Gynura procumbens* / [H.K. Ng, T.F. Poh, S.K. Lam, S.Z. Hoe] // *BMC Complementary and Alternative Medicine.* – 2013. – Vol.13. – P. 188.
417. Potassium handling with dual renin-angiotensin system inhibition in diabetic nephropathy / P.N. Van Buren, B. Adams-Huet, M. Nguyen [et al.] // *Clin J Am Soc Nephrol.* – 2014. – Vol.9, №2. – P. 295–301.
418. Potassium channels: molecular defects, diseases and therapeutic opportunities / [C. Shieh, M. Colghan, J. Sullivan, M. Gopalakrishnan] // *Pharm Rew.* – 2000. – Vol.52, №4. – P. 557–594.
419. Preclinical efficacy and safety of Kv7 potassium channel openers in the treatment of cerebral vasospasm / B.K. Mani, J. O'Dowd, L. Kumar [et al.] // *The FASEB Journal.* – 2012. – Vol.26, Issue 1. – P. 842–845.
420. Prediction, progression, and outcomes of chronic kidney disease in older adults / S. Anderson, J.B. Halter, W.R. Hazzard [et al.] // *JASN.* – 2009. – Vol.20, №6. – P. 1199–1209.
421. Preston R.A. Renal parenchymal hypertension: current concepts of pathogenesis and management / R.A. Preston, I. Singer, M. Epstein // *Arch Intern Med.* – 1996. – Vol.156, №6. – P. 602–611.
422. Prevention of cardio-renal syndromes: workgroup statements from the 7th ADQI Consensus Conference / P.A. McCullough, M. Haapio, S. Mankad [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2010. – Vol.25, №6. – P. 1777–1784.
423. Preventive effect of pretreatment with intravenous nicorandil on contrast-induced nephropathy in patients with renal dysfunction undergoing coronary angiography (PRINCIPLE Study) / Y.G. Ko, B.K. Lee, W.C. Kang [et al.] // *Yonsei Med J.* – 2013. – Vol.54, №4. – P. 957–964.

424. Proteasomal processing of albumin by renal dendritic cells generates antigenic peptides / D. Macconi, C. Chiabrando, S. Schiarea [et al.] // *J Am Soc Nephrol*. – 2009. – Vol.20, №1. – P. 123–130.
425. Protection against hypoxic-ischemic injury in transgenic mice overexpressing Kir6.2 channel pore in forebrain / L. Heron-Milhavet, Y. Xue-Jun, S.J. Vannucci [et al.] // *Mol Cell Neurosci*. – 2004. – Vol.25, №4. – P. 585–593.
426. Protective effect of nicorandil on hypoxia-induced apoptosis in HPAECs through inhibition of p38 MAPK phosphorylation / Y. Yu, Y. Xiao, H. Wang [et al.] // *Mol Med Rep*. – 2013. – Vol.7, №3. – P. 816–820.
427. Protective role of mitochondrial K-ATP channel and mitochondrial membrane transport pore in rat kidney ischemic postconditioning / W.L. Zhang, Y.L. Zhao, X.M. Liu [et al.] // *Chin Med J*. – 2011. – Vol.124, №14. – P. 2191–2195.
428. Protein load impairs factor H binding promoting complement-dependent dysfunction of proximal tubular cells / S. Buelli, M. Abbate, M. Morigi [et al.] // *Kidney International*. – 2009. – Vol.75, №10. – P. 1050–1059.
429. Rafieian-Kopaei M. Combination of metformin with other antioxidants may increase its renoprotective efficacy / M. Rafieian-Kopaei, A. Baradaran // *J Renal Inj Prev*. – 2013. – Vol.2, №2. – P. 35–36.
430. Rahman M. Acute kidney injury: a guide to diagnosis and management / M. Rahman, F. Shad, M.C. Smith // *Am Fam Physician*. – 2012. – Vol.86, №7. – P. 631–639.
431. Randomized controlled clinical trial of corticosteroids plus ACE-inhibitors with long-term follow-up in proteinuric IgA nephropathy // C. Manno, D.D. Torres, M. Rossini [et al.] // *Nephrol Dial Transplant*. – 2009. – Vol.24, №12. – P. 3694–3701.
432. Rangan G. NF-kappaB signalling in chronic kidney disease / G. Rangan, Y. Wang, D. Harris // *Front Biosci (Landmark Ed)*. – 2009. – Vol.1, №14. – P. 3496–3522.
433. Rao M.S. Inhibition of the renin angiotensin aldosterone system: focus on aliskiren / M.S. Rao // *J Assoc Physicians India*. – 2010. – Vol.58. – P. 102–108.

434. Rashid H.U. Renoprotection, renin inhibition, and blood pressure control: the impact of aliskiren on integrated blood pressure control / H.U. Rashid // Integr Blood Press Control. – 2010. – №3. – P. 133–144.
435. Reconstitution of  $I_{KATP}$ : An inward rectifier subunit plus the sulfonylurea receptor / N. Inagaki, T. Gono, J.P. Clement IV [et al.] // Science (Wash DC). – 1995. – Vol.270, №5239. – P. 1166–1170.
436. Reduction in renal ACE2 expression in subtotal nephrectomy in rats is ameliorated with ACE inhibition / E. Velkoska, R.G. Dean, L. Burchill [et al.] // Clin Sci (Lond). – 2010. – Vol.118, №4. – P. 269–279.
437. Remuzzi G. Mechanisms of progression and regression of renal lesions of chronic nephropathies and diabetes / G. Remuzzi, A. Benigni, A. Remuzzi // J Clin Inves. – 2006. – Vol.116, №2. – P. 288–296.
438. Renal and electrolyte disorders / ed. by R.W. Schrier. – Lippincott Williams & Wilkins, 7-th edition. – 2010. – 631 p.
439. Renal Autoregulation in Health and Disease / M. Carlström, C.S. Wilcox, W.J. Arendshorst / Physiological Reviews. – 2015. – Vol.95, №2. – P. 405–511.
440. Renoprotection by rosiglitazone in accelerated type 2 diabetic nephropathy: role of STAT1 inhibition and nephrin restoration / S.C.W. Tang, J.C.K. Leung, L.Y.Y. Chan [et al.] // Am J Nephrol. – 2010. – Vol.32. – P. 145–155.
441. Renoprotective activity of aliskiren, a renin inhibitor in cyclosporine A induced hypertensive nephropathy in dTG mice / M.S. Saraswat, V. Addepalli, M. Jain [et al.] // Pharmacological Reports. – 2014. – Vol.66, Issue 1. – P. 62–67.
442. Renoprotective effect and cost-effectiveness of using benidipine, a calcium channel blocker, to lower the dose of angiotensin receptor blocker in hypertensive patients with albuminuria / F. Saito, H. Fujita, A. Takahashi [et al.] // Hypertens Res. – 2007. – Vol.30, №1. – P. 39–47.
443. Renoprotective effect of calcium channel blockers in combination with an angiotensin receptor blocker in elderly patients with hypertension. A randomized crossover trial between benidipine and amlodipine / K. Miyagawa,



- Y. Dohi, A. Nakazawa [et al.] // Clin Exp Hypertens. – 2010. – Vol.32, №1. – P. 1–7.
444. Renoprotective effect of combining pentoxifylline with angiotensin-converting enzyme inhibitor or angiotensin II receptor blocker in advanced chronic kidney disease / P.-M. Chen, T.-S. Lai, P.-Y. Chen [et al.] // Journal of Formosan Medical Association. – 2014. – Vol.113, Issue 4. – P. 219–226.
445. Renoprotective effect of renin-angiotensin-aldosterone system blockade in patients with predialysis advanced chronic kidney disease, hypertension, and anemia / T.W. Hsu, J.S. Liu, S.C. Hung [et al.] // JAMA Intern Med. – 2014. – Vol.174, №3. – P. 347–354.
446. Renoprotective effects of angiotensin II receptor blocker, candesartan cilexetil, in patients with stage 4–5 chronic kidney disease / Y. Tamura, M. Kosuga, M. Yamashita [et al.] // Clinical and Experimental Nephrology. – 2008. – Vol.12, Issue 4. – P. 256–263.
447. Renoprotective effects of atorvastatin compared with pravastatin on progression of early diabetic nephropathy / A. Takazakura, M. Sakurai, Y. Bando [et al.] // J Diabetes Invest. – 2015. – Vol.6. – P. 346–353.
448. Renoprotective effects of thiazides combined with loop diuretics in patients with type 2 diabetic kidney disease / T. Hoshino, S. Ookawara, H. Miyazawa [et al.] // Clin Exp Nephrol. – 2015. – Vol.19, №2. – P. 247–253.
449. Riccioni G. Aliskiren in the treatment of hypertension and organ damage / G. Riccioni // Cardiovasc Ther. – 2011. – Vol.29, №1. – P. 77–87.
450. Ritz E. Metabolic syndrome and kidney disease / E. Ritz // Blood Purif. – 2008. – Vol.26, №1. – P. 59–62.
451. Robles N.R. Treatment of proteinuria with lercanidipine associated with renin-angiotensin axis-blocking drugs / N.R Robles, B. Romer, E.G. de Vinuesa // Ren Fail. – 2010. – Vol.32, №2. – P. 192–197.
452. Rodrigo G.C. ATP-sensitive potassium channels / G.C. Rodrigo, N.B. Standen // Curr. Pharm. Des. – 2005. – Vol.11, №15. – P. 1915–1940.

453. Rodriguez-Iturbe B. Tubulointerstitial damage and progression of renal failure / B. Rodriguez-Iturbe, R.J. Jonson, J. Herrera-Acosta // *Kidney Int.* – 2005. – Vol.68, №99. – P. 582–586.
454. Role of angiotensin II-induced rapid response genes in the regulation of enzymes needed for aldosterone synthesis / [E.F. Nogueira, Y. Xing, C.A.V. Morris, W.E. Rainey] // *Journal of Molecular Endocrinology.* – 2009. – Vol.42. – P. 319–330.
455. Role of BK channels in hypertension and potassium secretion / J.D. Holtzclaw, P.R. Grimm, S.C. Sansom // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension.* – 2011. – Vol.20, №5. – P. 512–517.
456. Role of hypoxia in the pathogenesis of renal disease / K.U. Eskardt, W.M. Bernhardt, A. Weidemann [et al.] // *Kidney Int Suppl.* – 2005. – №99. – P. 46–51.
457. Role of mitochondrial KATP channel in pinacidil pretreatment-induced protective effect on blood flow and mitochondrial function of hemorrhagic shock rats / X. Jing, L. Dan, L. Tao [et al.] // *Journal of Third Military Medical University.* – 2011. – Vol.33, Issue 23. – P. 2441–2444.
458. Role of renal microcirculation in experimental renovascular disease/ R. Iliescu, S.R. Fernandez, S. Kelsen [et al.] // *Nephrol Dial Transplant.* – 2010. – Vol.25, №4. – P. 1079–1087.
459. Role of TNF-alpha-induced reactive oxygen species in endothelial dysfunction during reperfusion injury / X. Gao, H. Zhang, S. Belmadani [et al.] // *Am J Physiol Heart Circ Physiol.* – 2008. – Vol.295, №6. – P. 2242–2249.
460. Role of vascular potassium channels in the regulation of renal hemodynamics / [C.M. Sorensen, T.H. Braunstein, N.-H. Holstein-Rathlou, M. Salomonson] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2012. – Vol.302, №5. – P. 505–518.
461. Ronco C. Cardiorenal syndrome: refining the definition of a complex symbiosis gone wrong / C. Ronco, A.A. House, M. Haapio // *Intensive Care Med.* – 2008. – Vol.34, №5. – P. 957–962.

462. Rosansky S.J. Renal function trajectory is more important than chronic kidney disease stage for managing patients with chronic kidney disease // S.J. Rosansky // *Am J Nephrol.* – 2012. – Vol.36. – P. 1–10.
463. Rosario R.F. Primary hypertension and nephropathy / R.F. Rosario, D.E. Wesson // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2006. – Vol.15, №2. – P.130–134.
464. Rosenthal T. Combating combination of hypertension and diabetes in different rat models / T. Rosenthal, F. Younis, A. Alter // *Pharmaceuticals.* – 2010. – Vol.3. – P. 916–939.
465. Rosuvastatin is additive to high-dose candesartan in slowing progression of experimental mesangioproliferative glomerulosclerosis / S. Krämer, S. Kron, Y. Wang-Rosenke [et al.] // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2008. – Vol.294, №4. – P. 801–811.
466. Ruilope L.M. Angiotensin receptor blockers: RAAS blockade and renoprotection / L.M. Ruilope // *Curr Med Res Opin.* – 2008. – Vol.24, №5. – P. 1285–1293.
467. Safety and efficacy of eplerenone in patients at high risk for hyperkalemia and/or worsening renal function: analyses of the EMPHASIS-HF study subgroups (Eplerenone in Mild Patients Hospitalization And Survival Study in Heart Failure) / R. Eschalier, J.J. McMurray, K. Swedberg [et al.] // *J Am Coll Cardiol.* – 2013. – Vol.62, №17. – P. 1585–1593.
468. Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue, floccalin / O.I. Voitychuk, R.B. Strutynskyi, L.M. Yagupolskii [et al.] // *Brit. J. Pharmacol.* – 2011. – Vol.162, №3. – P. 701–711.
469. Sepehr-Ara L. Effect of the two new calcium channel blockers mebudipine and dibudipine on vascular flow of isolated kidney of normal and diabetic rats / L. Sepehr-Ara, S.A. Mohajeri, M. Mahmoudian // *Pathophysiology.* – 2011. – Vol.18, №3. – P. 175–181.

470. Shilliday I.R. Calcium channel blockers for preventing acute tubular necrosis in kidney transplant recipients (Review) / I. Shilliday, M. Sherif. – JohnWiley & Sons Ltd., 2009. – 41 p.
471. Shimoda L.A. Hypoxia and ion channel function / L.A. Shimodaand, J. Polak // *Am J Physiol Cell Physiol.* – 2011. – Vol.300, №5. – P. 951–967.
472. Short term effects of diltiazem on renal functions: a controlled clinical study / S. Öztür, R. Aydin, M. Gürs [et al.] // *Turk Neph Dial Transpl.* – 2012. – Vol.21, №2. – P. 130–135.
473. Silencing of hypoxia inducible factor-1 $\alpha$  gene attenuated angiotensin II-induced renal injury in Sprague-Dawley rats / Q. Zhu, Z. Wang, M. Xia [et al.] // *Hypertension.* – 2011. – Vol.58, №4. – P. 657–666.
474. Singh D.K. Mechanisms of disease: the hypoxic tubular hypothesis of diabetic nephropathy / D.K. Singh, P. Winocour, K. Farrington // *Nat Clin Pract Nephrol.* – 2008. – Vol.4, №4. – P. 216–226.
475. Singh P. Renal homeostasis and tubuloglomerular feedback / P. Singh, S.C. Thomson // *Curr Opin Nephrol Hypertens.* – 2010. – Vol.19, №1. – P. 59–64.
476. Siragy H.M. ACCOMPLISH the goal: hypertension and beyond / H.M. Siragy // *Current Hypertension Reports.* – 2009. – Vol.11, Issue 4. – P. 231–232.
477. Siragy H.M. Role of the intrarenal renin-angiotensin-aldosterone system in chronic kidney disease / H.M. Siragy, R.M. Carey // *Am. J. Nephrol.* – 2010. – Vol.31, №6. – P. 541–550.
478. Spironolactone plus full-dose ACE inhibition in patients with idiopathic membranous nephropathy and nephrotic syndrome: does it really work? / P. Cravedi, V. Brusegan, P. Ruggenti [et al.] // *Pharmaceuticals.* – 2010. – Vol.3. – P. 1–9.
479. Stevens L.A. CKD and ESRD in the elderly: current prevalence, future projections, and clinical significance / L.A. Stevens, G. Viswanathan, D.E. Weiner // *Adv Chronic Kidney Dis.* – 2010. – Vol.17, №4. – P. 293–301.
480. Stow L.R. The circadian clock in the kidney / L.R. Stow, M.L. Gumz // *J Am Soc Nephrol.* – 2011. – Vol.22, №4. – P. 598–604.

481. Strutynskyi R.B. Cardioprotective effects of flocalin in vivo experiments: influence on the hemodynamic and on the damage of myocardium under ischemia-reperfusion / R.B. Strutynskyi, A.P. Neshcheret, L.V. Tumanovska // Int J Phys Pathophys. – 2010. – Vol.1, №3. – P. 211–218.
482. Strutynskyi R.B. Vasodilatation effects of fluorine-containing  $K_{ATP}$  channels opener of flocalin / R.B. Strutynskyi // Int J Phys Pathophys. – 2011. – Vol.2, №1. – P. 69–77.
483. Sugiura T. Resistive index predicts renal prognosis in chronic kidney disease / T. Sugiura, A. Wada // Nephrol Dial Transplant. – 2009. – Vol.24, №9. – P. 2780–2785.
484. Sun X.L. ATP-sensitive potassium channels: a promising target for protecting neurovascular unit function in stroke / X.L. Sun, G. Hu // Clin Exp Pharmacol Physiol. – 2010. – Vol.37, №2. – P. 243–252.
485. Suppressed  $Ca^{2+}$ /CaM/CaMKII-dependent  $K_{ATP}$  channel activity in primary afferent neurons mediates hyperalgesia after axotomy / T. Kawano, V. Zoga, G. Gemes [et al.] // Proc Natl Acad Sci USA. – 2009 – Vol.106, №21. – P. 8725–8730.
486. Switching from allopurinol to febuxostat for the treatment of hyperuricemia and renal function in patients with chronic kidney disease / Y. Tsuruta, T. Mochizuki, T. Moriyama [et al.] // Clin Rheumatol. – 2014. – Vol.33, №11. – P. 1643–1648.
487. Systemic administration of diazoxide induces delayed preconditioning against transient focal cerebral ischemia in rats / [K. Mayanagi, T. Gaspar, P.V. Katakam, D.W. Busija] // Brain Res. – 2007. – Vol.7, №1168. – P. 106–111.
488. Tabrizchi R. Ilepatril (AVE-7688), a vasopeptidase inhibitor for the treatment of hypertension / R. Tabrizchi // Curr Opin Investig Drugs. – 2008. – Vol.9, №3. – P. 301–309.
489. Talassum N. Ion channels and their modulation / N. Tabassum, A. Feroz // Journal of Applied Pharmaceutical Science. – 2011. – №1(01). – P. 20–25.

490. Tang S.C.W. The pathogenic role of the renal proximal tubular cell in diabetic nephropathy / S.C.W. Tang, K.N. Lai // *Nephrol. Dial. Transplant.* – 2012. – Vol.27, №8. – P. 3049–3056.
491. Targeting hypertension with a new adenosine triphosphate-sensitive potassium channel opener iptakalim / Z. Pan, J. Huang, W. Cui [et al.] // *Journal of Cardiovascular Pharmacology.* – 2010. – Vol.56, №3. – P. 215–228.
492. Targeting ischemic stroke with a novel opener of ATP-sensitive potassium channels in the brain / H. Wang, Y.L. Zhang, X.C. Tang [et al.] // *Molecular Pharmacology.* – 2004. – Vol.66. – P. 1160–1168.
493. Testai L. Cardiac ATP-sensitive potassium channels: a potential target for an anti-ischaemic pharmacological strategy / L. Testal, S. Rapposelli, V. Calderone // *Cardiovasc Hematol Agents Med Chem.* – 2007. – Vol.5, №1. – P. 79–90.
494. TGF-beta receptor deletion in the renal collecting system exacerbates fibrosis / L. Gewin, N. Bulus, G. Mernaugh [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2010. – Vol.21, №8. – P. 1334–1343.
495. The attenuated effect of ATP-sensitive K<sup>+</sup> channel opener pinacidil on renal haemodynamics in spontaneously hypertensive rats / T. Mimuro, T. Kawata, T. Onuki [et al.] // *European Journal of Pharmacology.* – 1998. – Vol.358, №2. – P.153–160.
496. The enigmatic parietal epithelial cell is finally getting noticed: a review / T. Ohse, J.W. Pippin, A.M. Chang [et al.] // *Kidney Int.* – 2009. – Vol.76, №12. – P. 1225–1238.
497. The intrarenal renin-angiotensin system: from physiology to the pathobiology of hypertension and kidney disease / [H. Kobori, M. Nangaku, L.G. Navar, A. Nishiyama] // *Pharmacol Rev.* – 2007. – Vol.59, №3. – P. 251–287.
498. The role of KATP channels on propofol preconditioning in a cellular model of renal ischemia-reperfusion / A.R. Assad, J.M. Delou, L.M. Fonseca [et al.] // *Anesth Analg.* – 2009. – Vol.109, №5. –P. 1486–1492.

499. Tomino Y. Renoprotective effects of the L-/T-type calcium channel blocker benidipine in patients with hypertension / Y. Tomino // *Curr Hypertens Rev.* – 2013. – Vol.9, №2. – P. 108–114.
500. Topal C. Comparative effects of carvedilol and lercanidipine on ultrafiltration and solute transport in CAPD patients / C. Topal, R. Erkos, H. Sayarlioglu // *Ren. Fail.* – 2009. – Vol.31, №6. – P. 446–451.
501. Treatment of chronic kidney disease / J.M. Turner, C. Bauer, M.K. Abramowitz [et al.] // *Kidney International.* – 2012. – Vol.81. – P. 351–362.
502. T-type Ca channel blockade as a determinant of kidney protection / K. Hayashi, K. Homma, S. Wakino [et al.] // *Keio J Med.* – 2010. – Vol.59, №3. – P. 84–95.
503. Tubular overexpression of transforming growth factor-beta1 induces autophagy and fibrosis but not mesenchymal transition of renal epithelial cells / R. Koesters, B. Kaissling, M. Lehir // *Am J Pathol.* – 2010. – Vol.177, №2. – P. 632–643.
504. Tufro A. VEGF and podocytes in diabetic nephropathy / A. Tufro, D. Veron // *Semin Nephrol.* – 2012. – Vol.32, №4. – P. 385–393.
505. Turgut F. Renin-angiotensin-aldosterone system blockade effects on the kidney in the elderly: benefits and limitations / F. Turgut, R.A. Balogun, E.M. Abdel-Rahman // *CJASN.* – 2010. – Vol.5, №7. – P. 1330–1339.
506. Uchida S. Differential diagnosis of chronic kidney disease (CKD): by primary diseases / S. Uchida // *JMAJ.* – 2011. – Vol.54, №1. – P. 22–26.
507. Urinary biomarkers in the clinical prognosis and early detection of acute kidney injury / J.L. Koyner, V.S. Vaidya, M.R. Bennett [et al.] // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* – 2010. – Vol.5, №12. – P. 2154–2165.
508. Urinary clusterin, cystatin C, beta2-microglobulin and total protein as markers to detect drug-induced kidney injury / F. Dieterle, E. Perentes, A. Cordier [et al.] // *Nature Biotechnology.* – 2010. – Vol.28, №5. – P. 463–469.
509. Urine cystatin C as a biomarker of proximal tubular function immediately after kidney transplantation / I.E. Hall, J.L. Koyner, M.D. Doshi [et al.] // *American Journal of Nephrology.* – 2011. – Vol.33, №5. – P. 407–413.

510. Urine IL-18 is an early diagnostic marker for acute kidney injury and predicts mortality in the intensive care unit / C.R. Parikh, E. Abraham, M. Ancukiewicz [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2005. – Vol.16, №10. – P. 3046–3052.
511. Urokinase receptor deficiency accelerates renal fibrosis in obstructive nephropathy / G. Zhang, H. Kim, X. Cai [et al.] // *J Am Soc Nephrol.* – 2003. – Vol.14, №5. – P. 1254–1271.
512. Vaidya V.S. Biomarkers of acute kidney injury / V.S. Vaidya, M.A. Ferguson, J.V. Bonventre // *Annu Rev Pharmacol Toxicol.* – 2008. – №48. – P. 463–493.
513. Vandongen R. The stimulation of renin secretion by diazoxide in the isolated rat kidney / R. Vandongen, D.M. Greenwood // *European Journal of Pharmacology.* – 1975. – Vol.33, Issue 1. – P. 197–200.
514. Voitychuk O.I. Effects of ATP-dependent potassium channel activator Flocalin include sodium and calcium channels inhibition in cardiomyocytes / O.I. Voitychuk, R.B. Srutyns'kyi, Y.M. Shuba // *Biophysical J.* – 2011. – Vol.100, №3, Suppl.1. – P. 433a.
515. Wahab N.A. Modulation of the TGFbeta/Smad signaling pathway in mesangial cells by CTGF/CCN2 / N.A. Wahab, B.S. Weston, R.M. Mason // *Exp Cell Res.* – 2005. – Vol.307, №2. – P. 305–314.
516. Wang T. The effects of the potassium channel opener minoxidil on renal electrolytes transport in the loop of henle / T. Wang // *The Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics.* – 2003. – Vol.304, №2. – P. 833–840.
517. Watanabe G. Effects of oral administration of L-arginine on renal function in patients with heart failure / G. Watanabe, H. Tomiyama, N. Doba // *J. Hypertens.* – 2000. – Vol.18, №2. – P. 229–234.
518. Welling P.A. A comprehensive guide to the ROMK potassium channel: form and function in health and disease / P.A. Welling, K. Ho // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2009. – Vol.297, №4. – P. 849–863.
519. Why is proteinuria an ominous biomarker of progressive kidney disease? / [K. Zandi-Nejad, A. Aeddy, R.J. Glassock, B.M. Brenner] // *Kidney Int.* – 2004. – Vol.92. – P. 76–89.



520. Wiggins R.C. The spectrum of podocytopathies: a unifying view of glomerular diseases / R.C. Wiggins // *Kidney Int.* – 2007, – Vol.1, №12. – P.1205–1214.
521. Wolf G. Cellular and molecular mechanisms of proteinuria in diabetic nephropathy / G. Wolf, F.N. Ziyadeh // *Nephron Physiol.* – 2007. – Vol.106, №2. – P. 26-31.
522. Wühl E. Therapeutic strategies to slow chronic kidney disease progression / E. Wühl, F. Schaefer // *Pediatr Nephrol.* – 2008. – Vol.23, №5. – P. 705–716.
523. Wulff H. Voltage-gated potassium channels as therapeutic targets / H. Wulff, N.A. Castle, L.A. Pardo // *Nat Rev Drug Discov.* – 2009. – Vol.8, №12. – P. 982–1001.
524. Xu J. TGF-beta-induced epithelial to mesenchymal transition / J. Xu, S. Lamouille, R. Derynck // *Cell Res.* – 2009. – Vol.19, №2. – P.156–172.
525. Yamada M. Mitochondrial ATP-sensitive K<sup>+</sup> channels, protectors of the heart / M. Yamada // *J Physiol.* – 2010. – Vol.588, №2. – P. 283–286.
526. Zaffanello M. New therapeutic strategies with combined renin-angiotensin system inhibitors for pediatric nephropathy / M. Zaffanello, M. Franchini, V. Fanos // *Pharmacotherapy: The Journal of Human Pharmacology and Drug Therapy.* – 2008. – Vol. 28, Issue 1. – P. 125–130.
527. Zanchi A. Recent clinical trials with omapatrilat: new developments / A. Zanchi, M. Maillard, M. Burnier // *Curr Hypertens Rep.* – 2003. – Vol.5, №4. – P. 346–352.
528. Zeisberg M. Reversal of experimental renal fibrosis by BMP7 provides insights into novel therapeutic strategies for chronic kidney disease / M. Zeisberg, R. Kalluri // *Pediatr Nephrol.* – 2008. – Vol.23, №9. – P. 1395–1398.
529. Zhang X. Obesity and renovascular disease / X. Zhang, L.O. Lerman // *Am J Physiol Renal Physiol.* – 2015. – Vol.15, №309(4). – P. F273–F279.
530. Ziyadeh F.N. Pathogenesis of the podocytopathy and proteinuria in diabetic glomerulopathy / F.N. Ziyadeh, G. Wolf // *Curr Diabetes Rev.* – 2008. – Vol.4, №1. – P. 39–45.