

УДК 616.61-085.254

ВПЛИВ ФЛОКАЛІНУ НА ТРАНСПОРТ ІОНІВ НАТРІЮ ТА ЕНЕРГЕТИЧНИЙ ОБМІН У ПОШКОДЖЕНИХ СУЛЕМОЮ НИРКАХ ЩУРІВ**Гоженко А.І., Філіпець Н.Д.¹, Сірман В.М.², Філіпець О.О.¹***Український науково-дослідний інститут медицини транспорту, Одеса**¹Буковинський державний медичний університет, Чернівці**²Координаційний центр трансплантації органів, тканин і клітин, Київ
natalya.dmi@gmail.com*

Після введення флокаліну нелінійним білим щурам (внутрішньошлунково, 5 мг/кг, 7 днів) на початковій стадії розвитку гострої сулемової нефропатії зменшення натрійурезу та підвищення канальцевої реабсорбції іонів натрію супроводжуються збільшенням активності лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази в нирках. Аналіз показників функціонального і біохімічного стану нирок свідчить про регуляторну дію флокаліну на процеси енергетичного забезпечення транспорту іонів натрію в канальцевому відділі пошкоджених сулемою нефронів.

Ключові слова: флокалін, сулемова нефропатія, транспорт іонів натрію, лужна фосфатаза, сукцинатдегідрогеназа.

114

Захворювання нирок будь-якого ґенезу супроводжуються патологічними змінами транспортних процесів у канальцевих відділах нефрону. Найважчим наслідком порушення реабсорбції компонентів ультрафільтрату, в першу чергу осмотично активних речовин, є водно-сольовий дисбаланс в організмі, що в значній мірі визначає важкість захворювання і потребує негайної медикаментозної корекції. Загально визнаною причиною тубулярної недостатності, як і пошкодження механізмів активної реабсорбції, переважно іонів натрію, є розлади метаболізму та дефіцит енергозабезпечення в нефроцитах, що призводить до часткового чи повного пригнічення їх функціонування [1, 2]. Відповідно до провідного значення енергетичного обміну в патогенетичних ланцюгах нефропатій токсичної, гіпоксичної, інфекційної етіології тощо, пошук фармакологічних модуляторів енергетичного статусу нирок є актуальною проблемою. Зважаючи на вищесказане,

інтерес становить дослідження енергетичних властивостей у нових потенціальних фармакологічних протекторів. До таких сполук відноситься фторвмісний активатор аденозинтрифосфатзалежних калієвих (K_{ATP}) каналів кардіопротектор флокалін, який при зниженні внутрішньоклітинного вмісту АТФ гіпоксичного та ішемічного ґенезу здатний відновлювати енергетику та життєдіяльність клітин завдяки підтримці ключових механізмів ендogenous захисту [3, 4]. Попередніми дослідженнями нами були встановлені нефротропні ефекти флокаліну [5-8]. Метою нашої роботи було вивчення впливу активатора K_{ATP} каналів флокаліну на процеси канальцевого транспорту іонів натрію та на показники енергетичного обміну нирок за умов розвитку гострої сулемової нефропатії. При постановці мети дослідження враховувалось те, що особливістю пошкоджених сулемою нефроцитів є пригнічення реабсорбції іонів натрію, взаємопов'язаної зі зниженням напруження регу-

ляторних механізмів енергетичного метаболізму.

Матеріали та методи дослідження

Експерименти проведені на лабораторних нелінійних білих щурах масою 0,15-0,17 кг, яких утримували в звичайних умовах віварію на гіпонатрієвому раціоні харчування (зерно пшениці) з вільним доступом до відстояної водопровідної води. Дослідження виконані з дотриманням основних положень Конвенції Ради Європи про охорону хребетних тварин, що використовують в експериментах та інших наукових цілях (1986 р.). Перше введення флокаліну в дозі 5 мг/кг на 1 % крохмальної суспензії (внутрішньошлунково, 7 днів) здійснювали через 2 години після моделювання сулемової нефропатії (5 мг/кг, підшкірно, одноразово). На 7 день експерименту через 30 хвилин після введення флокаліну проводили 5 % водне навантаження (внутрішньошлунково) і поміщали щурів на 2 години в обмінні клітки для збору сечі. Евтаназію здійснювали під нембуталовим наркозом (20 мг/кг). У плазмі крові та в сечі щурів визначали концентрацію іонів натрію методом полум'яної фотометрії на ФПЛ-1, для оцінки швидкості клубочкової фільтрації (КФ) визначали концентрацію креатиніну в плазмі крові (за методом Поппера) та в сечі (за методом Фоліна) з наступним колориметруванням на КФК-2. Біохімічними методами визначали в нирках показники енергетичного обміну: активність лужної фосфатази

(в кірковому шарі) та сукцинатдегідрогенази (в кірковому і мозковому шарі) [9]. Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми «Statgrafics» з урахуванням t — критерію Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Після введення 7 днів флокаліну у щурів з сулемовою нефропатією змінювались показники обміну іонів натрію (табл. 1).

Під впливом активатора K_{ATP} каналів концентрація іонів натрію в сечі зменшувалась на 51,2 %, натрійурез знижувався на 50,4 %. Відсутність гіпернатріємії, відповідність обсягу діурезу до відносної реабсорбції іонів натрію виключали можливість зрушень об'єму позаклітинної рідини.

Обробка іонів натрію в нирках складається з його фільтрації, проксимальної та дистальної реабсорбції, а також — екскреції нер реабсорбованих іонів. Оскільки КФ, концентрація в плазмі крові та фільтраційна фракція іонів натрію достовірно не змінювались, суттєве значення мав розрахунок частки цього електролі-

Таблиця 1

Показники обміну іонів натрію після введення 7 днів флокаліну в дозі 5 мг/кг на початковій стадії розвитку гострої сулемової нефропатії у щурів ($x \pm Sx, n = 6$)

Показники	Сулемова нефропатія	Сулемова нефропатія та флокалін
Діурез, мл/2 год	2,9 ± 0,25	3,0 ± 0,46
Концентрація Na^+ в плазмі крові, ммоль/л	125,8 ± 3,88	135,8 ± 4,44
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	382,5 ± 72,76	289,7 ± 27,14
Фільтраційний заряд Na^+ , мкмоль/хв	47,3 ± 8,73	34,1 ± 4,11
Концентрація Na^+ в сечі, ммоль/л	0,43 ± 0,011	0,21 ± 0,022 $p < 0,001$
Екскреція Na^+ , мкмоль/2 год	1,27 ± 0,129	0,63 ± 0,109 $p < 0,01$
Екскреторна фракція Na^+ , мкмоль/хв	0,01 ± 0,001	0,005 ± 0,0009 $p < 0,01$
Відносна реабсорбція Na^+ , %	99,97 ± 0,006	99,98 ± 0,001
Проксимальна реабсорбція Na^+ , ммоль/2 год	5,3 ± 1,06	3,4 ± 0,45
Дистальна реабсорбція Na^+ , мкмоль/2 год	367,1 ± 34,20	398,8 ± 72,08
Проксимальна реабсорбція Na^+ /100 мкл КФ	11,6 ± 0,33	12,2 ± 0,34
Дистальна реабсорбція Na^+ /100 мкл КФ	0,99 ± 0,107	1,33 ± 0,107 $p < 0,05$
Екскреція Na^+ /100 мкл КФ мкмоль/2 год	0,41 ± 0,053	0,25 ± 0,027 $p < 0,05$

Примітка: p — достовірність різниць порівняно з сулемовою нефропатією

ту, яка виділялася із профільтрованої рідини. Так, величина екскреторної фракції іонів натрію зменшувалась у 2 рази, що свідчило про провідну роль канальцевого компоненту в механізмі ренотропної дії флокаліну.

Особливістю сулемового пошкодження нирок, як і патогенезу більшості нефрологічної патології, є порушення діяльності проксимального відділу з подальшим залученням дистального відділу нефрону та інтерстицію тканини нирок [10]. Аналіз локалізації змін канальцевих процесів показав, що застосування протягом 7 днів флокаліну на початковій стадії розвитку гострої сулемової нефропатії не спричинило значимих відмінностей проксимального транспорту іонів натрію. Однак сучасна методологія діагностики токсичних нефропатій передбачає визначення стандартизованих за об'ємом КФ показників функцій нирок, що має більш вагоме значення для оцінки діючих нефронів [11]. Після введення флокаліну перерахована на 100 мкл КФ дистальна реабсорбція іонів натрію збільшувалась на 34,3 %, а екскреція цього електроліту вдвічі понижувалась. Отже, захисний вплив флокаліну на 7 день введення шурам з гострою сулемовою нефропатією, який проявлявся зменшенням втрат іонів натрію з сечею, реалізувався на рівні дистального відділу нефрону.

Хоча в дистальних канальцях реабсорбується лише 10 % від профільтрованої кількості іонів натрію, цей процес забезпечує значне зменшення концентрації електроліту в сечі і потребує більших, ніж транспорт у проксимальному відділі нефрону, енергетичних затрат. Оцінка показників енергетичного мета-

Таблиця 2

Показники енергетичного обміну в тканинах нирок щурів після введення 7 днів флокаліну на початковій стадії розвитку гострої сулемової нефропатії ($x \pm Sx, n = 6$)

Показники	Контроль інтактні щури	Сулемова нефропатія	Сулемова нефропатія та флокалін
Кіркова речовина нирок			
Активність лужної фосфатази, од	119,9 ± 1,60	50,9 ± 0,66 <i>p</i> < 0,001	55,1 ± 1,06 <i>p</i> < 0,001 <i>p1</i> < 0,05
Активність сукцинатдегідрогенази, од	41,3 ± 4,40	28,6 ± 1,32 <i>p</i> < 0,05	39,0 ± 4,49 <i>p1</i> < 0,05
Мозкова речовина нирок			
Активність сукцинатдегідрогенази, од	30,5 ± 1,54	16,8 ± 1,83 <i>p</i> < 0,01	20,1 ± 2,20 <i>p</i> < 0,01

Примітка: *p* — достовірність різниць порівняно з контролем, *p1* — достовірність різниць порівняно з сулемовою нефропатією

болізму показала, що на 7 день розвитку гострої сулемової нефропатії у щурів знижувалась як активність лужної фосфатази — на 67,7 %, так і сукцинатдегідрогенази — на 30,8 % і на 45 %, відповідно, у кірковому та мозковому шарі нирок. Після введення 7 днів флокаліну суттєво підвищувалась ферментативна активність показників в кірковому шарі нирок. У порівнянні з нелікованими шурами активність лужної фосфатази збільшилась на 41,3 %, сукцинатдегідрогенази — на 19,6 % (табл. 2).

Виявлене зниження активності лужної фосфатази в кірковій речовині виникає внаслідок злушчування щіткової облямівки проксимальних канальців і підтверджує факт пошкодження цього відділу нефрону при токсичному, в тому числі і сулемовому, ураженні нирок. Гальмування активності сукцинатдегідрогенази, одного з ключових регуляторних ферментів циклу Кребса, вказує на порушення головного енергозалежного процесу — реабсорбції іонів натрію. Під впливом флокаліну зменшувались патогенні впливи енергодефіциту в кірковій речовині нирок, де розташована переважна кількість проксимальних канальців. За умов високого навантаження на енергозалежний транспорт основного осмоактивного катіону, флокалін суттєво не змінював активність сукцинатдегідрогенази в мозковому шарі ни-

рок. Разом з тим, підвищення реабсорбції іонів натрію в дистальному відділі канальців свідчить про покращення енергозабезпечення в нефроні під впливом флокаліну.

Висновки

1. Захисний вплив флокаліну на 7 день введення щурам з гострою сулемовою нефропатією реалізується в канальцевому відділі нефрону і характеризується зменшенням втрат іонів натрію з сечею.
2. Після семиденного введення флокаліну в тканинах нирок щурів підвищується активність лужної фосфатази та сукцинатдегідрогенази.
3. Покращення реабсорбції іонів натрію і показників енергетичного метаболізму нирок вказують на протекторну здатність флокаліну за умов порушення енергозалежних процесів транспорту в нефроні.

Література

1. Гоженко А.И. Патогенез токсических нефропатий / А.И. Гоженко // Актуальные проблемы транспортной медицины. — 2006. — № 2. — С. 9-15.
2. Mount P.F. Balancing the energy equation for healthy kidneys / P.F. Mount, D.A. Power // J Pathol. — 2015. — № 237 (4). — P. 407-410.
3. Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative flocalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels / [O. Voitychuk, R. Strutynskiy, O. Moibenko, Y. Shuba] // NSAP. — 2012. — Vol. 385, № 11. — P. 1095-1102.
4. Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue, flocalin / O.I. Voitychuk, R.B. Strutynskiy, L.M. Yagupolskii [et al.] // Brit J Pharmacol. — 2011. — Vol. 162, № 3. — P. 701-711.
5. Gozhenko A.I. Flokaline and diltiazem renoprotector properties in chronization hypoxic nephropathy / A.I. Gozhenko, N.D. Filipets, W. Zukow // Journal of Health Sciences. — 2013. — Vol. 3, № 12. — P. 389-398.
6. Гоженко А.И. Нефротропные эффекты при активации аденозинтрифосфатчувстви-

тельных калиевых каналов в зависимости от функционального состояния почек крыс / А.И. Гоженко, Н.Д. Филипец // Нефрология. — 2013. — Т. 17, № 2. — С. 87-90.

7. Филипец Н.Д. Порівняльний аналіз тубулопротективних впливів представників різних класів модуляторів іонних каналів за умов хронізації токсичної нефропатії / Н.Д. Филипец, В.М. Сірман, А.І. Гоженко // Український біофармацевтичний журнал. — 2014. — № 5. — С. 25-29.
8. Филипец Н.Д. Механизмы ионорегулирующей функции почек при гистогемической гипоксии и возможные пути ее коррекции / Н.Д. Филипец, В.М. Сирман, А.И. Гоженко // Нефрология. — 2014. — Т. 18, № 4. — С. 57-61.
9. Камышников В.С. Справочник по клинико-биохимическим исследованиям и лабораторной диагностике / В.С. Камышников. — Москва: МЕДпресс-информ., 2009. — 896 с.
10. Функціональний нирковий резерв / А.І. Гоженко, А.В. Кравчук, О.П. Никитенко [та ін.]: за ред. А.І. Гоженко. — Одеса: Фенікс, 2015. — 182 с.
11. Сучасна методологія діагностики токсичних нефропатій / [А.І. Гоженко, О.О. Жижневська, В.М. Сірман., О.А. Гоженко] // Сучасні проблеми токсикології. — 2011. — № 5. — С. 49.

References

1. Gozhenko A.I. 2006, The pathogenesis of toxic neuropathies, Actual problems of transport medicine, No 2, pp. 9-15. [Rus]
2. Mount P.F., Power D.A. 2015, Mount P.F. Balancing the energy equation for healthy kidneys, J Pathol, No 237 (4), pp. 407-410.
3. Voitychuk O., Strutynskiy R., Moibenko O. et al. 2012, Effects of fluorine-containing opener of ATP-sensitive potassium channels, pinacidil-derivative flocalin, on cardiac voltage-gated sodium and calcium channels, NSAP, Vol. 385, No 11, pp. 1095-1102.
4. Voitychuk O.I., Strutynskiy R.B., Yagupolskii L.M. et al. 2011, Sarcolemmal cardiac KATP channels as a target for the cardioprotective effects of the fluorine-containing pinacidil analogue, flocalin, Brit J Pharmacol, Vol. 162, No 3. pp. 701-711.
5. Gozhenko A.I., Filipets N.D., Zukow W. 2013, Flokaline and diltiazem renoprotector properties in chronization hypoxic nephropathy, Journal of Health Sciences, Vol.

- 3, No 12, pp. 389-398.
6. Gozhenko A.I., Filipets N.D. 2013, The renotropic effects of adenosine triphosphate-sensitive potassium channel activation depending on the functional state of kidneys in rats, *Nephrology*, Vol. 17, No 2, pp. 87-90. [Rus]
 7. Filipets N. D., Sirman V. M., Gozhenko A. I. 2014, A comparative analysis of tubuloprotective effects of the representatives of different classes of ion channel modulators under the conditions of chronization of toxic nephropathy, *Ukrainian biopharmaceutical journal*, No 5, pp. 25-29. [Ukr]
 8. Filipets N.D., Sirman V.M., Gozhenko A.I. 2014, The mechanisms of ion regulation in the kidneys in histohemic hypoxia and the possible ways of its correction, *Nephrology*, Vol. 18, No 4, pp. 57-61. [Rus]
 9. Kamyshnikov V.S. 2009, *Handbook of clinical and biochemical studies and laboratory diagnosis*, Moscow: MEDpress-inform., 896 p. [Rus]
 10. Gozhenko A.I., Kravchuk A.V., Nykytenko O.P. et al. 2015, *Renal functional reserve*, Odessa: Phoenix, 2015, 180 p. [Ukr]
 11. A.I. Gozhenko, Zhizhnevskaya O.O., Sirman V.M., Gozhenko O.A. 2011, *Actual methodology of diagnostics of toxic nephropathy*, *Actual problems of toxicology*, No 5, 49 p. [Ukr]

Резюме

ВЛИЯНИЕ ФЛОКАЛИНА НА ТРАНСПОРТ ИОНОВ НАТРИЯ И ЭНЕРГЕТИЧЕСКИЙ ОБМЕН В ПОВРЕЖДЕННЫХ СУЛЕМОЙ ПОЧКАХ КРЫС

*Гоженко А.И., Филипец Н.Д.,
Сирман В.М., Филипец Е.А.*

После введения флокалина неллинейным белым крысам (внутрижелудочно, 5 мг/кг, 7 дней) в начальной стадии развития острой сулемовой нефропатии уменьшение натрийуреза и повышение канальцевой реабсорбции ионов натрия сопровождается повышением активности щелочной фосфатазы и сук-

цинатдегидрогеназы в почках. Анализ показателей функционального и биохимического состояния почек свидетельствует про регуляторное действие флокалина на процессы энергетического обеспечения транспорта ионов натрия в канальцевом отделе поврежденных сулемой нефронов.

Ключевые слова: флокалин, сулемовая нефропатия, транспорт ионов натрия, щелочная фосфатаза, сукцинатдегидрогеназа.

Summary

INFLUENCE OF FLOKALIN ON THE TRANSPORT OF SODIUM IONS AND ENERGY METABOLISM IN THE RAT KIDNEY WITH MERCURY NEPHROPATHY

*Gozhenko A.I., Filipets N.D.,
Sirman V.M., Filipets O.O.*

After administration of flokalin to non-linear white rats (intraventricular, 5 mg per kg, 7 days) on the initial stage of acute sublimate nephropathy we have observed decrease of natriuresis and increase of tubular reabsorption of sodium ions together with increase of activity of alkaline phosphatase and succinate dehydrogenase in kidneys. Analysis of the indexes of functional and biochemical state of kidneys gives evidence of regulatory action of flokalin regarding the processes of energy supply to transport of sodium ions in the tubular part of nephrons with sublimate injury.

Key words: flokalin, sublimate nephropathy, transport of sodium ions, alkaline phosphatase, succinate dehydrogenase.

*Впервые поступила в редакцию 14.04.2016 г.
Рекомендована к печати на заседании редакционной коллегии после рецензирования*