

ФАРМАКОЛОГИЯ ВЫДЕЛИТЕЛЬНОЙ СИСТЕМЫ

ОСОБЕННОСТИ ФАРМАКОДИНАМИКИ И ФАРМАКОКИНЕТИКИ ФУРОСЕМИДА У КРЫС В УСЛОВИЯХ ДЛИТЕЛЬНОГО ВВЕДЕНИЯ

В. М. Брюханов, Я. Ф. Зверев, В. В. Лампатов, А. Ю. Жариков¹

В условиях повторного внутривентриального введения фуросемида крысам (20 мг/кг в сутки) на протяжении 7 дней выявлено ослабление диуретического, натрийуретического и калийуретического эффектов препарата, обусловленное снижением его почечной экскреции. Оказалось, что более 85 % суточного выделения натрия осуществляется в первые 6 ч после введения фуросемида на фоне сопоставимой величины экскреции последнего. Выделение воды и калия распределяется более равномерно в пределах суток. Установлено, что в процессе длительного применения происходит последовательное снижение экскреции фуросемида в первые 6 ч после введения и постепенный рост этого показателя в последующие 18 ч. Эти изменения динамики суточного выделения препарата обуславливают развитие аналогичной тенденции в отношении суточной экскреции воды и электролитов.

Ключевые слова: фуросемид, фармакодинамика, фармакокинетика, почечная экскреция

ВВЕДЕНИЕ

Мочегонное действие фуросемида основано на способности ингибировать Na-K-2Cl ко-транспортер в клетках толстого восходящего отдела петли Генле. Это приводит к уменьшению реабсорбции ионов и, как следствие, к снижению реабсорбции воды [1, 3]. В результате развивается мощный диуретический эффект, который достигает максимума в течение первых 6 ч после введения препарата и длится до 24 ч [6]. Фуросемид подвергается метаболическим превращениям в печени при участии системы цитохрома P-450, так что часть его попадает в почки уже в трансформированном виде [4]. Здесь диуретик активно секретруется в просвет проксимального канальца с помощью системы секреторного транспорта органических кислот. Примечательно, что оба отмеченных процесса подвергаются субстратной стимуляции в условиях частого введения препаратов, подвергающихся метаболизму в печени и секреции в почках [2]. А это в свою очередь влияет на выраженность их фармакологического действия. Поэтому представлялось интересным выяснить, как изменяются почечные эффекты фуросемида в условиях его ежедневного введения и существует ли связь между этими изменениями и содержанием диуретика в моче.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на 20 белых беспородных крысах обоего пола массой 250 – 280 г, находившихся в индивидуальных клетках для сбора мочи в условиях свободного доступа к воде и пище. Фуросемид вводили в дозе 20 мг/кг внутривентриально в 12 ч дня. Сбор мочи проводили через 6 ч после введения препарата и через последующие 18 ч. Концентрацию фуросемида в моче определяли методом ВЭЖХ. В качестве элюентов использовали ацетонитрил при градиенте — от 0 до 100 % и фосфатный буфер (pH 7). Детектирование проводилось при трех длинах волн — 210, 280, 320 нм. Для расчетов применяли калибровочный график, который строили, используя стандартный раствор фуросемида в концентрации 0,2 мг/мл. Натрий и калий в моче определяли методом пламенной фотометрии.

Полученные результаты обрабатывали статистическим методом вариационных рядов с использованием критериев Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

На рис. 1 представлены результаты длительного влияния фуросемида на экскреторную функцию почек у крыс. Из рисунка видно, что после первого введения фуросемида развивался мощный диуретический эффект, характеризовавшийся увеличением суточного мочеотделения с $9,8 \pm 0,55$ мл в контроле до $24,9 \pm 2,14$ мл ($p < 0,001$). Начиная со второго введения, диуретическое действие препарата существенно ослаблялось, уступая эффекту первого дня в 1,8 раза, и сохранялось примерно на этом уровне на протяжении

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. В. М. Брюханов) Алтайского государственного медицинского университета, Барнаул, 656038, пр. Ленина, 40.

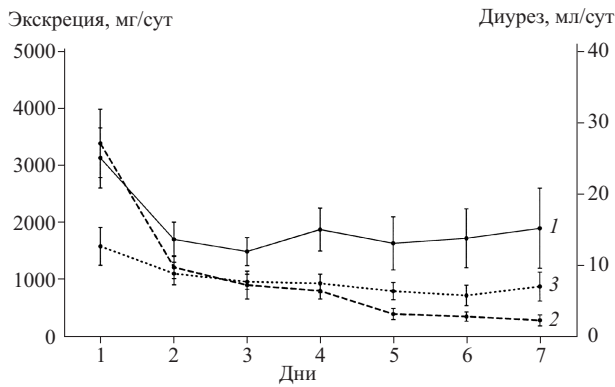


Рис. 1. Влияние 7-дневного введения фуросемида (20 мг/кг/сут внутривнутрибрюшинно) на суточную экскрецию воды и электролитов у крыс.

По оси абсцисс — дни введения, по оси ординат слева — экскреция электролитов, справа — экскреция воды. 1 — диурез, 2 — экскреция натрия, 3 — экскреция калия. Все цифры, начиная со 2-го дня, достоверно отличаются от показателей 1-го дня.

последующих четырех дней введения. И лишь после последнего седьмого введения фуросемида величина суточного диуреза вновь несколько возросла, составив $16,8 \pm 2,59$ мл, что в 1,5 раза меньше эффекта первого введения, но существенно превосходит контрольный уровень ($p < 0,02$). Кроме того, в условиях длительного введения фуросемида были зафиксированы изменения суточной динамики мочегонного эффекта. В таблице представлены коэффициенты, отражающие соотношение выделения мочи, электролитов и фуросемида за первые 6 ч по отношению к их суточной экскреции. Из таблицы видно, что если в результате начальных четырех введений объем мочи, выделенной за первые 6 ч примерно соответствовал таковому за последующие 18 ч, то, начиная с 5-го дня, это соотношение изменялось. После четвертого введения препарата начиналось последовательное уменьшение 6-часового объема и увеличение количества мочи, выделяющейся в более поздний период. В результате этого упомянутый коэффициент к последнему дню наблюдения снижался.

Иная картина характеризовала влияние длительного применения фуросемида на почечную экскрецию натрия. Возвращаясь к рис. 1, отметим, что после мощного натрийуретического эффекта, характеризующего первое введение диуретика, второе введение вызвало почти трехкратное его снижение. Затем происходило дальнейшее последовательное уменьшение выделения натрия из организма, так что после 7 введения его величина уступала эффекту первого дня более чем в 10 раз: 3365 ± 297 мкМ/сут и 292 ± 48 мкМ/сут соответственно. И все же натрийурез по-прежнему существенно превосходил контрольный уровень, который составлял 96 ± 11 мкМ/сут ($p < 0,001$). Были зафиксированы существенные различия в распределении экскреции Na^+ на протяжении суток по сравнению с

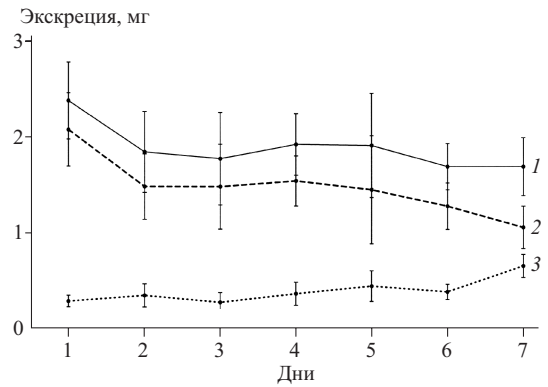


Рис. 2. Экскреция фуросемида в ходе 7-дневного введения крысам в дозе 20 мг/кг/сутки внутривнутрибрюшинно.

По оси абсцисс — дни введения, по оси ординат — экскреция фуросемида. 1 — суточная экскреция, 2 — экскреция за первые 6 ч после введения, 3 — экскреция за последующие 18 ч.

выделением воды. Если диурез, как уже отмечено, в первые 4 дня равномерно распределялся между начальными шестью и последующими восемнадцатью часами после введения фуросемида, то в отношении экскреции натрия это соотношение выглядело иначе. Так, в первые 6 ч выделялось от 93 % (первое введение) до 86 % (четвертое введение) от суточного пула экскреции Na^+ , а на оставшиеся 18 ч приходилось соответственно лишь 7 и 14 %. Затем вклад 18-часовой экскреции натрия несколько возрастал, что, как и в случае с выделением воды, приводило к некоторому изменению соотношения $\text{ENa}_6/\text{ENa}_{24}$ к концу периода наблюдения (таблица).

Рассматривая влияние фуросемида на экскрецию калия, отметим, что после первого введения диуретика наблюдалось мощное калийуретическое действие, когда экскреция этого электролита существенно превосходила исходные значения: 1573 ± 165 мкМ/сут и 905 ± 54 мкМ/сут соответственно ($p < 0,01$). Затем несмотря на продолжающиеся введения, выделение калия из организма снижалось и к третьему дню не отличалось от контрольных величин, оставаясь на одном уровне вплоть до конца эксперимента. Относительно динамики экскреции калия на протяжении суток отметим, что, как следует из материалов, представленных в таблице, выделение этого электролита равномерно распределялось между первыми шестью часами после введения и последующими восемнадцатью. При этом была зафиксирована тенденция, соответствующая двум выше рассмотренным показателям: снижение со временем выделения иона в первые часы с соответствующим ростом в последующие.

Исследование экскреции фуросемида с мочой показало, что за первые 6 ч из организма выделяется в среднем около 30 % от введенной суточной дозы препарата. Как видно из рис. 2, уже после второго введения происходило достоверное снижение выделения фуросемида в сравнении с первым введением:

1,49 ± 0,17 мг и 2,08 ± 0,19 мг соответственно ($p < 0,05$). Затем в течение последующих трех дней экскреция оставалась примерно на таком же уровне, а с 6-го дня вновь наблюдалось снижение выделения препарата вплоть до 1,07 ± 0,11 мг ($p < 0,01$) после седьмого введения. При этом, как и в случае с экскрецией натрия, подавляющее количество фуросемида в первые дни (от 81 до 87 % от величины суточной экскреции) выделялось в этот промежуток времени.

Как следует из того же рис. 2, динамика изменений экскреции фуросемида в последующие 18 ч носила иной характер. Так, в течение первых трех дней она сохранялась приблизительно на одном уровне — 0,29 – 0,36 мг (5,5 – 6,5 % от введенной дозы). А с 4-го введения начинался последовательный рост описываемого показателя, достигавший максимума после последнего введения, когда он составил 0,67 ± 0,06 мг, что вдвое превосходило показатели первых дней.

Таким образом, зарегистрировано две разнонаправленные тенденции в экскреции фуросемида в условиях многократного введения препарата: последовательное уменьшение его выделения в первые 6 ч после инъекции, начиная со второго дня, и увеличение экскреции диуретика в последующие 18 ч, начиная с 4-го дня применения. Естественно, что в этих условиях, как видно из таблицы, динамика экскреции фуросемида на протяжении суток претерпевала существенные изменения, которые, впрочем, соответствовали той же тенденции, что и другие, описанные выше параметры. Показатель $E\Phi_6/E\Phi_{24}$, составлявший 0,81 – 0,87 в первые дни, снижался до 0,63 после последнего введения.

Суточное выделение фуросемида с мочой на этом фоне уменьшалась к окончанию введений в 1,4 раза, что было обусловлено более весомым вкладом экскреции за первые 6 ч в общий суточный показатель.

В результате многократного внутрибрюшинного введения больших доз фуросемида крысам получены новые и неожиданные результаты. С одной стороны, как и ожидалось, выявлена прямая зависимость между экскрецией фуросемида с мочой и экскрецией ионов Na^+ . В среднем около 85 % от суточного выделения того и другого приходилось на первые 6 ч после введения препарата, особенно в ходе первых четырех введений. Затем, начиная с пятого введения, этот показатель несколько снижался с соответствующим увеличением экскреции фуросемида и натрия в последующие 18 ч. С другой стороны, что оказалось неожиданным, суточная динамика диуретического и калийуретического эффектов существенно отличалась от описанной выше. Так, в первые 6 ч после введения фуросемида выделялось лишь 40 – 50 % от суточной экскреции воды и калия. Эта тенденция также сохранялась на протяжении первых четырех введений, затем вклад первых 6 ч уменьшался до 26 – 38 %. Таким образом, в данных экспериментальных условиях не было зафиксировано параллелизма между суточной динамикой

экскреции натрия и воды, а 10 – 15 % экскретированного за 18 ч натрия (за счет такого же количества выделяющегося фуросемида) обеспечивают половину суточного диуреза.

Обращают на себя внимание различия в степени уменьшения экскреции воды и электролитов в условиях повторных введений фуросемида. Факт ослабления диуретического, натрий- и калийуретического эффектов препарата хорошо известен. Однако в наших экспериментах выяснилось, что в результате 7-дневного введения фуросемида диуретическое действие уменьшилось примерно в 1,7 раза, а калийуретическое — в 2 раза, в то время как натрийурез упал в 11,5 раз. Резкое уменьшение выделения натрия с мочой, возможно, объясняется усилением его компенсаторной реабсорбции в почечных канальцах дистальнее петли Генле без пропорционального усиления реабсорбции воды. Отметим, что экскреция самого фуросемида за этот период времени снизилась в 1,4 раза.

В отношении последнего показателя отметим, что здесь были зафиксированы две противоположные тенденции. С одной стороны — последовательное снижение 6-часовой экскреции фуросемида, с другой — столь же последовательный рост этого показателя в последующие 18 ч, начинавшийся с 4-го дня введения препарата и достигавший максимума к 7-му дню, когда он превосходил уровень первых 3 дней более чем в 2 раза. Общее снижение суточной экскреции фуросемида с мочой обеспечивалось более существенным вкладом в нее 6-часовой экскреции по сравнению с 18-часовой.

Не исключено, что уменьшение экскреции фуросемида за первые 6 ч после введения препарата связано со стимуляцией его метаболизма в печени и образованием неактивных метаболитов, которые не вызывают диуретического эффекта. Что касается увеличения экскреции препарата, зафиксированное нами в последующие 18 ч, вероятно, это обусловлено субстратной стимуляцией почечной канальцевой секреции фуросе-

Суточная динамика экскреторной функции почек

Дни наблюдения	D_6/D_{24}	ENa_6/ENa_{24}	EK_6/EK_{24}	$E\Phi_6/E\Phi_{24}$
1	0,47 ± 0,02	0,93 ± 0,007	0,46 ± 0,04	0,87 ± 0,01
2	0,4 ± 0,03	0,85 ± 0,02*	0,40 ± 0,02	0,81 ± 0,02*
3	0,51 ± 0,04*	0,84 ± 0,04	0,50 ± 0,04*	0,84 ± 0,04
4	0,49 ± 0,03	0,86 ± 0,01	0,51 ± 0,03	0,82 ± 0,02
5	0,37 ± 0,05	0,74 ± 0,03*	0,39 ± 0,03*	0,73 ± 0,03*
6	0,39 ± 0,05	0,63 ± 0,07	0,36 ± 0,04	0,73 ± 0,04
7	0,31 ± 0,04	0,54 ± 0,075	0,28 ± 0,03	0,63 ± 0,03

Примечание. D_6/D_{24} — отношение величины диуреза за 6 ч к величине диуреза за 24 ч. ENa_6/ENa_{24} — отношение экскреции с мочой Na за 6 ч к экскреции его за 24 ч. $E\Phi_6/E\Phi_{24}$ — отношение экскреции фуросемида за 6 ч к экскреции его за 24 ч. EK_6/EK_{24} — отношение экскреции с мочой K за 6 ч к экскреции его за 24 ч. Звездочка — достоверные изменения по отношению к предыдущему введению.

мида как результат его длительного повторного введения. Суть данного явления известна и заключается в том, что происходит увеличение количества белков-переносчиков, транспортирующих секретлируемое вещество в просвет канальцев [5].

ВЫВОДЫ

1. В условиях повторного внутрибрюшинного введения фуросемида крысам на протяжении 7 дней происходит ослабление диуретического, натрий- и калий-уретического эффектов препарата, что обусловлено снижением его почечной экскреции.

2. Более 85 % суточного выделения натрия осуществляется в первые 6 ч после введения фуросемида и сопровождается сопоставимой величиной экскреции последнего. Выделение воды и калия на протяжении суток распределяется более равномерно.

3. В процессе длительного применения происходит последовательное снижение экскреции фуросемида в первые 6 ч после введения и постепенный рост этого показателя в последующие 18 ч. Эти изменения суточной динамики обуславливают развитие аналогичной тенденции в отношении экскреции воды и электролитов.

ЛИТЕРАТУРА

1. В. М. Брюханов, Я. Ф. Зверев, *Побочные эффекты современных диуретиков*, ЦЭРИС, Новосибирск (2003).
2. В. В. Лампатов, *Автореф. дис. д-ра мед. наук*, Томск (2003).
3. А. Е. Боголепова, Ю. В. Наточин, *Нефрология*, **9**(2), 9 – 15 (2005).
4. L. Z. Benet, *J. Pharmacokin. Biopharm.*, **7**(1), 1 – 27 (1979).
5. E. B. Berkhin and M. H. Humphreys, *Kidney Int.*, **59**, 17 – 30 (2001).
6. R. E. Cutler and A. D. Blair, *Clin. Pharmacokin.*, **4**(4), 279 – 296 (1979).

Поступила 25.10.06

FEATURES OF THE PHARMACODYNAMICS AND PHARMACOKINETICS OF FUROSEMIDE UPON LONG-TERM ADMINISTRATION IN RATS

V. M. Bryukhanov, Ya. F. Zverev, V. V. Lampatov, and A. Yu. Zharikov

Altai State Medical University, pr. Lenina 40, Barnaul, 656038, Russia

Long-term administration of furosemide in rats (single daily dose, 20 mg/kg for 7 days) was accompanied by a decrease in the diuretic, natriuretic, and kaliuretic effects, which was related to a decrease in the rate of renal metabolism and excretion. It was found that more than 85% of the daily excretion of sodium takes place within the first 6 h after furosemide administration (on the background of comparable excretion of the drug), while the elimination of potassium and water during one day is more uniform. It is established that the long-term administration of furosemide leads to a decrease in the drug excretion during the first 6-h period, followed by a growth in the subsequent 18-h period of time. These changes in the daily dynamics of drug excretion account for the analogous trends in the elimination of water and electrolytes.