



УКРАЇНА

(19) **UA** (11) **146192** (13) **U**

(51) МПК (2021.01)

A61B 5/00

A61K 31/00

A61P 9/12 (2006.01)

НАЦІОНАЛЬНИЙ ОРГАН
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ
ДЕРЖАВНЕ ПІДПРИЄМСТВО
"УКРАЇНСЬКИЙ ІНСТИТУТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ"

(12) ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

(21) Номер заявки: **u 2020 04433**

(22) Дата подання заявки: **16.07.2020**

(24) Дата, з якої є чинними
права інтелектуальної
власності: **28.01.2021**

(46) Публікація відомостей
про державну
реєстрацію: **27.01.2021, Бюл.№ 4**

(72) Винахідник(и):

**Бойчук Тарас Миколайович (UA),
Оленович Ольга Анатоліївна (UA),
Гоженко Анатолій Іванович (UA)**

(73) Володілець (володільці):

**ВИЩИЙ ДЕРЖАВНИЙ НАВЧАЛЬНИЙ
ЗАКЛАД УКРАЇНИ "БУКОВИНСЬКИЙ
ДЕРЖАВНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"
МОЗ УКРАЇНИ,
пл. Театральна, 2, м. Чернівці, 58002 (UA)**

(54) СПОСІБ МОДЕЛЮВАННЯ ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЇ БЛОКАДИ ВНУТРІШНЬОНИРКОВОЇ РЕНІН-АНГІОТЕНЗИНОВОЇ СИСТЕМИ

(57) Реферат:

Спосіб моделювання експериментальної блокади внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи шляхом внутрішньоочеревинного одноразового введення водного розчину інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу. Водний розчин інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу вводять у дозі 10 мг/кг маси тіла за 2 години до збору крові та сечі для подальших досліджень.

UA 146192 U

Корисна модель належить до галузі медицини, а саме до патологічної фізіології, і може бути використана для вивчення адаптаційних, патофізіологічних механізмів і функціонально-морфологічного стану нирок за умов блокади внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи (РАС), а також у фармакології та нефрології для дослідження і встановлення

нефропротекторних ефектів лікарських засобів, діагностики, прогнозування перебігу та оцінки ефективності лікування хвороб нирок, швидкості прогресування ниркової недостатності.

Адекватна оцінка функціонального стану нирок, зокрема, у випадку ранньої діагностики його порушень, вимагає моделювання нефропатії з диференційованим пошкодженням певного відділу нефрону, відтворенням окремого патофізіологічного механізму розвитку та прогресування ренальної патології. З огляду на твердження щодо відносної універсальності каскаду патологічних процесів, котрі ініціюються за будь-яких нефропатій незважаючи на специфічність механізмів, обумовлених безпосередньо характером захворювання, та, в свою чергу, визначають перебіг хвороби нирок, дослідженню значущості зазначених патофізіологічних каскадів надається пріоритетне значення і вимагає детального вивчення ролі кожного з них на різних стадіях розвитку нефропатії. Належність РАС до провідних регуляторних систем організму людини, що мають першочергове значення у патогенезі хронічної патології нирок, визначає необхідність дослідження наслідків її впливу на розвиток ренопатій на тлі різноманітних захворювань при клінічних та експериментальних дослідженнях з метою розробки нефропротекторних стратегій.

Аналогом корисної моделі є спосіб блокади ангіотензин-перетворюючого фермента (Доломатов С.И., Лапай В.С., Шпак В.С. Особенности реакции белых крыс на нитрит натрия в условиях блокады ангиотензин-1-превращающего фермента. Одеський медичний журнал. 2007. № 1(99). С.35-38), в якому введення каптоприлу в дозі 10 мг/л здійснюють з одночасним напоюванням дослідних тварин водним розчином нітриту натрію (50 мг/л).

Недоліком аналогу-способу є оцінка функціонального стану нирок, в тому числі кліренсу креатиніну та екскреції білка, за умов введення каптоприлу у сполученні з нітритним навантаженням, що унеможлиблює присвоєння виявлених ознак ренальної дисфункції виключно ізольованій блокаді внутрішньониркової РАС.

Найближчим аналогом до запропонованої корисної моделі є спосіб блокади ангіотензинперетворюючого ферменту (Белоус Ю.А. Влияние каптоприла на свободнорадикальные процессы в почках при экспериментальной острой почечной недостаточности. Украинский медицинский альманах. 2003. Т.6. № 6. С. 116-119), в якому водний розчин інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту (іАПФ) каптоприлу вводять внутрішньоочеревинно одноразово на добу за 20 хвилин до формування гострої ниркової недостатності (ішемічна та гліцерольна моделі) в дозі 1,3 мг/кг маси тіла дослідних тварин впродовж 1-ї, 2-х та 3-х діб.

Недоліком найближчого аналога, окрім недоведеної фармакологічної ефективності застосованої дози препарату та часу його введення, що з точки зору фармакокінетики іАПФ ставить під сумнів достовірність повної блокади РАС, є, також, необхідність курсового введення каптоприлу впродовж 3-х діб, що обмежує можливість використання моделі в умовах ініціації ниркових розладів за відсутності змоги дослідити патофізіологію ренальних дисфункцій на початкових стадіях їх розвитку.

В основу корисної моделі поставлена задача - вдосконалення способу моделювання експериментальної блокади внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи шляхом внутрішньоочеревинного одноразового введення водного розчину інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу в дозі 10 мг/кг маси тіла за 2 години до збору крові та сечі для подальших досліджень.

Поставлена задача вирішується тим, що спосіб моделювання експериментальної блокади внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи шляхом внутрішньоочеревинного одноразового введення водного розчину інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу, згідно з корисною моделлю, водний розчин інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу вводять у дозі 10 мг/кг маси тіла за 2 години до збору крові та сечі для подальших досліджень.

Загальновизнаним є факт як захисної, так і пошкоджувальної ролі РАС у розвитку та прогресуванні нефропатій. У нирках надзвичайно високими є концентрації ангіотензиногену і найвищі в організмі концентрації АПФ. Встановлено, що інтаренальний ангіотензин II формується з ангіотензину I, що потрапляє з кровотоку і утворюється в самій нирковій тканині. Тому ангіотензин II значно збільшується в нирках навіть за умов зниженого в плазмі крові рівня реніну. Основним джерелом ангіотензину II у клубочковій тканинній РАС є гломерулярні

подоцити, а також гломерулярні мезангіальні клітини та клітини проксимальних звивистих каналців.

Встановлено прямий вплив ангіотензину II на проникність клубочкової мембрани і розвиток протеїнурії - незалежного і вельми значимого фактора прогресування ренальної патології. При гіперреактивності РАС ангіотензин II посилює експресію в подоцитах і мезангіальних клітинах клубочків трансформуючого фактора росту бета, судинного епітеліального і тромбоцитарного факторів росту, внаслідок чого прискорюється апоптоз, патологічна структурно-функціональна перебудова ниркових клітин та втрата частки функціонуючих нефронів. Одним із механізмів розвитку дисфункції нирок вважають активацію макрофагів і фагоцитозу під впливом ангіотензину II, що посилює запальний компонент прямого гемодинамічного пошкодження подоцитів і мезангіальних клітин при гіперреактивності ренальної РАС. Нарешті, ангіотензин II симулює утворення наднирниками мінералокортикоїда альдостерону, який (як і ендотелін-1) залучається до процесу ремоделювання нирок.

Відтак, з огляду на провідну роль гемодинамічних та негемодинамічних ефектів внутрішньониркової РАС у патогенезі гострої і хронічної патології нирок, фармакологічна модуляція її активності на різних рівнях слугує одним з найбільш ефективних способів вивчення особливостей її внеску у прогресування ниркової патології на тлі різноманітних захворювань. Серед лікарських засобів, які блокують активність циркулюючої та тканинних РАС, особливої уваги заслуговують інгібітори АПФ, які пригнічують активність ензиму, котрий каталізує, з одного боку, перетворення ангіотензину I в ангіотензин II, а з іншого розщеплення брадикініну до неактивних пептидів. В результаті іАПФ послаблюють ефекти РАС та посилюють дію калікреїн-кінінової системи.

Разом з тим, незважаючи на подібність основних механізмів дії, між іАПФ існують певні відмінності щодо ступеня і тривалості пригнічення активності АПФ в окремих органах, їх так званої органоселективності. Так, за результатами досліджень *ex vivo*, реноселективність каптоприлу проявляється практично повним пригніченням активності АПФ (84-100 %). Чисельні дослідження демонструють додаткову ренопротекторну дію каптоприлу при нефропатіях порівняно з іншими іАПФ. Перевагою каптоприлу є його фармакокінетичні особливості, зокрема, швидке настання ефекту препарату (впродовж 15-30 хвилини після його прийому всередину, досягнення максимальної ефективності через 1-2 години) та тривалість його дії до 6-10 годин. Крім того, біодоступність каптоприлу після вживання всередину становить 75-90 %, він виявляє свій фармакологічний вплив без попередньої біотрансформації в печінці, досить швидко виводиться з організму (період напівжиття каптоприлу в плазмі крові коливається від 1 до 6 годин), причому основний шлях його елімінації - ниркова екскреція як за рахунок клубочкової фільтрації, так і шляхом активної секреції каналцями. Наведені наукові відомості свідчать про те, що використання каптоприлу як модулятора активності РАС при проведенні експериментальних досліджень є інформативним інструментом вивчення впливу останньої на стан гломерулярної гемодинаміки та парціальні функції нирок на різних стадіях розвитку ренопатій.

Запропонований спосіб було використано авторами для дослідження ролі внутрішньониркової РАС у патогенезі ренальних розладів різної тривалості в динаміці розвитку експериментального алоксан-індукованого діабету у 24 щурів, констатовано його валідність, відтворюваність і репрезентативність: зменшення діурезу та кліренсу ендogenous креатиніну, а також інтенсивності виділення білка з сечею за дії каптоприлу вважали підтвердженням об'єктивності відтворюваного нами способу моделювання експериментальної блокади внутрішньониркової РАС.

Результатом блокади внутрішньониркової РАС слід вважати збільшення діурезу, швидкості клубочкової фільтрації за кліренсом ендogenous креатиніну та зростання екскреції натрію.

Застосування інгібітора АПФ (іАПФ) каптоприлу гарантує селективність і надійність відтворення зазначеного процесу без залучення інших ренальних регуляторних механізмів, максимальну його подібність до природних механізмів перебігу патології в людини, а також зручність процесу моделювання та економічну невитратність. Його доза розрахована як еквімолярна відносно відомої ефективної концентрації каптоприлу - 10 мг/кг маси тіла - відповідно до його фармакокінетичних особливостей, і вводиться одноразово без курсового введення.

Корисну модель здійснюють наступним чином.

Для моделювання експериментальної блокади внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи піддослідним тваринам внутрішньоочередово одноразово вводять водний розчин інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу (Каптоприл, КРКА, Словенія) у дозі 10 мг/кг маси тіла за 2 години до збору крові та сечі для подальших досліджень.

Приклад практичного використання корисної моделі.

Здійснювали моделювання блокади внутрішньониркової РАС на тлі експериментального цукрового діабету. З цією метою 8-ми статевозрілим нелінійним самцям білих щурів з 11 - денним алоксан-індукованим діабетом вводили водний розчин іАПФ каптоприлу у дозі 10 мг/кг маси тіла внутрішньоочеревинно одноразово. Через 2 години після введення іАПФ 16-ти алоксан-діабетичним тваринам (8 щурів з 11-денним експериментальним діабетом та 8 алоксан-діабетичних щурів, котрим ввели каптоприл) провели 5 % водне навантаження підігрітою до 37 °С водою, розмістили їх у індивідуальні обмінні клітки, пристосовані для збору сечі, і збирали сечу впродовж 2 годин. Подальший аналіз проб сечі, а також плазми крові, відібраної в момент декапітації тварин, дозволили оцінити параметри діяльності нирок за умов фармакологічної блокади РАС, які предсталені у таблиці.

Таблиця

Показники екскреторної функції нирок у щурів з 11 - денним алоксан-індукованим діабетом на тлі фармакологічної блокади внутрішньониркової РАС ($\bar{x} \pm Sx$)

Показник	Група, кількість тварин	
	11-денний алоксановий діабет, n=8	11-денний алоксановий діабет + каптоприл, n=8
Діурез, мл/2 год.	3,43 \pm 0,16	4,90 \pm 0,41 p<0,05
Швидкість клубочкової фільтрації, мкл/хв.	515,60 \pm 49,36	755,31 \pm 62,08 p<0,05
Концентраційний індекс ендogenous креатиніну, од.	18,19 \pm 1,87	20,02 \pm 3,38 p>0,9
Концентрація креатиніну в сечі, ммоль/л	1,59 \pm 0,10	1,59 \pm 0,27 p>0,6
Екскреція креатиніну, мкмоль/2 год.	5,42 \pm 0,37	7,13 \pm 0,57 p<0,05
Екскреція іонів натрію, мкмоль за 2 год.	13,48 \pm 0,76	18,87 \pm 1,56 p<0,01

Примітки: оцінку міжгрупових відмінностей здійснювали за допомогою непараметричного критерію Мана-Уїтні; p - вірогідність розбіжності показників з групою 11-денного діабету

За результатами проведених досліджень встановлено, що використання запропонованого способу викликає фармакологічну блокаду внутрішньониркової РАС у алоксан-діабетичних щурів, яка підтверджується відсутністю прогресивного зменшення екскреторної діяльності нирок, характерного для діабетичної нефропатії, та навіть зростанням діурезу (на 42,9 %, p<0,05) і швидкості клубочкової фільтрації (на 46,5 %, p<0,05) за дії каптоприлу, припиненням зменшення концентраційного індексу ендogenous креатиніну (p>0,9) та концентрації креатиніну в сечі (p>0,7) за інтенсифікації його екскреції нирками (на 31,5 %, p<0,05), а також зростанням екскреції іонів натрію (на 40,0 %, p<0,01) порівняно з відповідними показниками алоксан-діабетичних щурів без введення каптоприлу.

Запропонований спосіб дозволяє ефективно та достовірно моделювати експериментальну блокаду внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи, наближаючи процес до природних механізмів перебігу патології в людини, є об'єктивним і точним, нескладним у виконанні, забезпечує можливість цілеспрямованого дослідження ролі внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи у патогенезі нефропатії на ранніх стадіях її розвитку, що сприятиме розширенню арсеналу експериментальних моделей для відтворення провідних ланок патогенезу нефропатій та вибору оптимальної ренопротекторної тактики за наявності подібних розладів діяльності нирок у клінічній практиці.

ФОРМУЛА КОРИСНОЇ МОДЕЛІ

Спосіб моделювання експериментальної блокади внутрішньониркової ренін-ангіотензинової системи шляхом внутрішньоочеревинного одноразового введення водного розчину інгібітора

ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу, який **відрізняється** тим, що водний розчин інгібітора ангіотензин-перетворюючого ферменту каптоприлу вводять у дозі 10 мг/кг маси тіла за 2 години до збору крові та сечі для подальших досліджень.