 ISSN 1561-6274. Нефрология. 2000. Том 4. № 2.

© Коллектив авторов, 2000
УДК 616.61-008.64-036-08:615.254.1.076.9:599.323.4

О.Н.Береснева, В.В.Барабанова, И.Г.Каюков, М.М.Парастаева, С.Г.Чефу

ВЛИЯНИЕ ФУРОСЕМИДА НА СОКРАТИТЕЛЬНУЮ АКТИВНОСТЬ ВОРОТНОЙ ВЕНЫ КРЫС С ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ ХРОНИЧЕСКОЙ ПОЧЕЧНОЙ НЕДОСТАТОЧНОСТЬЮ

O.N.Beresneva, V.V.Barabanova, I.G.Kayukov, M.M.Parastaeva, S.G.Chefu

THE INFLUENCE OF FUROSEMIDE DURING THE CONTRACTILE ACTIVITY OF THE PORTAL VEIN IN RATS WITH CHRONIC RENAL FAILURE IN EXPERIMENT

Научно-исследовательский институт нефрологии Санкт-Петербургского государственного медицинского университета им. акад. И.П. Павлова, Россия

РЕФЕРАТ

Исследовали влияние фуросемида на авторитмическую сократительную активность воротной вены у крыс с экспериментальной хронической почечной недостаточностью (ХПН). Фуросемид применяли через 7 дней после нефрэктомии в дозах 20 и 120 мг на 1 кг массы тела в течение 8 нед. Спустя 8 нед крысы были забиты. Результаты показали, что фуросемид в исследуемых дозах предотвращает снижение функциональной активности воротной вены, которое развивается у крыс через 2 мес после нефрэктомии. Небольшая доза фуросемида (20 мг/кг) оказалась эффективной в отношении развития азотемии в отличие от дозы 120 мг.

Ключевые слова: экспериментальная хроническая почечная недостаточность, фуросемид, воротная вена.

ABSTRACT

Under investigation was the effect of furosemide on the contractile activity the portal vein rats with chronic renal failure (CRF). The rats were given 20 and 120 mg/kg of furosemide daily during 7 week after operetion. After the 8-th week the rats were decapitated. The results have shawn that furosemide prevent the decrease contractile activity of the portal vein typical for the first stage of CRF. Furosemide 20 mg/kg prevent the development of uremia, but furosemide in dosage 120 mg/kg did not have this effect.

Key words: experimental chronic renal failure, furosemide, portal vein.

ВВЕДЕНИЕ

Диуретик фуросемид широко применяется в нефрологической практике для коррекции водно-электролитных нарушений. Но, с другой стороны, этот препарат подавляет активность канальцево-клубочкового механизма обратной связи и может вызвать гиперфильтрацию в нефронах, что является неблагоприятным гемодинамическим фактором прогрессирования почечного заболевания [16].

Диуретический эффект фуросемида связан с блокадой Na^+, K^+, $2Cl^-$-котранспортера в толстом восходящем колене петли Генле [7]. Этот же электрически нейтральный транспорт ионов присутствует в разных тканях и органах: эритроцитах [5], аксонах [2, 14], кардиомиоцитах [9, 11], гладкомышечных клетках сосудов [4]. Известно также, что фуросемид оказывает ингибирующее действие на оубаин чувствительную Na^+-АТФазу кардиомиоцитов (похожую на таковую в почках), что приводит к уменьшению содержания внутриклеточного кальция [13].

Долгое время считали, что вазодилатационное действие фуросемида осуществляется только при посредничестве почек, и именно простагландины почечного происхождения вовлекаются в гемодинамический эффект. Поэтому дилатационное действие препарата отсутствует у больных с хронической почечной недостаточностью и у животных после нефрэктомии [3, 8]. Однако в последние годы установили, что фуросемид является стимулятором синтеза и секреции эндотелий расслабляющих факторов в емкостных и резистивных сосудах [15], в том числе — коронарных [10]. Этот гемодинамический эффект диуретика наблюдается после перорального назначения 40 мг фуросемида через 5 мин и держится в течение 30 мин [6].

Задачей настоящей работы являлось исследование действия фуросемида на авторитмическую сократительную активность воротной вены у крыс с экспериментальной хронической почечной недостаточностью I степени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали крыс-самцов линии Вистар массой 180–220 г. Модель почечной недостаточности создавали посредством поэтапной нефрэктомии (удаляли $^5/_6$ почечной ткани). Животных содержали на стандартной пищевой диете и свободном доступе к воде.

Через 7 дней после второго этапа операции крысы были разделены на 3 группы. Животные 1-й и 2-й группы ежедневно получали per os фуросемид в дозе 20 и 120 мг на 1 кг массы тела. 3-я группа крыс после нефрэктомии препарат не получала. В качестве контроля в эксперименте также использовали животных, не подвергавшихся операции.

Перед забоем у крыс собирали мочу в метаболической камере. Кровь брали во время забоя. Забой производили через 8 нед после второго этапа операции посредством декапитации.

После забоя у животных выделяли фрагмент воротной вены и регистрировали авторитмическую сократительную активность. Одновременно с записью на диаграмной ленте самописца осуществляли регистрацию и последующую обработку сократительной активности воротной вены на ЭВМ. Результаты обрабатывали статистически с помощью t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ

У животных 1-й группы наблюдалось снижение уровня мочевины сыворотки крови в сравнении с оперированными животными, не получавшими препарат. Эта же группа достоверно отличалась и от 2-й группы (табл. 1).

Таблица 1

Биохимические показатели сыворотки крови крыс с ХПН и крыс с ХПН, получавших фуросемид ($\bar{X}$±m)

Показатели	Группы крыс		
	ХПН (n=15)	1-я (n=9)	2-я (n=10)
Cr, ммоль/л	0,12±0,01	0,10±0,02	0,12±0,33
Ur, ммоль/л	13,9±1,5**	8,9±1,8*,**	12,9±2,5**
Ca общий, ммоль/л	2,8±0,1	2,67±0,22	2,68±0,18
P, ммоль/л	3,0±0,5	2,54±0,35	2,44±0,81

Здесь и в табл. 2:

* Различия достоверны относительно контроля, p<0,05.

** Различия достоверны между группами.

В моче (табл. 2) значительное увеличение диуреза относительно группы оперированных животных, но не получавших препарат, выявлено только во 2-й группе крыс. Содержание кальция было снижено в моче 1-й группы в сравнении со 2-й и крысами, которые после удаления почечной массы фуросемид не получали. Достоверных различий в суточной потере белка выявлено не было.

Таблица 2

Биохимические показатели мочи крыс с ХПН и крыс с ХПН, получавших фуросемид ($\bar{X}$±m)

Показатели	Группы крыс		
	ХПН (n=15)	1-я (n=9)	2-я (n=10)
Диурез, мл	9,88±3,63	11,3±3,4	14,6±6,8
Cr, ммоль/л	9,98±3,45	7,1±0,8	5,7±1,5
Ur, ммоль/л	539,1±222,9	505,0±145,4	446,0±145,1
Ca, ммоль/л	1,54±0,53	0,61±0,10* **	1,04±0,46
P, ммоль/л	56,3±27,7	62,8±13,0	47,8±14,8
Суточная потеря белка, г/сут	3,36±3,26	2,6± 2,3	3,5±2,9

Исследование авторитмической сократительной активности воротной вены (ВВ) показало, что через 2 мес после нефрэктомии у животных наблюдается снижение ее функциональной активности. Оно выражается в уменьшении общей амплитуды фазно-тонических сокращений (в среднем, на 42%) и площади под кривой сокращений, характеризующей выполняемую веной работу (в среднем, на 45%) относительно интактных крыс (табл. 3). У живот-

Таблица 3

Функциональная активность воротной вены крыс, подвергнутых нефрэктомии, и крыс, получавших фуросемид после нефрэктомии ($\bar{X}$±m)

Группа животных	Частота сокращений в 1 мин	Общая амплитуда фазно-тонических сокращений	Площадь под кривой за 1 мин. усл. ед.
Контроль (n=12)	19,6±4,2	135,9±26,0	161,6±48,3
НЭ, 2 мес (n=11)	24,4±8,3	78,8±24,3*	89,2±16,7*
НЭ+20 мг фуросемида (n=9)	15,7±3,8	190,3±57,7**	139,1±13,4**
НЭ+120 мг фуросемида (n=9)	12,5±3,2	310,5±78,0**	154,0±20,3**

* Различия достоверны относительно контроля, p<0,01.

** Различия достоверны относительно группы НЭ животных, не получавших фуросемид.

ных, подвергнутых нефрэктомии и получавших 20 мг/кг фуросемида, снижения функциональной активности ВВ не наблюдалось. Так, общая амплитуда фазно-тонических сокращений, в среднем, на 40,4% превышала соответствующий показатель, характерный для крыс, подвергнутых нефрэктомии, но не получавших фуросемид, а выполняемая веной работа — на 50,5%, что практически не отличалось от параметров, отмеченных у интактных животных.

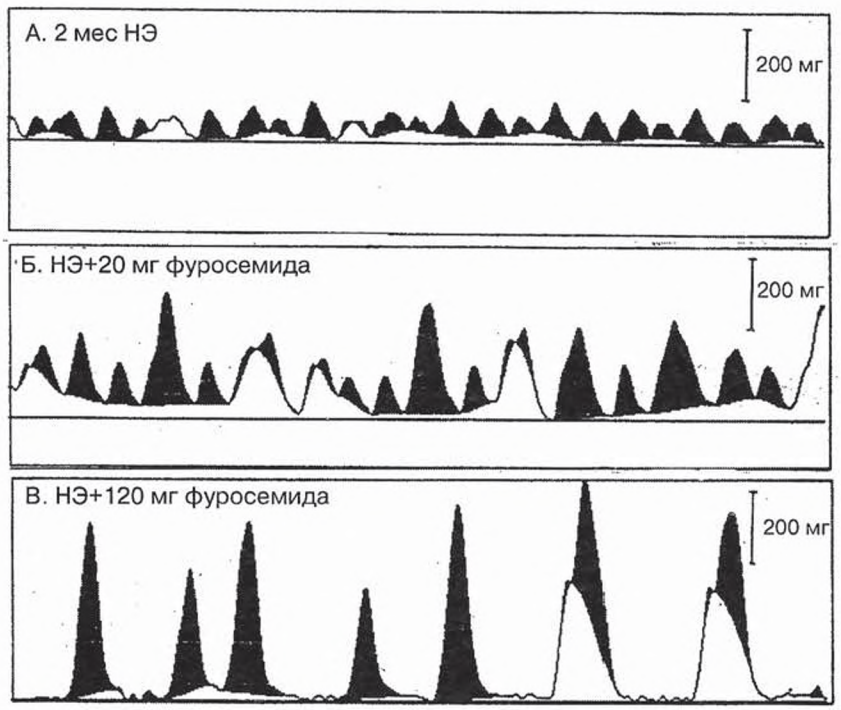
У крыс, подвергнутых нефрэктомии и получавших 120 мг/кг фуросемида, наблюдалось резкое увеличение амплитуды фазных сокращений (в среднем, на 287% относительно группы крыс с ХПН, не получавших препарат). Выполняемая веной работа практически не отличалась от интактных животных (см. табл. 3). Снижения авторитмической сократительной активности у животных, получавших как 20, так и 120 мг/кг фуросемида, не наблюдалось. На рисунке в качестве примера представлена миограмма записи сократительной активности ВВ крыс, получавших фуросемид, и крыс, подвергнутых нефрэктомии, но не получавших препарат.

ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования показали, что у животных через 2 мес после нефрэктомии отмечается снижение авторитмической сократительной активности ВВ [1]. Это может быть вызвано нарушением транспорта кальция и энергообеспечения в гладкомышечных клетках (ГМК).

Блокируя в ГМК сосудов Na^+, K^+, $2Cl^-$-котранспортер, фуросемид снижает содержание натрия внутри клетки, уменьшает внутримитохондриальный и внутриклеточный отек. Следствием уменьшения внутриклеточной аккумуляции натрия является снижение внутриклеточного свободного кальция, что связано с Na^+, Ca^{2+}-обменом. Не исключено, что фуросемид оказывает ингибирующее действие на оубаин нечувствительную Na^+-АТФазу миоцитов (похожую на таковую в почках и кардиомиоцитах), что приводит к уменьшению содержания внутриклеточного кальция. Таким образом, фуросемид замедляет процесс перегрузки миоцитов кальцием и отодвигает во времени развитие второй фазы изменений сократительной активности ВВ, т. е. ее снижение.

I



II

Data	f	A(F)	A(T)	A(F+T)	S(F)	S(T)	S(F+T)	^BT
А	24	64,87	28,41	90,50	32,69	23,19	71,3	0
Б	22	121,4	116,2	221,3	69,43	66,18	153,6	0
В	13	234,2	122,3	344,8	80,68	53,11	168,7	0

Функциональная активность гладкомышечных клеток воротной вены крыс

I — оригинальная миограмма (машинная графика; время записи 1 мин);

II — абсолютные значения (средние величины за 1 мин) регистрируемых параметров фазно-тонических сокращений.

Увеличение функциональной активности ВВ у 2-й группы животных, получавших высокую дозу фуросемида, свидетельствует об увеличении входа кальция в ГМК. Изменение активности венозных сосудов вследствие активации кальциевого обмена при экспериментальной уремии формирует ряд компенсаторно-адаптивных реакций организма, в том числе сердечно-сосудистой системы. Не исключено, что перегрузка клеток кальцием, в конечном итоге, может привести к снижению сократительной активности ВВ, как и в случае с животными, подвергнутыми нефрэктомии и не получавшими фуросемид.

Таким образом, результаты показали, что действие фуросемида на ВВ определя-

ется его дозой, и состояние ГМК ВВ крыс, получавших меньшую дозу препарата, является прогностически более благоприятным.

Необходимо отметить, что высокие дозы фуросемида могут вызывать отрицательные эффекты, обусловленные избыточной продукцией NO, повышением уровня паратиреоидного гормона, возможно, в результате увеличения почечной экскреции кальция [12] и уменьшения его входа в паратиреоциты при блокаде котранспортера [17].

Фуросемид в дозе 20 мг/кг оказал положительное действие на показатели уремии. Отмечен достоверно более низкий уровень мочевины в крови у крыс, получавших 20 мг/кг фуросемида, по сравнению с животными, получавшими высокую дозу препарата, а также крыс, подвергнутых нефрэктомии, но не получавших фуросемид.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Фуросемид в дозе 20 мг/кг и 120 мг/кг у крыс с экспериментальной уремией предотвращает снижение авторитмической сократительной активности воротной вены, наблюдаемое у животных, не получающих препарат.

Применение небольшой дозы фуросемида (в отличие от высокой дозы — 120 мг/кг) оказало положительное влияние и на развитие экспериментальной азотемии.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1.Барабанова В.В., Береснева О.Н., Мирошниченко Е.Л. и др. Функциональная активность воротной вены как отражение метаболических изменений при экспериментальной ХПН // Физиол. журн.—1993.—Т. 79, № 1.—С. 64–72.

2. Altamirano A.A., Rassell J.M. Coupled Na/K/Cl efflux reverse undirectional fluxes in sonid gigant axon // J. Gen. Physiol.—1987.—Vol. 89.—P. 669–689.

3. Bourland W.A., Day D.K., Williamson H.E. The role of the kidney in the early nondiuretic action of furosemide to reduce elevated left arterial pressure in the hypervolemic dog // J. Pharmacol. Exp. Ther.—1977.—Vol. 202.—P. 221–229.

4. Donnell M.E., Owen N.E. Reduced Na^+,K^+,Cl^--cotransport in vascular smooth muscle cells from spontaneously hypertensive rats // Amer. J. Physiol.—1988.—Vol. 255.—P. 169–180.

5. Duhm J., Gobel B.O. Role of the furosemide-sensitive Na/K-transport system in determining the steady-state Na and K content and volume of human erythrocytes in vitro and in vivo // J. Memb. Biol.—1984.—Vol. 77.—P. 243–254.

6. Gabriele W., Fink E., Liuz W. Furosemide enhances the release of endothelial kinins, nitric oxide and prostacyclin // J. Pharmacol. Exp. Ther.—1994.—Vol. 271, № 3.—P. 1611–1615.

7. Greger R. Ion transport mechanisms in thick ascending limb of Henle's loop mammalian nephron // Physiol. Rev.—1985.—Vol. 65.—P. 760–767.

8. Johnstone G.D., Hiatt W.R., Nies A.S. et al. Factors modifying the early nondiuretic vascular effects of the furosemide in man // Circ. Res.—1983.—Vol. 53.—P. 630–635.

9. Liu S., Jacob R., Riwnica-Worms P. Na-K-2Cl- -cotransport in cultured embryonic chick heart cells // Amer. J. Physiol.—1987.—Vol. 253.—P. 721–730.

10. Noda K., Sasaguri M., Ideishi M. et al. Role of locally formed angiotensin II and bradykinin in the reduction of myocardial infarct size in dogs // Cardiovas. Res.—1993.—Vol. 27.—P. 334–340.

11. Panet R., Fixler R., Snyder D. et al. The role of Na/K/Cl-transporter in the positive inotropic effect on oubain in cardiac myocytes // J. Cell. Physiol.—1990.—Vol. 145.—P. 24–29.

12. Reichel H., Deibert B., Geberth S. et al. Furosemide therapy and intact parathyroid hormone plasma concentration in chronic renal insufficiency // Nephrol. Dial. Transplant.—1992.—Vol. 7, №1.—P. 8–15.

13. Rubin J., Kessler G., Navon G. The effect of furosemide on Ca^{2+} ion concentration in myocardial cell // Cell. Calcium.—1995.—Vol. 18, № 2.—P. 135–139.

14. Russell J.M. Cation coupled chloride influx in squid axon: role of potassium and stoichiometry of the process // J. Gen. Physiol.—1983.—Vol. 81.—P. 909–1025.

15. Schini V.B., Bourlanger G., Regoli D. et al. Bradykinin stimulates the production of cyclic GMP via activation of B-2 Kinin receptots in cultured porcine aortic endothelial cells // J. Pharmacol. Exp. Ther.—1990.—Vol. 252.—P. 581–585.

16.Thomson S.C., Blantz R.C. Tubuloglomerular feedback // Amer. J. Nephrol.— 1988.— Vol. 8, № 4.—P. 393–401.

17.Turner R.J., George J.N., Baum B.J. Evidence for a $Na^+K^+Cl^-$ -cotransport system in basolateral membrane vesicles from rabbit parotid // J.Memb.Biol.—1994.—Vol. 5.—P. 143–152.

Поступила в редакцию 10.01.2000 г.