

20. Resetting of peripheral circadian clock by prostaglandin  $E_2$  / Y. Tsuchiya, I. Minami, H. Kadotani, E. Nishida // *EMBO reports*. – 2005. – Vol. 6. – P. 256-261.
21. Effects of inhibition of MAO and COMT on internal dopamine and serotonin and on renal function / Y. Wang, T. J. Berndt, J. M. Gross [et al.] // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* – 2001. – V. 280. – P. R248-R254.
22. Intrarenal Dopaminergic System Regulates Renin Expression / M.-Z. Zhang, B. Yao, X. Fang [et al.] // *Hypertension*. – 2009. – V. 53. – P. 564-570.
23. Molecular clock is involved in predictive circadian adjustment of renal function A.M. Zuber, G. Centenji, S. Pradervand [et al.] // *PNAS*. – 2009. – 106. – 38. – P. 16523-16528.

© Філіпець Н.Д., Оленович О.А., Філіпець О.О., Кметь О.Г., 2012

УДК 616.61-085.254.038:577.1

Н.Д. ФІЛІПЕЦЬ, О.А. ОЛЕНОВИЧ, О.О. ФІЛІПЕЦЬ, О.Г. КМЕТЬ

**ВПЛИВ ФЛОКАЛІНУ НА ПОКАЗНИКИ  
ПРОТЕОЛІТИЧНОЇ ТА ФІБРИНОЛІТИЧНОЇ  
АКТИВНОСТІ НА ПОЧАТКОВІЙ СТАДІЇ РОЗВИТКУ  
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ ГОСТРОЇ НИРКОВОЇ  
НЕДОСТАТНОСТІ**

N.D. FILIPETS, O.A. OLENOVICH, O.O. FILIPETS, O.G. KMET'

**INFLUENCE OF FLOCALIN ON THE INDEXES OF  
PROTEOLYTIC AND FIBRINOLYTIC ACTIVITY AT THE  
INITIAL STAGE OF EXPERIMENTAL ACUTE RENAL  
FAILURE**

Буковинський державний медичний університет, м. Чернівці

**Ключові слова:** флокалін, протеоліз, фібриноліз, експериментальна гостра ниркова недостатність.

**Key words:** flocalin, proteolysis, fibrinolysis, experimental acute renal failure.

**Резюме.** Сцелью изучения ренопротекторных механизмов флокалина исследован протеолиз, фибринолиз плазмы крови и мочи у лабораторных белых крыс самцов после разового введения препарата в дозе 5 мг/кг спустя 2 часа моделирования острой почечной недостаточности 1% раствором сулемы в дозе 5 мг/кг. Состояние протеолиза оценивали по лизису азоальбумина, азоказеина, азокола; состояние фибринолиза – по лизису азофибрина. Анализ результатов показывает, что под влиянием флокалина стабилизируются показатели повышенного неограниченного протеолиза и сниженного фибринолиза, что может обуславливаться гемодинамическими и метаболическими эффектами препарата. Повышение фибринолитической активности препятствует уротромбозу и свидетельствует про защитное влияние флокалина при развитии острой почечной недостаточности.

**Summary.** Aiming to study renoprotective mechanisms of Flocalin we have analyzed proteolysis

and fibrinolysis in blood plasma and urine of laboratory white male rats after a single administration of the drug 5 ml/kg in two hours after modelling acute renal failure with 1% solution of sublimate in the dose of 5 mg/kg. The state of proteolysis was assessed according to lysis of azoalbumin, azocasein and azocol, whereas the state of fibrinolysis – according to lysis of azofibrin. The analysis of the outcome has shown that the influence of Flocalin results in stabilization of indexes of both increased unrestricted proteolysis and decreased fibrinolysis. That can be caused by hemodynamic and metabolic effects of the drug. The increase of fibrinolytic activity hampers urothrombosis and gives evidence of protective influence of Flocaline in acute renal failure.

**Вступ.** Дослідження загальних закономірностей розвитку ниркової патології свідчать про поліморфізм механізмів хронізації процесу, та відповідну спрямованість патогенетичного лікування. Тому актуальним є пошук лікарських засобів із багатофакторною фармакодинамікою, які відновлюють функціонування всіх структурних елементів нефрону, гальмують розвиток потенціальних ускладнень захворювань нирок.

Останнім часом викликає інтерес вивчення властивостей нових лікарських засобів модуляторів іонних каналів, до яких відноситься вітчизняний фторвмісний відкривач калієвих аденозинтрифосфатзалежних ( $K_{ATP}$ ) каналів флокалін. Значний вазодилаторний ефект, уроспазмолітична активність, покращення метаболізму за умов тканинної ішемії та гіпоксії, а також малотоксичність препарату завдяки наявності у молекулі атому фтору [2,3,5] послугували передумовою досліджень впливу флокаліну на діяльність нирок. У проведених експериментах нами встановлено, що флокалін збільшує швидкість клубочкової фільтрації, посилює водо- та іонovidільну функцію нирок, втручається в механізми кислотно-лужної рівноваги [7,8]. Однак, зміни діяльності нирок взаємопов'язані з багатьма чинниками, до яких також належать необмежений протеоліз і фібриноліз. Від фібринолітичної активності залежить ступінь клубочково-канальцевої дезінтеграції, формування тубуло-інтерстиційного компоненту та стан головного енергозалежного процесу – реабсорбції іонів натрію [1,6]. У той же час, вивчення сечових біомаркерів протеолізу/фібринолізу має клінічно-діагностичне значення для моніторингу розвитку гострої ниркової недостатності (ГНН) [4]. Отже, вищевикладене обумовлює актуальність дослідження протеолізу та фібринолізу після застосування флокаліну для розширення уявлень про вплив препарату на збалансованість захисних механізмів, які сповільнюють прогресування патології нирок.

**Мета дослідження.** Вивчити зміни протеолітичної, фібринолітичної активності плазми крові та сечі під впливом відкривача  $K_{ATP}$ -залежних каналів флокаліну за умов початкової стадії розвитку ГНН.

**Матеріал і методи.** Досліди проведені на 18 лабораторних білих щурах масою 0,15-0,17 кг, яких утримували на гіпонатрієвому режимі харчування з вільним доступом до відстоюваної водо-

гінної води. ГНН моделювали внутрішньоочере-  
винним введенням 1% розчину сулеми в дозі 5 мг/  
кг маси тіла [6]. Дві години по тому групі щурів з  
сулемовою нефропатією зондом внутрішньошлун-  
ково вводили флокалін у дозі 5 мг/кг на 1% слизу  
крохмалю в об'ємі 5 мл/кг маси тіла. Контрольною  
була група інтактних щурів. Через 30 хв всім щурам  
здійснювали водне навантаження внутрішньош-  
лунковим уведенням водогінної води (5% від маси  
тіла) та поміщали в індивідуальні обмінні клітки  
для збору сечі впродовж 2 год. Евтаназію тварин  
проводили під нембуталовим наркозом (1% роз-  
чин етаміналу натрію, 20 мг/кг), дотримуючись  
положення "Європейської конвенції по захисту  
хребетних тварин, яких використовують в експе-  
риментальних та інших наукових цілях" (Страс-  
бург, 1986). Стан протеолізу плазми крові та сечі  
визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну,  
азоколу (Simko Ltd., Львів) та оцінювали аналогіч-  
но, як і фібриноліз, у  $E_{440}/\text{год}/\text{мл}$ , де  $E_{440}$  – показ-  
ник екстинції для активності [1]. Стан фібринолізу  
плазми крові та сечі вивчали за лізисом азофібри-  
ну (Simko Ltd., Львів) з оцінкою сумарної фібри-  
нолітичної активності (СФА), неферментативної  
фібринолітичної активності (НФА) – за додаван-  
ням до гомогенату блокатора ферментативного  
фібринолізу  $\epsilon$ -амінокапронової кислоти та визна-  
чали ферментативну фібринолітичну активність  
(ФФА) за різницею між СФА та НФА. Статистичну  
обробку проводили за допомогою комп'ютерної  
програми "Statgraphics". Достовірність визначали за  
t-критерієм Стьюдента.

**Результати дослідження.** Проведені дослі-  
дження показали (табл.), що за умов розвитку ГНН  
протеолітична активність плазми крові характе-  
ризувалась підвищенням ферментативного роз-  
щеплення азоальбуміну на 160%, та збільшенням  
на 135,3% лізису азоказеїну без змін протеолізу  
за азоколом. Аналогічна тенденція спостерігалась  
при вивченні протеолітичної активності сечі. Так,  
показники деградації азоколу вірогідно не відрі-  
знялись від контролю, лізис азоальбуміну підвищу-  
вався на 43,2%, протеоліз за азоказеїном зростав  
на 101,1%.

Під впливом відкривача  $K_{\text{ATP}}$ -каналів флокалі-  
ну знижувалась протеолітична активність плазми  
крові та сечі. У порівнянні з показниками при ГНН  
після застосування препарату лізис азоальбуміну  
у плазмі крові зменшувався на 46,2%, у сечі – на  
23,8%. Ферментативне розщеплення азоказеїну в  
плазмі знижувалась на 16,1%, у сечі цей показник  
був лише на 72% вищий за контрольне значення.

Стан фібринолізу через 2 год після введення  
сулеми відрізнявся від контролю зменшенням на  
75% і на 83,4% показників СФА та НФА у плазмі  
крові. Водночас зниження на 17,3% СФА сечі також  
відбувалось за рахунок зниження НФА на 43,2%.

Ведення флокаліну щурам з ГНН сприяло під-  
вищенню СФА плазми крові на 100% як за раху-  
нок збільшення на 112,5% ФФА, так і зростання на  
73,4% НФА у порівнянні з контролем. Також спо-  
стерігалось підвищення на 14% СФА сечі внаслі-  
док збільшення НФА на 38,1% (табл. 1).

Таблиця 1

**Вплив флокаліну на показники протеолізу, фібринолізу плазми крові та сечі за умов  
початкової стадії розвитку гострої ниркової недостатності ( $\bar{x} \pm S_x$ )**

Показники, $E_{440}/\text{год}/\text{мл}$	Контроль (n=6)	ГНН (n=6)	ГНН+ Флокалін (n=6)	Контроль (n=6)	ГНН (n=6)	ГНН+ Флокалін (n=6)
	Плазма крові			Сеча		
Лізис азоальбуміну	0,05±0,007	0,13±0,007 $p^* < 0,05$	0,07±0,017 $p^{**} < 0,05$	0,44±0,024	0,63±0,035 $p^* < 0,05$	0,48±0,027 $p^{**} < 0,05$
Лізис азоказеїну	0,17±0,017	0,23±0,012 $p^* < 0,05$	0,17±0,018 $p^{**} < 0,05$	0,88±0,020	1,77±0,084 $p^* < 0,05$	1,52±0,120 $p^* < 0,05$
Лізис азоколагену	0,03±0,006	0,03±0,004	0,03±0,004	0,16±0,013	0,23±0,044	0,16±0,040
СФА	0,04±0,004	0,01±0,002 $p^* < 0,05$	0,02±0,002 $p^* < 0,05$ $p^{**} < 0,05$	0,52±0,027	0,43±0,020 $p^* < 0,05$	0,49±0,013 $p^{**} < 0,05$
НФА	0,03±0,004	0,005±0,001 $p^* < 0,05$	0,008±0,002 $p^* < 0,05$	0,37±0,013	0,21±0,018 $p^* < 0,05$	0,29±0,009 $p^* < 0,05$ $p^{**} < 0,05$
ФФА	0,008±0,003	0,008±0,001	0,017±0,002 $p^* < 0,05$ $p^{**} < 0,05$	0,15±0,040	0,21±0,036	0,20±0,011

Примітка:  $p^*$  - вірогідність порівняно з контролем,  $p^{**}$  - вірогідність порівняно з гострою нирковою недостатністю, n – число спостережень.

**Обговорення результатів дослідження.** За умов розвитку патологічного процесу в нирках дисбаланс між активністю основних груп протеолітичних ферментів і підсиленням синтезом білка призводить до змін протеолізу. Відкриття каліє-

вих каналів покращує кровопостачання, модулює метаболічні реакції у відповідності до потреби в кисні та зберігає енергоресурси клітин, запобігає зниженню активності фермента антиоксидантної системи супероксиддисмутази [2]. Ймовірно, що

наслідком цього є гальмування механізмів формування гепаторенального синдрому [6] та, відповідно, стабілізація окремих показників протеолітичної активності під впливом флокаліну.

Виявлене зниження фібринолітичної активності через 2 год розвитку гострої ниркової недостатності можна пояснити ушкодженням проксимального відділу нефрону зі зниженням продукції останнім урокінази, яка в нормі забезпечує достатню активність системи фібринолізу [1,9,10]. Зниження констрикторних судинних реакцій під впливом флокаліну призводить до покращення кровообігу нирок, зменшення ішемічного ушкодження у кірковій речовині, збільшення виділення урокінази в юкстагломерулярному апараті, проксимальних каналцях, активації тканинного фібринолізу. В свою чергу, покращення фібринолітичної активності впливає на реологічні властивості крові, відновлює судинне русло при внутрішньосудинному згортанні крові та, власне, перешкоджатиме розвитку уротромбозу просвіту каналців нефрону, який значно погіршує перебіг нефрологічних захворювань.

Перспективним у вивченні захисного впливу на збалансованість ренальних процесів є дослідження протеолітичної та фібринолітичної активності кіркової, мозкової речовини та сосочки нирок під впливом активатора  $K_{ATF}$ -каналів флокаліну.

#### Висновки:

1. Відкривач  $K_{ATF}$ -залежних каналів флокалін після разового введення шурам за умов початкової стадії розвитку гострої ниркової недостатності гальмує надмірний протеоліз плазми крові та сечі.
2. Підвищення фібринолітичної активності під впливом флокаліну запобігатиме розвитку уротромбозу каналців та свідчить про захисний вплив препарату при прогресуванні ренальної дисфункції та розвитку гострої ниркової недостатності.

#### Література:

1. Бойчук Т.М. Патофізіологія гепаторенального синдрому при гемічній гіпоксії / Т.М. Бойчук, Ю.Є. Роговий, Г.Б. Попович. - Чернівці: Медичний університет, 2012. - 192 с.

2. Зміни метаболізму в міокарді при ішемії-реперфузії та активації аденозинтрифосфатчутливих калієвих каналів / [Р.Б. Струтинський, А.В. Коцюрба, О.П. Нещерет та ін.] // Фізіол. журн. - 2012. - Т. 58, №1. - С. 13-26.
3. 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 // Эксперим. и клин. Фармакол. - 2007. - Т. 40, № 4. - С. 32-34.
4. Определение мочевых маркеров протеолиза/фибринолиза и фиброангиогенеза в почке у больных гипертонической болезнью / [Л.В. Козловская, В.В. Рамеев, В.В. Фомин и др.] // Тер. архив. - 2011. - Т. 83, № 6. - С. 23-27.
5. 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.
6. Роговий Ю.Є. Патофізіологія гепаторенального синдрому на поліурічний стадії сулемової нефропатії / Ю.Є. Роговий, О.В. Злотар, Л.О. Філіпова. - Чернівці: "Місто", 2012. - 200 с.
7. Філіпець Н.Д. Вплив різних доз активатора калієвих каналів флокаліну на функціональний стан нирок за умов збільшення об'єму позаклітинної рідини / Н.Д. Філіпець // Клін. та експерим. патол. - 2012. - Т. XI, № 1. - С. 154-157.
8. Філіпець Н.Д. Стан гомеостатичної функції нирок після багаторазової активації калієвих каналів флокаліном за умов сольового навантаження / Н.Д. Філіпець, О.О. Філіпець // Ліки України. - 2012. - № 1-2. - С. 66-69.
9. 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. - № 293: F12-F19.
10. Urokinase receptor deficiency accelerates renal fibrosis in obstructive nephropathy / [G. Zhang, H. Kim, X. Cai et al.] // J Am Soc Nephrol. - 2003. - № 14. - P. 1254-1271.