

## СТАН ПРОТЕОЛІЗУ/ФІБРИНОЛІЗУ ТКАНИН НИРОК ПІД ВПЛИВОМ ФЛОКАЛІНУ ТА ДИЛТІАЗЕМУ ЗА УМОВ РОЗВИТКУ ГІПОКСИЧНОЇ ГІСТОГЕМІЧНОЇ НЕФРОПАТІЇ

*В експериментах на лабораторних білих щурах масою 0,15–0,17 кг встановлено, що за умов гіпоксичної гістогемічної нефропатії протеоліз підвищувався у кірковій і мозковій речовинах та знижувався в сосочку нирок; фібриноліз у мозковому шарі підвищувався. Флокалін чинив корегувальний вплив на протеоліз і надмірний фібриноліз, тоді як дилтіазем (по 5 мг/кг, 7 днів, внутрішньошлунково) суттєво зменшував потенціал протеолітичної та фібринолітичної активності нирок.*

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** протеоліз, фібриноліз, гіпоксична нефропатія, флокалін, дилтіазем.

**ВСТУП.** Одним з універсальних механізмів патогенезу багатьох захворювань, у тому числі патології нирок, є ендотеліальна дисфункція. Ендотелій відіграє не тільки роль селективного бар'єра на шляху проникнення в канальцеву рідину та інтерстицій різноманітних речовин із кровотоку, а також ключову роль у вазомоторних реакціях. Зсув рівноваги між вазодилататорами і вазоконстрикторами в бік останніх при гіпоксії за рахунок збільшення вмісту ангіотензину II чи ендотеліну призводить до зниження ниркового кровотоку, спазму еферентної артеріоли, підвищення інтрагломерулярного тиску, гіперфільтрації і розвитку нефросклерозу. Зміна структурно-функціонального стану стінки клубочкових капілярів спричинює гломерулярну протеїнурію, перевантаження білком особливо чутливих до гіпоксії тубулярних епітеліальних клітин, загибель нефронів. З ендотеліальною дисфункцією пов'язані пристінкові процеси коагуляції, протеолізу, фібринолізу та фіброангіогенезу. З огляду на це, критеріями ремоделювання ренальних судин і тубулоінтерстицію, як і ефективності потенційних нефропротекторів, є не тільки швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ), протеїнурія, але і біомаркери протеолізу/фібринолізу [2].

Порівняльна оцінка ефектів флокаліну і дилтіазему засвідчила переважні ренопротективні властивості флокаліну – вітчизняного активатора аденозинтрифосфатзалежних калієвих ( $K_{ATP}$ ) каналів на моделях сулемової та гіпоксич-

ної нефропатій [1, 5]. Проте протеолітичну та фібринолітичну активність тканин нирок під впливом вказаних модуляторів калієвих і кальцієвих каналів на тлі покращення таких показників функцій нирок, як ШКФ, екскреція білка, транстубулярний транспорт іонів натрію, практично не вивчено. Мета роботи полягала у дослідженні змін протеолізу/фібринолізу тканин нирок після введення флокаліну та дилтіазему за умов розвитку гіпоксичної нефропатії.

**МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Досліди проводили на 28 лабораторних статевозрілих щурах-самцях масою 0,15–0,17 кг. Гіпоксичну гістогемічну нефропатію (ГГН) моделювали шляхом введення нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу [4]. З 30 дня розвитку ГГН розпочинали внутрішньошлункове введення (7 днів) субстанції флокаліну та дилтіазему ("Sanofi", Франція) в дозі по 5 мг/кг на 1 % слизу крохмалю. Групам порівняння – інтактним (контрольним) і щурам з ГГН вводили розчинник. Евтаназію щурів проводили під нембуталовим наркозом (1 % розчин етаміналу натрію), дотримуючись положення Європейської конвенції про захист хребетних тварин, що використовуються для дослідних та інших наукових цілей (Страсбург, 1986). Стан протеолізу кіркової, мозкової тканин і сосочка нирок визначали за лізисом азоальбуміну, азоказеїну, азоколу ("Simko Ltd.", Львів) та оцінювали, як і фібриноліз, у  $E_{440}/\text{год}/\text{г}$ , де  $E_{440}$  – показник екстинції для активності. Стан фібринолізу

вивчали за лізисом азофібрину ("Simko Ltd.", Львів) з визначенням сумарної (СФА), неферментативної (НФА) та ферментативної (ФФА) фібринолітичної активності [3]. Статистичну обробку проводили за комп'ютерною програмою "Statgrafics".

**РЕЗУЛЬТАТИ Й ОБГОВОРЕННЯ.** Дослідження протеолізу кіркової речовини нирок за умов розвитку ГГН показали зростання лізису азоальбуміну на 85,1 % і азоколагену – на 21,4 % при відсутності змін лізису азоказеїну. Протеолітична активність у мозковому шарі збільшувалась внаслідок підвищення на 36,1 % лізису азоальбуміну та на 35,1 % лізису азоказеїну, однак у сосочку нирок вона зменшувалась за азоальбуміном на 53,4 %.

При дослідженні впливу флокаліну встановлено зниження в кірковій речовині нирок лізису азоальбуміну на 63,2 %, підвищення лізису азоказеїну на 85,7 % порівняно з нелікованими щурами та відновлення контрольного рівня лізису азоколагену. В мозковій речовині після введення флокаліну показники протеолітичної активності достовірно не відрізнялись від значень у інтактних тварин. При цьому зниження лізису азоальбуміну становило 64 %, азоказеїну – 66,7 %. У сосочку нирок показник лізису азоальбуміну в щурів з нефропатією під впливом активатора  $K_{ATФ}$  каналів не змінювався.

Після застосування дилтіазему в кортикальній тканині щурів з ГГН не відмічали зниження лізису азоальбуміну та азоказеїну, лізис азоколагену зменшувався до рівня контрольної групи. Вплив препарату на протеолітичну активність у мозковій речовині характеризувався суттєвим зменшенням лізису азоальбуміну. Зниження становило 82,5 і 76,2 % відносно нелікованих і здорових щурів. Аналогічна оцінка за азоказеїном показала зменшення значення на 65,1 і 52,8 %. У сосочку нирок щурів з ГГН після введення дилтіазему лізис азоальбуміну знижувався на 53,4 %, азоколагену – на 43,5 %. Порівняно з інтактними щурами відповідні показники зменшувались на 79,2 та 49,5 %.

Стан фібринолізу за умов розвитку ГГН характеризувався підвищенням на 56,1 % СФА в мозковому шарі за рахунок збільшення як НФА (на 64,4 %), так і ФФА (на 45,6 %). Дії флокаліну була притаманна зворотна тенденція змін ФФА, що зумовило деяке зниження по-

казника СФА, і порівняно з контрольною групою різниця становила 31,5 %. Після застосування дилтіазему в щурів з ГГН у мозковій речовині СФА зменшувалась на 40,9 %. Переважне значення для відновлення цього показника мало зниження ФФА на 40,4 %. В сосочку нирок під впливом препарату показники СФА, НФА, ФФА були на 31,2, 79,9 і 69,4 % нижчими від значень у інтактних тварин.

Підвищення показників протеолізу в кірковій і мозковій речовинах могло бути наслідком руйнування пошкоджених гіпоксією тканин нирок. Підвищення утворення активаторів плазміногену, в тому числі синтезу нирковим епітелієм урокінази, зумовлювало компенсаторне зростання фібринолізу в мозковому шарі. Погіршення мікроциркуляції, пригнічення антиоксидантного захисту і розвиток фіброзних змін у сосочку нирок проявлялись зниженням папілярної протеолітичної активності. На тлі потужної вазодилатації під впливом флокаліну [8] покращувалися стан ендотелію і кровообіг нирок, пригнічувався надмірний протеоліз/фібриноліз. Підвищений лізис азоказеїну в мозковій речовині свідчив про активацію репаративних процесів. Унаслідок гальмування ренін-ангіотензинової системи після застосування дилтіазему зменшувалась колагеностимулювальна дія ангіотензину II та зменшувався лізис азоколагену. Зниження фібринолітичної активності в сосочку нирок виключало корегувальний вплив дилтіазему на систему фібринолізу за умов хронізації гіпоксичної нефропатії. Переважні пригнічувальні впливи дилтіазему на протеоліз/фібриноліз могли зумовлюватись недостатнім, порівняно з активатором  $K_{ATФ}$  каналів, відновленням енергозабезпечення тканин і відповідали менш вираженій, ніж у флокаліну, нефропротективній активності відносно гомеостатичних функцій нирок [6, 7].

**ВИСНОВКИ.** 1. Гіпоксична гістогемічна нефропатія після 30 дня розвитку характеризувалась підвищенням протеолітичної активності у кірковій та мозковій речовинах, зменшенням протеолізу в сосочку нирок та фібринолізу в мозковому шарі.

2. Під впливом флокаліну стабілізувались процеси тканинного протеолізу і зменшувався надмірний фібриноліз, тоді як після введення дилтіазему потенціал протеолітичної та фібринолітичної активності нирок суттєво знижувався.

## СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Гоженко А. И. Нефротропные эффекты при активации аденозинтрифосфатчувствительных калиевых каналов в зависимости от функционального состояния почек крыс / А. И. Гоженко, Н. Д. Филипец // Нефрология. – 2013. – **17**, № 2. – С. 87–90.
2. 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. арх. – 2011. – **83**, № 6. – С. 23–27.
3. Пішак В. П. Тубуло-інтерстиційний синдром / В. П. Пішак, А. І. Гоженко, Ю. Є. Роговий. – Чернівці : Медакадемія, 2002. – 221 с.
4. Філіпец Н. Д. Морфологічні зміни тканин нирок щурів за умов поєданого застосування нітриту натрію та 2,4-динітрофенолу / Н. Д. Філіпец, А. І. Гоженко, І. С. Давиденко // Вісник морфології. – 2013. – **19**, № 2. – С. 268–271.
5. 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. – **18**, № 4. – С. 57–61.
6. Филипец Н. Д. Сравнительное изучение нефропротекторных свойств модуляторов калиевых и кальциевых каналов при экспериментальном поражении почек / Н. Д. Филипец, А. И. Гоженко // Эксперим. и клин. фармакол. – 2014. – **77**, № 1. – С. 10–12.
7. Gozhenko A. Flokaline and diltiazem renoprotector properties in chronization hypoxic nephropathy / A. Gozhenko, N. Filipets, W. Zukow // Journal of Health Science. – 2013. – **3**, № 12. – P. 389–398.
8. Strutynskiy R. B. Vasodilatation Effects of Fluorine-Containing  $K_{ATP}$  Channels Opener of Flocalin / R. B. Strutynskiy // Int. J. Phys. Pathophys. – 2011. – **2**, № 1. – P. 69–77.

**Н. Д. Филипец**

БУКОВИНСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ, ЧЕРНОВЦЫ

## СОСТОЯНИЕ ПРОТЕОЛИЗА/ФИБРИНОЛИЗА ТКАНЕЙ ПОЧЕК ПОД ВЛИЯНИЕМ ФЛОКАЛИНА И ДИЛТИАЗЕМА ПРИ РАЗВИТИИ ГИПОКСИЧЕСКОЙ ГИСТОГЕМИЧЕСКОЙ НЕФРОПАТИИ

### Резюме

В экспериментах на лабораторных белых крысах массой 0,15–0,17 кг установлено, что при гипоксической гистогемической нефропатии протеолиз повышался в корковом и мозговом веществах и понижался в сосочке почек; фибринолиз в мозговом веществе повышался. Флокалин проявлял корригирующее влияние на протеолиз и чрезмерный фибринолиз, тогда как дилтиазем (по 5 мг/кг, 7 дней внутривенно) существенно уменьшал потенциал протеолитической и фибринолитической активности почек.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: протеолиз, фибринолиз, гипоксическая нефропатия, флокалин, дилтиазем.

**N. D. Filipets**

BUKOVYNA STATE MEDICAL UNIVERSITY

## STATE OF PROTEOLYSIS AND FIBRINOLYSIS IN KIDNEY TISSUES IN HYPOXIC HISTOHEMIC HYPOXIA UNDER THE INFLUENCE OF FLOCALIN AND DILTIAZEM

### Summary

The experiments on laboratory white rats (0.15–0.17 kg) with modeled hypoxic histohemic nephropathy have shown the increase of proteolysis in renal cortex and medulla, decrease of proteolysis in renal papilla, and decrease of fibrinolysis in renal medulla. Flocalin has demonstrated corrective influence on proteolysis and excessive fibrinolysis, while diltiazem (5 mg/kg intravenously) essentially reduced the potential of proteolytic and fibrinolytic activity of kidneys.

KEY WORDS: proteolysis, fibrinolysis, hypoxic nephropathy, flocalin, diltiazem.

Отримано 22.07.14

Адреса для листування: Н. Д. Філіпец, Буковинський державний медичний університет, Театральна площа, 2, Чернівці, 58002, Україна.