

Стан гомеостатичної функції нирок після багаторазової активації калієвих каналів флокаліном за умов сольового навантаження

Н.Д. ФІЛІПЕЦЬ, к. мед. н., доцент; О.О. ФІЛІПЕЦЬ, к. мед. н.

/Буковинський державний медичний університет, Чернівці/

Резюме

Состояние гомеостатической функции почек после многократной активации калиевых каналов флокалином в условиях солевой нагрузки

Н.Д. Филипец, Е.А. Филипец

Исследовано влияние нового отечественного фторсодержащего активатора аденозинтрифосфатчувствительных калиевых каналов флокалина в дозе 5 мг/кг на водо-, ионо-, кислоторегулирующую функцию почек у белых крыс после многократного (7 дней) введения в условиях солевой нагрузки. Установлено, что флокалин включается в механизмы стабилизации электролитного и кислотно-основного равновесия за счет поддержания функционального состояния клубочкового аппарата почек и изменения деятельности канальцевого сектора нефрона. При этом увеличиваются показатели диуреза, экскреции ионов натрия, калия, концентрации активных ионов водорода в моче.

Ключевые слова: калиевые каналы, флокалин, солевая нагрузка, почки

Summary

The State of Homeostatic Function of the Kidneys after Repeated Activation of Potassium Channels with Flocalin at Salt Load

N.D. Filipets, O.O. Filipets

The effect of a new Ukrainian fluorine-containing ATP-sensitive potassium channel opener Flocalin in the dose 5 mg/kg on water-, ion- and acid-regulating function of white rats' kidneys after repeated (7 days) administration under the conditions of salt loading has been studied. It has been found that Flocalin interposes the mechanisms of electrolyte and acid-base balance by means of maintaining of functional state of glomerular apparatus and modifying of nephrons' tubules activity. It leads to increment of diuresis, increase of sodium and potassium excretion, increase of concentration of active hydrogen ions in urine.

Key words: potassium channels, Flocalin, salt load, kidneys

Загальновізнаним є той факт, що ренальна дисфункція є одним із найбільш несприятливих чинників розвитку кардіо- та цереброваскулярної патології [12, 13]. Такий вплив прямо залежить як від змін показників діяльності нирок, так і від стадії ниркової недостатності [10]. В свою чергу, дисбаланс нейрогуморальних систем при серцево-судинних захворюваннях патофізіологічно обґрунтовує гемодинамічні механізми прогресування нефропатії та викликає структурну перебудову нирок. У зв'язку з цим важливе практичне значення мають лікарські засоби з поєднаними органотропними властивостями, що дозволяє раціонально планувати медикаментозну терапію.

Саме багатогранність ефектів активаторів (відкривачів) калієвих каналів [11] спонукає на подальше вивчення їхнього потенціального терапевтичного спектру та створення нових фармакологічно активних сполук [4]. Суттєвим поповненням цього класу лікарських засобів стало створення в Інституті органічної хімії НАН України під керівництвом проф. Л.М. Ягупольського фторвмісного активатора АТФ-залежних калієвих каналів (K_{ATP} -каналів) флокаліну [6]. В експериментах виявлено дозозалежні вазодилаторні ефекти та оцінено гіпотензивні якості препарату [8], встановлено його кардіопротекторну дію [2, 9]. Доведено, що флокалін стимулює мозковий кровотік та нормалізує біоенергетичні процеси в головному мозку [3].

Наявність впливу на серцево-судинну систему та позитивні метаболічні реакції дозволяють припустити спроможність флока-

ліну втручатись у кардіоренальні взаємовідносини. Тому доцільним є вивчення змін функціонального стану нирок під впливом флокаліну, що, можливо, доповнить фармакологічну характеристику нового вітчизняного препарату.

Метою даного дослідження було вивчення стану водо-, іоно-, кислотовидільної функцій нирок у лабораторних білих щурів після багаторазового введення нового фторвмісного активатора КАТФ-каналів флокаліну за умов сольового навантаження.

Матеріали та методи дослідження

Дослідження проводили на 18 лабораторних білих щурах масою 0,16–0,18 кг, яких утримували на гіпонатрієвому режимі харчування з вільним доступом до відстоюваної водогінної води. Флокалін [6] вводили впродовж 7 днів внутрішньошлунково за допомогою зонду в дозі 5 мг/кг на 1% слизу крохмалю в об'ємі 5 мл/кг маси тіла. Контрольні тварини отримували аналогічну кількість розчинника. Через 30 хв після останнього введення флокаліну всім щурам здійснювали сольове навантаження (0,45% розчин NaCl у кількості 3% від маси тіла, внутрішньошлунково). Діурез реєстрували через 2 години. Евтаназію тварин проводили під нембуталовим наркозом (1% розчин етаміналу натрію, 20 мг/кг), дотримуючись положення «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, яких використовують в експериментальних та інших наукових цілях» (Страсбург, 1986). У сечі та плазмі крові визначали вміст

іонів натрію та калію за методом фотометрії полум'я на ФПЛ-1. Концентрацію креатиніну в сечі визначали за методом Фоліна, в плазмі крові – за методом Попера в модифікації Мерзона [1] за реакцією з пікриною кислотою з наступним колориметруванням на спектрофотометрі СФ-46. Білок у сечі визначали за реакцією з сульфосаліциловою кислотою [5]. Вимір рН сечі здійснювали за допомогою мікробіоаналізатора «Redelkys» (Угорщина), вміст титрованих кислот і амонійних солей – за методом титрування [7]. Показники стандартизували та визначали за загальноновизначеними формулами [7]. Статистичну обробку проводили за допомогою комп'ютерної програми «Statgrafics». Достовірність показників визначали за t-критерієм Стьюдента.

Результати та їх обговорення

Результати досліджень показали, що після багаторазового введення флокаліну за умов сольового навантаження активується сечовидільна функція нирок (табл. 1). У порівнянні з контролем діурез збільшувався на 43,5%. Відносна реабсорбція води зменшувалась. Екскреція креатиніну з сечею підвищувалась на 31,2%. За рахунок зростання концентрації креатиніну в плазмі крові кліренс ендогенного креатиніну знижувався на 28,1%. При цьому зберігався вихідний рівень швидкості клубочкової фільтрації. Не втрачався білок із сечею, про що свідчить відсутність змін значень концентрації та екскреції білка після введення флокаліну.

Аналіз змін кислотовидільної функції нирок показує, що рН сечі під впливом флокаліну вірогідно зростає внаслідок зменшення екскреції титрованих кислот та аміаку (див. табл. 1). Зниження амонієвого коефіцієнта свідчить про меншу активність амоніогенезу порівняно з ацидогенезом. Ймовірно, що зменшується секреція аміаку клітинами проксимального і дистального каналців нефрону. Спостерігалось підвищення на 5% концентрації вільних іонів водню та на 50,8% збільшувалась їхня екскреція. Водночас стандартизований за клубочковою фільтрацією показник демонструє зменшення екскреції активних іонів водню на 58,7%, що також зумовлює залуження сечі.

Дослідження змін іонорегулювальної функції нирок (табл. 2) виявили, що при введенні флокаліну збільшується виділення осмотично активних речовин за відсутності вірогідних змін вмісту іонів калію і натрію у плазмі крові. Концентрація іонів калію в сечі зростала на 50%, калійурез підвищувався на 132,4%.

Після фармакологічної активації КАТФ-каналів за умов сольового навантаження на 23,8% підвищувалась концентрація іонів натрію в сечі, його концентраційний індекс збільшувався на 33,3% та зростав на 83,6% двоходинний натрійурез. Фільтраційне навантаження іонів натрію суттєво не змінювалось. Екскреторна фракція цього катіону збільшувалась на 80%. Відносна натрієва реабсорбція вірогідно зменшувалась (див. табл. 2).

Дослідження функціональних змін каналцевого відділу нефрону не виявило статистично значимих відмінностей проксимальної реабсорбції іонів натрію під впливом флокаліну. Дистальна реабсорбція цього катіону зростала на 46,9% без реабсорбції еквівалентної кількості води. Кліренс безнатрієвої води збільшувався на 44,5%. Підтвердженням натрійуретичного ефекту флокаліну є збільшення на 70% стандартизованого за швидкістю клубочкової фільтрації показника екскреції іонів натрію.

Таким чином, відкривач КАТФ-каналів флокалін при багаторазовому введенні після сольового навантаження шурів практично не впливає на діяльність гломерулярного відділу нефрону. Оцінювання показника за кліренсом ендогенного креатиніну не

Таблиця 1. Вплив багаторазового (7 днів) введення флокаліну (5 мг/кг) на діяльність нирок у шурів за умов сольового навантаження, $x \pm S_x$

Показники	Контроль	Флокалін
Діурез, мл/2 год	1,47 ± 0,138	2,12 ± 0,136*
Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л	0,99 ± 0,012	0,96 ± 0,016
Концентрація креатиніну в плазмі крові, ммоль/л	39,60 ± 1,920	54,17 ± 4,420*
Концентраційний індекс ендогенного креатиніну, од	25,48 ± 1,730	18,34 ± 1,606*
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год	1,54 ± 0,134	2,02 ± 0,137*
Клубочкова фільтрація, мкл/хв	317,6 ± 40,22	327,7 ± 44,88
Відносна реабсорбція води, %	95,98 ± 0,217	94,33 ± 0,491*
Концентрація білка в сечі, г/л	0,003 ± 0,0005	0,002 ± 0,0003
Екскреція білка, мг/100 мкл КФ	0,001 ± 0,0003	0,001 ± 0,0001
рН сечі	6,36 ± 0,106	7,00 ± 0,141*
Екскреція титрованих кислот, ммоль/2 год	26,95 ± 3,670	15,15 ± 2,915*
Екскреція амонійних солей, ммоль/2 год	40,03 ± 5,591	15,15 ± 2,915*
Амонійний коефіцієнт, од	1,52 ± 0,110	1,00 ± 0,000*
Концентрація Н ⁺ в сечі, ммоль/л	0,80 ± 0,007	0,84 ± 0,008*
Екскреція Н ⁺ , ммоль/2 год	1,18 ± 0,106	1,78 ± 0,099*
Екскреція Н ⁺ /100 мкл КФ	1,38 ± 0,022	0,57 ± 0,056*

Примітки: У табл. 1–2: * – вірогідність порівняно з контрольними показниками (P<0,05). КФ – клубочковий фільтрат.

Таблиця 2. Вплив багаторазового (7 днів) введення флокаліну (5 мг/кг) на іоновидільну функцію нирок у шурів за умов сольового навантаження, $x \pm S_x$

Показники	Контроль	Флокалін
Концентрація К ⁺ в сечі, ммоль/л	11,00 ± 0,900	16,50 ± 2,330*
Концентрація К ⁺ в плазмі, ммоль/л	4,95 ± 0,130	4,75 ± 0,083
Екскреція К ⁺ , ммоль/2 год	15,70 ± 0,882	36,49 ± 6,324*
Концентрація Na ⁺ в сечі, ммоль/л	0,42 ± 0,022	0,52 ± 0,033*
Концентрація Na ⁺ в плазмі, ммоль/л	125,0 ± 1,00	127,1 ± 2,08
Екскреція Na ⁺ , ммоль/2 год	0,61 ± 0,056	1,12 ± 0,112*
Фільтраційний заряд Na ⁺ , ммоль/хв	40,0 ± 5,41	41,8 ± 5,85
Екскреторна фракція Na ⁺ , ммоль/хв	0,005 ± 0,0004	0,009 ± 0,0009*
Відносна реабсорбція Na ⁺ , %	99,98 ± 0,001	99,97 ± 0,0008*
Концентраційний індекс Na ⁺ , од	0,003 ± 0,0002	0,004 ± 0,0003*
Кліренс безнатрієвої води, мл/2 год	1,46 ± 0,138	2,11 ± 0,135*
Проксимальний транспорт Na ⁺ , ммоль/100 мкл КФ	11,99 ± 0,124	12,02 ± 0,168
Дистальний транспорт Na ⁺ , ммоль/100 мкл КФ	0,49 ± 0,024	0,72 ± 0,060*
Екскреція Na ⁺ , ммоль/100 мкл КФ	0,20 ± 0,018	0,34 ± 0,014*

виявило змін швидкості клубочкової фільтрації. Відсутність протеїнуриї свідчить про збереження проникності пор клубочкової мембрани. Ймовірно, що активується каналцева секреція креатиніну, що, як і посилене сечовиділення, зумовлює збільшення його екскреції.

Функціональна здатність нирок щодо виведення води та солей з організму зберігається. Виділення надлишку осмотично активних катіонів та підвищення діурезу здійснюється переважно за рахунок

змін транстубулярних процесів у нирках за умов активації КАТФ-каналів. Зменшується всмоктування у проксимальному каналці іонів калію та підвищується його екскреція.

Отже, проявляються альдостеронозалежні ефекти, які зумовлюють підвищення калійурезу та збільшення натрієвої реабсорбції у дистальному сегменті нефрону. Однак при збільшенні осмолярності позаклітинної рідини введення флокаліну спричинює підвищення натрійуретичної функції нирок. Беручи до уваги кардіопротекторну дію нового фторвмісного активатора КАТФ-каналів, можна вважати передсердний натрійуретичний гормон одним із чинників активації екскреції іонів натрію за даних умов уведення флокаліну.

Отже, після багаторазового введення флокаліну в дозі 5 мг/кг за умов навантаження 0,45% розчином NaCl стабілізація водно-сольової рівноваги відбувається внаслідок активації сечо-, кислото- та іоновидільної функції нирок. Збільшення осмолярності позаклітинної рідини стримує системну вазодилатуючу дію активатора калієвих каналів за рахунок втручання нейрогормональних чинників регуляції водно-сольової рівноваги, що зумовлює стабільність фільтраційної функції нирок. Посилення водо-, іоновидільної та збільшення вмісту вільних іонів водню в сечі пов'язано з пригніченням каналцевої реабсорбції на рівні клітин проксимального сегменту нефрону.

Висновки

1. Багаторазове введення нового вітчизняного фторвмісного активатора КАТФ-каналів флокаліну в дозі 5 мг/кг за умов навантаження 0,45% розчином NaCl призводить до активації сечо- та іоновидільної функції нирок щурів.
2. За умов сольового навантаження організму під впливом флокаліну зберігається функціональний стан клубочкового сектору нефрону. Стабілізація осмотичної рівноваги забезпечується змінами транстубулярного транспорту води та електролітів на рівні проксимального відділу нефрону.
3. Флокалін втручається в механізми підтримки кислотно-лужної рівноваги, що свідчить про практичне значення подальшого вивчення можливостей препарату при патологічних станах, які супроводжуються каналцевим ацидозом.

Література

1. 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.
2. Войтичук О.І. Модуляція збудливості кардіоміоцитів активатором аденозинтрифосфатзалежних калієвих каналів флокаліном / О.І. Войтичук, О.О. Мойбенко, Я.М. Шуба // Фізіол. журн. – 2010. – Т. 56, № 1. – С. 41–52.
3. Денисюк О.М. Порівняльний вплив флокаліну та мексидолу на перебіг біоенергетичних процесів при гострій експериментальній ішемії головного мозку / О.М. Денисюк // Бук. мед. вісник. – 2011. – Т.15, № 1. – С. 131–133.
4. Лимаренко І.В. Біохімічні аспекти активації АТФ-залежних калієвих каналів судин та кардіоміоцитів / І.В. Лимаренко // Бук. мед. вісник. – 2005. – Т. 9, № 2. – С. 152–153.
5. Михеева А.И. Сульфосалициловый метод определения белка в моче / А.И. Михеева, И.А. Богодарова // Лабор. дело. – 1969. – № 7. – С. 441–442.
6. 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.
7. Рябов С.И. Функциональная нефрология / С.М. Рябов, Ю.В. Наточин. – СПб.: Лань, 1997. – 304 с.
8. Струтинський Р.Б. Вазодилаторні ефекти флокаліну – фторвмісного активатора аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / Р.Б. Струтинський // Фізіол. журн. – 2010. – Т. 56, № 4. – С. 59–65.
9. Флокалін – новий вітчизняний кардіопротектор / Р.Б. Струтинський, М.А. Мохорт, Л.М. Ягупольський, О.О. Мойбенко // Вісн. фармакології та фармації. – 2010. – № 3. – С. 44–46.
10. 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.
11. 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. – №141. – P. 1018–1029.
12. Kidney dysfunction as a risk factor for first symptomatic stroke events in a general Japanese population – the Ohasama study / M. Nakayama, H. Metoki, H. Terawaki [et al.] // Nephrol. Dial. Transplant. – 2007. – №22. – P. 1910–1915.
13. 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. – №67. – P. 224–228.