

# ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

## СРАВНИТЕЛЬНАЯ ОЦЕНКА НЕФРОПРОТЕКТОРНЫХ СВОЙСТВ МОДУЛЯТОРОВ КАЛИЕВЫХ И КАЛЬЦИЕВЫХ КАНАЛОВ ПРИ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОМ ПОРАЖЕНИИ ПОЧЕК

Н. Д. Филипец<sup>1</sup>, А. И. Гоженко<sup>2</sup>

В экспериментах на белых крысах установлено, что новый фторсодержащий активатор калиевых каналов флокалин после однократного введения (5 мг/кг, в желудок) при развитии сулемовой нефропатии повышал скорость клубочковой фильтрации, понижал креатининемию, увеличивал экскрецию креатинина с мочой, уменьшал протеинурию. В аналогичных условиях блокатор кальциевых каналов дилтиазем (5 мг/кг, в желудок) оказывал менее выраженный, чем у флокалина антипротеинурический эффект.

**Ключевые слова:** флокалин; дилтиазем; экспериментальная сулемовая нефропатия; клубочковая фильтрация; протеинурия

### ВВЕДЕНИЕ

К основным признаками (маркерам), позволяющим предполагать наличие повреждения почек и отражающим тяжесть различных видов нефропатий, относят понижение скорости клубочковой фильтрации (СКФ) и повышенную протеинурию [11, 12]. Соответственно, при формировании групп медикаментозной ренопротекции учитывается динамика показателей СКФ и экскреции белка под влиянием известных и новых препаратов с биологически обоснованной клинической эффективностью. Поскольку одним из пусковых механизмов морфо-функциональных нарушений почек является изменение внутриклеточного ионного баланса, изучение нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов представляется актуальным направлением. Основанием к применению в нефрологической практике служит способность обеих классов стабилизировать внутриклеточный пул ионов кальция, контролирующего тонус сосудов, деятельность почек, сердца и др. Однако, если имеющиеся данные свидетельствуют о рациональности использования в нефропротекции блокаторов кальциевых каналов (БКК), особенно недигидропиридиновых соединений [13], то сведений о ренальных “возможностях” активаторов калиевых каналов (АКК) недостаточно. Между тем современные подходы превентивной нефрологии учитывают применение в качестве ренопротекторных средств препаратов, обладающих выра-

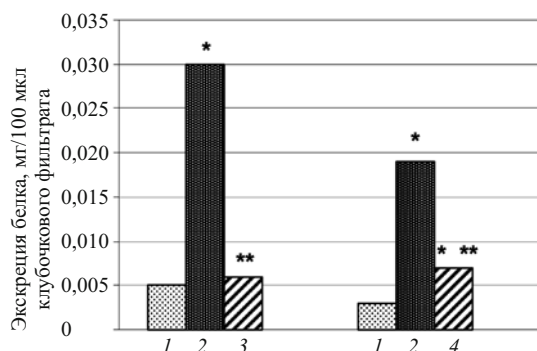
женным кардиопротекторным действием. Это касается и ряда АКК, лечебный эффект которых обусловлен оптимизацией кровообращения, энергосбережением и предотвращением необратимых клеточных изменений в миокарде, что должно благоприятно сказываться на взаимосвязанных сердечно-сосудистых и почечных осложнениях при прогрессировании нефропатий.

Одним из наиболее перспективных представителей АКК является синтезированный в Институте органической химии НАН Украины фторсодержащий активатор АТФ-зависимых калиевых каналов (K<sub>АТФ</sub>-каналов) флокалин. Проведенные исследования продемонстрировали спазмолитический и сосудорасширяющий эффекты, обосновали гемодинамические и метаболические аспекты кардиопротекторного действия препарата [5, 7]. Особенности деятельности почек после введения флокалина в условиях водной нагрузки у крыс характеризовались повышением диуреза, активацией фильтрационного сектора нефрона при сохранении клубочковой проницаемости и отсутствии потерь белка с мочой [9]. Под влиянием препарата на фоне расширения объема внеклеточной жидкости 0,45 % раствором натрия хлорида отмечалось усиление ренального водо-, кислото-, ионовыведения [10]. Учитывая выявленные изменения гомеостатических реакций при функциональных почечных нагрузках, допустимо предположение о наличии у флокалина ренопротекторных возможностей.

Цель исследования — изучение и сравнительный анализ нефропротекторных свойств флокалина и бензотиазепинового БКК дилтиазема методом оценки динамики СКФ и протеинурии при развитии токсического поражения почек у крыс.

<sup>1</sup> Кафедра фармакологии (зав. — проф. И. И. Заморский) Буковинского государственного медицинского университета, Украина, 58001, Черновцы, Театральная пл., 2.

<sup>2</sup> Украинский научно-исследовательский институт медицины транспорта, Украина, 65039, Одесса, ул. Канатная, 92.



Влияние флокалина (5 мг/кг) и дилтиазема (5 мг/кг) на экскрецию белка в условиях водной нагрузки через 2 ч после моделирования сулемовой нефропатии.

1 — интактные крысы, 2 — сулемовая нефропатия, 3 — сулемовая нефропатия + флокалин, 4 — сулемовая нефропатия + дилтиазем. Отличия достоверны в сравнении с показателями: \* — контрольной группы; \*\* — с показателями при сулемовой нефропатии.

## МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 36 нелинейных белых крысах массой 150 – 200 г, которых содержали на гипонатриевом режиме питания со свободным доступом к водопроводной отстоянной воде. Токсическую нефропатию моделировали, вводя однократно под кожу 0,1 % раствор хлорида ртути (1 мг/кг) [2]. Через 2 ч вводили флокалин в дозе 0,23 % от LD<sub>50</sub> (5 мг/кг, I группа) и дилтиазем в дозе 0,63 % от LD<sub>50</sub> (“Sanofi”, Франция, 5 мг/кг, II группа) зондом в желудок на 1 % слизи крахмала в объеме 5 мл/кг массы тела. При выборе доз, кроме установленных LD<sub>50</sub> [5, 8], учитывались дозы, в которых изучались эффекты дилтиазема и флокалина на других моделях [1, 9, 10]. Контрольным группам (интактные и крысы с моделью нефропатии) вводили аналогичный объем растворителя. Через 30 мин всем крысам выполняли 5 % водную нагрузку и помещали на 2 ч в обменные клетки для сбора мочи. Эксперименты проводили в соответствии с положением “Европейской конвенции по защите позвоночных животных, которых используют в экспериментальных и других научных целях” (Страсбург, 1986). СКФ оценивали по клиренсу эндогенного креатинина. Концентрацию креатинина в моче определяли по методу Фолина, в плазме крови — по методу Попера (в модификации Мерзона) в реакции с пикриновой кислотой с последующей колориметрией на спектрофотометре СФ-46 [6]. Белок в моче определяли фотометрически в реакции с сульфосалициловой кислотой [4]. Необходимые показатели рассчитывали, используя общепринятые формулы [6]. Статистический анализ полученных данных проводили при помощи компьютерной программы Statgrafics с использованием *t*-критерия Стьюдента для оценки достоверности межгрупповых различий.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Через 2 часа после введения хлорида ртути изменения показателей количественной оценки функционального состояния почек подтверждали формирование токсической нефропатии [3]: у крыс уменьшался диурез, повышалась концентрация креатинина в плазме крови и в моче, снижалась СКФ, увеличивалась экскреция белка с мочой. В данных условиях флокалин проявлял мочегонное действие. Диурез повышался до  $3,1 \pm 0,1$  мл/час/100 г против  $2 \pm 0,2$  мл/час/100 г ( $p < 0,001$ ) у нелеченных крыс. Двукратное статистически достоверное увеличение СКФ под влиянием АКК обуславливало уменьшение гиперкреатинемии при сулемовой нефропатии с  $55,7 \pm 0,3$  мкмоль/л до  $43,5 \pm 2,5$  мкмоль/л ( $p < 0,001$ ). Увеличение после введения флокалина значений как концентрационного индекса креатинина до  $22,8 \pm 1,3$  ед. против  $15,2 \pm 2$  ед. ( $p < 0,01$ ) у интактных крыс, так и экскреции креатинина до  $3,06 \pm 0,1$  мкмоль/2 ч против  $2,2 \pm 0,03$  мкмоль/2 ч ( $p < 0,001$ ) при экспериментальной патологии демонстрируют активацию экскреторной функции почек. Об эффективности фторсодержащего АКК также свидетельствует уменьшение через 2 ч протеинурии, возросшей на начальной стадии развития нефропатии (рисунок). При пересчете на объем клубочкового фильтрата (КФ) экскреция белка под влиянием флокалина уменьшалась в 5 раз — с  $0,03 \pm 0,006$  мг/100 мкл КФ до  $0,006 \pm 0,002$  мг/100 мкл КФ ( $p < 0,01$ ).

Нефротропные эффекты дилтиазема в условиях сулемовой нефропатии характеризовались сходным, но менее выраженным, чем у флокалина, влиянием на клубочковые процессы, волюморегулирующую и экскреторную функции почек. После введения БКК диурез увеличивался в 1,2 раза против повышения мочевыделения в 1,6 раза при активации калиевого тока. СКФ под влиянием дилтиазема повышалась в 1,3 раза при статистической недостоверности отличий, что объясняет незначительное уменьшение значений сывороточного креатинина с  $75 \pm 4,5$  мкмоль/л у нелеченных крыс до  $72,6 \pm 6,1$  мкмоль/л после введения БКК ( $p > 0,05$ ). Указанные изменения, а также имеющаяся тенденция к увеличению экскреции креатинина до  $1,9 \pm 0,29$  мкмоль/2 ч под влиянием препарата против  $1,6 \pm 0,34$  мкмоль/2 ч ( $p > 0,05$ ) в группе крыс с токсической нефропатией предполагают процесс замедления (или прекращения) негативной динамики показателей способности почек очищать организм от эндогенных продуктов азотистого обмена после однократного применения дилтиазема. Предположение о ренопротекторных возможностях подтверждает снижение показателей протеинурии (см. рисунок) в 2,7 раза после введения дилтиазема — с  $0,019 \pm 0,0016$  мг/100 мкл КФ до  $0,007 \pm 0,0011$  мг/100 мкл КФ ( $p < 0,01$ ).

Сравнительная оценка состояния важнейших маркеров прогрессирования повреждения почек под влиянием модуляторов калиевого и кальциевого тока показала более выраженное влияние флокалина на клубочковую ультрафильтрацию. Активация сосудистых механизмов под влиянием АКК отличается включением всех подтипов калиевых каналов, в том числе и в почках [14], что, возможно, приводит к более стабильным гемодинамическим эффектам. Между тем расслабление сосудистой клетки при блокаде кальциевых каналов связано с преимущественным ингибированием потенциалзависимых  $\text{Ca}^+$ -каналов L-типа. На гломерулярной гемодинамике также может сказываться отсутствие равномерного распределения в системе почечной микроциркуляции кальциевых каналов, что, по всей вероятности, объясняет менее выраженное влияние дилтиазема на фильтрационные процессы.

Антипротеинурический эффект при применении флокалина и дилтиазема также свидетельствует о способности модуляторов калиевых и кальциевых каналов вмешиваться в процесс формирования почечной недостаточности. При повреждении почек хлоридом ртути увеличение экскреции белка обусловлено повреждением канальцевых транспортных систем [3]. Резкое увеличение концентрации ионов кальция при токсическом повреждении клетки способствует активации фосфолипаз, что приводит к деградации фосфолипидов мембран, появляются лизофосфолипиды и свободные жирные кислоты, нарушается функция мембран и их проницаемость [6]. При применении модуляторов ионных каналов снижается поступление ионов кальция, восстанавливается аккумулярующая способность митохондрий [15], уровень ионов кальция в цитозоле уменьшается, соответственно снижается степень токсического повреждения почечных канальцев. Сохранение энергообеспечения клеток в условиях более значимых гемодинамических влияний при активации  $\text{K}_{\text{ATP}}$ -каналов стабилизирует функциональное состояние гломерулярной базальной мембраны, которая препятствует проникновению макромолекул в мезангиальное пространство, что также обуславливает более выраженное, чем у дилтиазема антипротеинурическое действие флокалина.

## ВЫВОДЫ

1. Фторсодержащий активатор калиевых каналов флокалин после однократного введения при формировании экспериментальной сулемовой нефропатии повышает скорость клубочковой фильтрации, уменьшает креатининемию, увеличивает экскрецию креатинина с мочой, уменьшает протеинурию.

2. Блокатор кальциевых каналов дилтиазем в аналогичных условиях оказывает статистически значимый, но менее выраженный, чем у флокалина антипротеинурический эффект.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Н. Василичук, *Український біохімічний журнал*, **76(2)**, 80 – 86 (2004).
2. А. И. Гоженко, В. Ю. Карчаускас, С. И. Доломатов, *Нефрология*, **6(5)**, 72 – 74 (2002).
3. А. И. Гоженко, *Патогенез токсических нефропатий, Актуальные проблемы транспортной медицины*, **4(2)**, 9 – 15 (2006).
4. А. И. Михеева, И. А. Богодарова, *Лаб. дело*, № 7, 441 – 442 (1969).
5. О. О. Мойбенко Р. Б. Струтинский, Л. М. Ягупольский и др., *Наука та інновації*, **5(1)**, 80 – 84 (2009).
6. С. М. Рябов, Ю. В. Наточин, *Функциональная нефрология*, Лань, Санкт-Петербург (1997).
7. Р. Б. Струтинский, Р. А. Ровенец, О. О. Мойбенко, *Таврический медико-биологический вестник*, **15(3, ч. 2)**, 226 – 229 (2012).
8. А. А. Усанова, А. А. Александровский, А. В. Зорькина, О. М. Киселева, *Рациональная фармакотерапия в кардиологии*, № 6, 63 – 67 (2009).
9. Н. Д. Филипец, *Клінічна та експериментальна патологія*, **11(1)**, 154 – 157, (2012).
10. Н. Д. Филипец, О. О. Филипец, *Ліки України*, **9 – 10 (1 – 2)**, 66 – 69 (2012).
11. J. L. Gorris, A. Martinez-Castelao, *Transplantation Reviews*, **26**, 3 – 13, (2012).
12. M. T. James, B. R. Hemmelgarn, N. Wiebe, *The Lancet*, **376(9758)**, 2096 – 2103, (2010).
13. R. Kalaitzidis, G. Bakris, *Arch. Med. Sci.*, **5(3A)**, 435 – 441 (2009).
14. C. M. Sorensen, T. H. Braunstein, N. H. Holstein-Rathlou, M. Salomonsson, *AJP — Renal Physiol*, **302(5)**, 505 – 518 (2012).
15. Y. Tamura, K. Tanabe, W. Kitagawa, *AJP - Renal Physiol*, **303(3)**, 339 – 349 (2012).

Поступила 19.04.13

## COMPARATIVE ASSESSMENT OF NEPHROPROTECTIVE PROPERTIES OF POTASSIUM AND CALCIUM CHANNEL MODULATORS IN EXPERIMENTAL RENAL INJURY

N. D. Filipets<sup>1</sup> and A. I. Gozhenko<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Department of Pharmacology, Bukovinian State Medical University, Teatralnaya pl. 2, 58001 Chernivtsi, Ukraine

<sup>2</sup> Ukrainian Research Institute for Medicine on Transport, Ukraine, Kanatnaya ul. 92, 65039 Odessa, Ukraine

The experiments in white laboratory rats have shown that a single intragastric administration of the new fluorine-containing potassium channel opener flocalin in a dose of 5 mg/kg in the initial stage of sublimate nephropathy increased the glomerular filtration rate, reduced creatinemia, increased urinary creatinine excretion, and decreased proteinuria. Under similar conditions, the administration of the calcium channel blocker diltiazem in a dose of 5 mg/kg (intragastric) showed a less pronounced antiproteinuric effect as compared to that of flocalin. A comparative assessment of the influence of flocalin and diltiazem on the basic renal function markers demonstrated predominant nephroprotective effect of flocalin in the treatment of acute toxic nephropathy.

**Keywords:** flocalin; diltiazem; experimental sublimate nephropathy; glomerular filtration; proteinuria