

© А.Ю.Жариков, В.М.Брюханов, Я.Ф.Зверев, В.В.Лампатов, 2006
УДК 615.254.001.5

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

ИЗМЕНЕНИЕ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ ФУРОСЕМИДА НА ФОНЕ ХЛОРАМФЕНИКОЛА В ЭКСПЕРИМЕНТЕ

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

CHANGES IN PHARMACOLOGICAL ACTIVITY OF FUROSEMIDE AGAINST THE BACKGROUND OF CHLORAMPHENICOL IN EXPERIMENT

Кафедра фармакологии Алтайского государственного медицинского университета, г.Барнаул, Россия

РЕФЕРАТ

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ. Установить возможное изменение почечных эффектов длительно применяемого фуросемида на фоне постоянного предварительного введения хлорамфеникола. **МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ.** В экспериментах на крысах концентрация фуросемида в моче, собранной за 6 и 18 часов после введения, определялась с помощью ВЭЖХ, натрий и калий – методом пламенной фотометрии. **РЕЗУЛЬТАТЫ.** 7-дневное внутрибрюшинное введение фуросемида (20 мг/кг/сутки) на фоне хлорамфеникола (50 мг/кг/сутки внутрь) сопровождалось усилением мочегонного действия диуретика и менее резким ослаблением его натрийуретического эффекта по сравнению с экспериментами без введения хлорамфеникола. Полученные эффекты обусловлены увеличением почечной экскреции диуретика. В ходе экспериментов выяснилось, что длительное введение диуретика не сопровождалось существенными изменениями его экскреции за первые 6 часов суточного цикла. Выделение препарата в последующие 18 часов поступательно увеличивалось на протяжении всего периода наблюдения. Эти изменения суточной динамики обусловили увеличение экскреции фуросемида с мочой в 1,5 раза, что и обеспечило усиление его диуретического эффекта. При этом более 85% суточного выделения натрия осуществлялось в первые 6 часов после введения фуросемида и сопровождалось сопоставимой величиной экскреции последнего. Выделение воды и калия на протяжении суток распределялось более равномерно. **ЗАКЛЮЧЕНИЕ.** В условиях длительного непрерывного введения фуросемида на фоне постоянного применения хлорамфеникола происходит увеличение суточной экскреции фуросемида с мочой в 1,5 раза, что обеспечивает существенное усиление его диуретического эффекта.

Ключевые слова: фуросемид, хлорамфеникол, совместное длительное применение, функция почек.

ABSTRACT

THE AIM of the investigation was to establish possible changes of renal effects of a continuous injection of furosemide against the background of permanently preliminarily administered chloramphenicol. **MATERIALS AND METHODS.** Experiments were performed in rats. The concentration of furosemide collected for 6 and 18 hours after injection was determined using HPLC, sodium and potassium – using the method of flame photometry. **RESULTS.** A 7 days intraperitoneal injection of furosemide (20) against the background of chloramphenicol (50 mg/kg/day per os) was followed by an increased diuretic effect and less strong weakening of its sodium-uretic effect as compared with experiments without chloramphenicol. The effects obtained were due to an increased renal excretion of the diuretic. The experiments have shown that a continuous injection of the diuretic was not followed by substantial changes of its excretion for the first 6 hours of the day cycle. Excretion of the drug during the following 18 hours was gradually increasing for the whole period of observation. These changes of the diurnal dynamics were responsible for the 1.5 times increased excretion of furosemide with urine which in particular resulted in an increase of its diuretic effect. And more than 85% of the diurnal excretion of sodium took place within the first 6 hours after injection of furosemide and was accompanied by a comparable value of its excretion. Excretion of water and potassium during the day was more even. **CONCLUSION.** Under conditions of a continuous long-term administration of furosemide against the background of a permanent using of chloramphenicol there occurred 1.5 times greater diurnal excretion of furosemide with urine which gave its substantially increased diuretic effect.

Key words: furosemide, chloramphenicol, continuous combined administration, kidney function.

ВВЕДЕНИЕ

Ранее нами было показано, что в условиях повторного введения фуросемида крысам на протяжении 7 дней происходит ослабление диуретического, натрийуретического и калийуретического эффектов препарата, что обусловлено снижением его суточной экскреции с мочой. Оказалось, что при этом происходит постепенное снижение его экскреции с мочой за первые 6 часов после введения и последовательный рост этого показателя в последующие 18 ча-

сов. Общее же снижение суточного выделения фуросемида определялось более существенным вкладом 6-часовой экскреции по сравнению с 18-часовой. Известно, что фуросемид подвергается метаболическим превращениям под действием микросомальных ферментов печени. Уменьшение 6-часовой и суточной экскреции диуретика, по всей видимости, могло быть связано с индукцией метаболизма в гепатоцитах [1, 2]. Зафиксированное в последующие 18 часов увеличение экскреции препарата вполне

могло быть обусловлено субстратной стимуляцией канальцевой секреции фуросемида. Это может происходить в результате увеличения числа белков-переносчиков, транспортирующих секреторируемое вещество в просвет канальцев [3]. Не исключено, что оба указанных процесса играют роль в фармакокинетике фуросемида, что, в конечном итоге, определяет изменения его фармакологической активности. С одной стороны, стимуляция микросомальных ферментов печени приводит к уменьшению числа активных молекул препарата, попадающих в просвет почечных канальцев, а с другой – субстратная стимуляция канальцевой секреции сопровождается увеличением концентрации диуретика в канальцах почек. Возможно, от соотношения этих двух процессов и зависит выраженность диуретического эффекта фуросемида в условиях длительного применения. Учитывая это, было интересно выяснить, возможно ли изменение почечных эффектов фуросемида и его концентрации в моче на фоне предварительного введения хлорамфеникола (левомицетина), известного ингибитора синтеза белка и системы микросомального окисления в печени.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Эксперименты проведены на белых беспородных крысах обоего пола массой 300-350 г, находившихся в индивидуальных клетках для сбора мочи в условиях свободного доступа к воде и пище. Хлорамфеникол вводился в дозе 50 мг/кг внутрь в 9 часов утра. В 12 часов дня животным вводился фуросемид в дозе 20 мг/кг внутривентриально. Сбор мочи производился через 6 часов после введения диуретика и через последующие 18 часов. Концентрация фуросемида в моче определялась методом ВЭЖХ. В качестве элюентов использовались 80%-ный раствор ацетонитрила при градиенте – от 0 до 100% и фосфатный буфер (РН=7). Детектирование проводилось при трех длинах волн – 210 нм, 280 нм, 320 нм. Для расчетов применялся калибровочный график, который строили, используя стандартный раствор фуросемида в концентрации 0,2 мг/мл. Натрий и калий в моче определялись методом пламенной фотометрии.

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

РЕЗУЛЬТАТЫ

Динамика изменений экскреции фуросемида представлена на рис. 1. Оказалось, что за первые 6 часов после введения препарата из организма выделяется в среднем около 35% от введенной су-

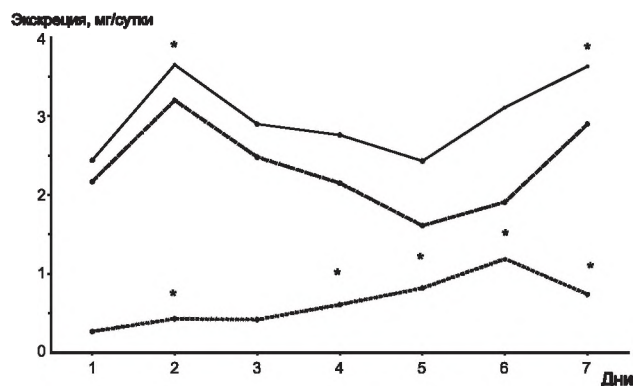


Рис. 1. Экскреция фуросемида в ходе 7-дневного внутрибрюшинного введения крысам в дозе 20 мг/кг/сутки на фоне хлорамфеникола. На горизонтальной оси – дни наблюдения, на вертикальной оси – экскреция фуросемида. Сплошная линия – экскреция за сутки, пунктирная линия – экскреция за первые 6 часов, точечная линия – экскреция за последующие 18 часов. Звездочками отмечены достоверные изменения по отношению к показателям первого введения.

точной дозы фуросемида. Как видно из рисунка, после второй инъекции за эти же 6 часов выделялось несколько больше фуросемида в сравнении с первым введением: $3,22 \pm 0,38$ мг и $2,17 \pm 0,34$ мг соответственно ($p > 0,05$). Затем в течение трех дней наблюдалось определенное последовательное снижение экскреции диуретика, достигавшее максимума после пятого введения. Начиная с 6-го дня, вновь отмечалось увеличение выделения фуросемида, достигавшее максимального значения ($2,89 \pm 0,16$ мг) после последнего седьмого введения. Подчеркнем, что все отмеченные колебания проявлялись лишь в виде тенденции и были статистически недостоверными.

Динамика выделения фуросемида в последующие 18 часов суточного цикла носила иной характер. Как видно из того же рис. 1, начиная со второго введения диуретика, когда величина его экскреции составила $0,43 \pm 0,05$ мг (6% от суточной дозы), наблюдался последовательный рост выделения препарата, достигавший максимума на 6-й день, когда его экскреция составила $1,19 \pm 0,25$ мг, что в 2,8 раза превосходило показатель первого введения ($p < 0,01$). И лишь после седьмого введения вновь отмечено некоторое снижение выделения фуросемида до $0,74 \pm 0,08$ мг, что, впрочем, по-прежнему было значительно выше контрольных значений ($p < 0,01$).

В результате суммарное суточное выделение фуросемида на протяжении 7 дней непрерывного введения поступательно увеличивалось и превосходило исходный уровень к окончанию эксперимента примерно в 1,5 раза ($3,63 \pm 0,14$ мг и $2,44 \pm 0,28$ мг соответственно; $p = 0,001$).

Кроме этого, в условиях длительного введения фуросемида были зафиксированы изменения ди-

Суточная динамика экскреторной функции почек ($\bar{X} \pm m$)

Дни наблюдения	D_6/D_{24}	Na_6/Na_{24}	K_6/K_{24}	Φ_6/Φ_{24}
1	0,69±0,04	0,93±0,02	0,54±0,04	0,81±0,08
2	0,58±0,02	0,89±0,01	0,51±0,01	0,88±0,01
3	0,47±0,04	0,88±0,02	0,50±0,04	0,85±0,02
4	0,36±0,02	0,71±0,05	0,37±0,03	0,73±0,05
5	0,28±0,03	0,61±0,06	0,33±0,04	0,61±0,06
6	0,30±0,02	0,55±0,1	0,35±0,04	0,53±0,1
7	0,34±0,02	0,80±0,02	0,46±0,04	0,79±0,02

Примечание: Приведенные в таблице коэффициенты отражают отношение экскреции за первые 6 часов к суточной экскреции. Д – диурез; Na – натрий; K – калий; Ф – фуросемид.

намики его суточной экскреции. Для объективной оценки экскреторной функции почек были введены коэффициенты, отражающие отношение выделения мочи, электролитов и фуросемида за первые 6 часов к их суточной экскреции. Из таблицы видно, что в первые три дня подавляющее количество фуросемида (более 80% от величины суточной экскреции) выделялось за первые 6 часов, а начиная с 4-го введения происходило последовательное уменьшение этого показателя. На 6-й день экскреция препарата распределялась более равномерно в течение суток, и лишь после последнего введения соотношение вновь несколько смещалось в сторону шестичасового промежутка времени.

Таким образом, в экспериментах на крысах зафиксированы две разнонаправленные тенденции в экскреции фуросемида в условиях многократного его введения на фоне хлорамфеникола. С одной стороны, в первые 6 часов после инъекций диуретика наблюдалось первоначальное увеличение его выделения с последующим снижением вплоть до пятого дня и вновь повышение экскреции, начиная с шестого введения. С другой стороны, начиная со второго дня, и вплоть до конца эксперимента регистрировалось последовательное увеличение выде-

ления диуретика в последующие 18 часов суточного цикла. Общее суточное выделение фуросемида при этом увеличивалось к окончанию введений примерно в 1,5 раза.

На рис. 2 представлены результаты длительного влияния фуросемида на экскреторную функцию почек у крыс на фоне постоянного предварительного введения хлорамфеникола. Из рисунка видно, что после первого применения фуросемида развивался мощный диуретический эффект, сопровождавшийся увеличением мочеотделения с $6,6 \pm 0,5$ мл в контроле до $18,9 \pm 1,4$ мл ($p < 0,001$). Вторая инъекция вызывала снижение диуретического эффекта до $13,4 \pm 1,1$ мл, однако этот показатель все еще существенно превосходил контрольный уровень ($p < 0,001$). Начиная с третьего дня, диурез последовательно увеличивался, достигая максимума на шестой день, когда уровень мочеотделения в 4,3 раза превосходил исходный, достигая $28,7 \pm 2,8$ мл. Наряду с этим, в условиях длительного введения диуретика зафиксированы изменения суточной динамики мочегонного эффекта. Из таблицы видно, что после первого введения больший объем выделившейся мочи (около 69%) приходился на первые шесть часов после инъекции. Однако, начиная со второго дня, наблюдалось последовательное смещение суточного мочеотделения в сторону 18-часового периода.

Иная картина характеризовала длительное влияние фуросемида на почечную экскрецию Na^+ . Возвращаясь к рис. 2, отметим, что после мощного натрийуретического эффекта, характеризующего первое введение препарата, уже второе введение вызывало снижение этого показателя в 1,5 раза. Затем происходило дальнейшее последовательное снижение экскреции натрия, стабилизировавшееся к 6-7 дням. В целом, за семь дней введения почечная экскреция Na^+ снизилась более чем в 4 раза: с 4030 ± 429 мкМ после первого введения до $980 \pm 58,5$ мкМ после 7-го ($p < 0,001$). И все же натрийурез значительно превышал контрольный уровень ($80,7 \pm 6,1$ мкМ). Кроме того, были зафиксированы изменения в динамике суточной экскреции Na^+ . Из таблицы видно, что на протяжении первых трех дней большая часть его суточного выделения (более 88%), приходилась на первые шесть часов после введения фуросемида, в то время как на последующие 18 часов приходилось лишь 7-12%. Затем, начиная с четвертого введения наблюдалось последовательное снижение 6-часового выделения натрия по отношению к его суточной экскреции вплоть до шестого дня, когда натрийурез распределялся равномерно между шестью часами и восемнадцатью часами после введения препарата. И лишь после седьмой инъекции вновь

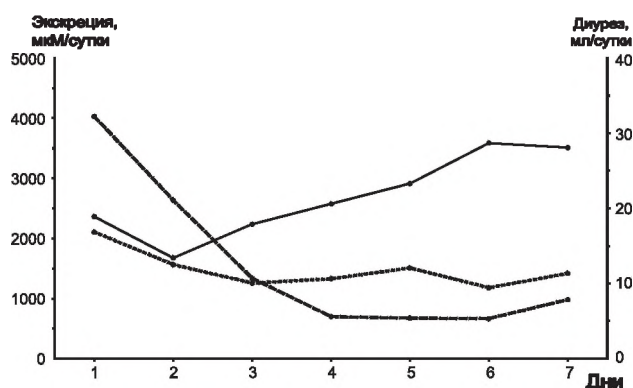


Рис. 2. Влияние 7-дневного введения фуросемида на фоне хлорамфеникола на суточную экскрецию воды и электролитов у крыс. На горизонтальной оси – дни наблюдения, на левой вертикальной оси – экскреция электролитов, на правой вертикальной оси – диурез. Сплошная линия – диурез, пунктирная линия – экскреция натрия, точечная линия – экскреция калия.

несколько увеличился вклад 6-часовой экскреции в общее суточное выделение натрия.

Анализируя влияние длительного введения фуросемида на выделение с мочой калия, следует отметить, что уже первое введение препарата вызывало существенное увеличение экскреции этого иона с 938 ± 68 мкМ в контроле до 2105 ± 182 мкМ ($p < 0,001$). Второе введение сопровождалось существенным снижением выделения K^+ до 1564 ± 84 мкМ ($p < 0,001$ – к контролю и $p < 0,02$ – к первому введению), после чего показатели калийуреза на протяжении всего эксперимента оставались на одном уровне, который, впрочем, был значительно выше, чем в контроле. При этом были зафиксированы различия в суточной динамике экскреции калия. В первые три дня выделение этого электролита распределялось равномерно в течение суток, после чего вклад 18 часов в общую суточную экскрецию последовательно увеличивался, и лишь после седьмого введения доля 6-часового калийуреза вновь несколько возросла.

ОБСУЖДЕНИЕ

В результате многократного внутривенного введения фуросемида крысам на фоне постоянного предварительного введения хлорамфеникола получены результаты, существенно отличающиеся от наших предыдущих экспериментов, в которых животные получали только фуросемид. Эти различия касаются главным образом изменений выраженности диуретического и натрийуретического эффектов препарата. Оказалось, что 7-дневное введение фуросемида сопровождается увеличением его диуретического действия примерно в 1,5 раза, в то время как в опытах без хлорамфеникола наблюдалось уменьшение этого эффекта в 1,7 раза. Наряду с этим зафиксировано менее выраженное падение натрийуреза: в 4 раза в опытах с введением левомицетина против 10-кратного уменьшения в опытах, где он не вводился. Полученные различия являются косвенным подтверждением увеличения количества активного фуросемида, попадающего в просвет канальцев, в сравнении с таковым в опытах, где крысы получали только фуросемид. И лишь динамика экскреции калия в обоих экспериментах носила сходный характер, который заключался в снижении выделения этого иона в 1,5 – 2 раза. Примечательно, что экскреция самого фуросемида за этот период времени увеличилась в 1,5 раза, что кардинально отличается от динамики экскреции препарата в опытах без хлорамфеникола, когда наблюдалось уменьшение выделения диуретика в 1,4 раза.

Следует отметить, что динамика экскреции

фуросемида характеризуется следующими тенденциями: во-первых, наблюдается увеличение 6-часовой экскреции фуросемида после второго введения, затем ее последовательное уменьшение вплоть до пятого дня, и повторное увеличение этого показателя, начиная с 6-го введения. Наряду с этим, зафиксирован последовательный рост выделения диуретика в последующие 18 часов, начавшийся уже со второго введения препарата и достигавший максимума к 6-му дню, когда он превосходил уровень первого дня более чем в 4 раза. Эти данные существенно отличаются от результатов предыдущего эксперимента без введения хлорамфеникола, когда выделение фуросемида за первые 6 часов последовательно уменьшалось в течение семи дней, а увеличение выделения препарата за последующие 18 часов начиналось лишь с 4-го дня введения и было менее выраженным.

Распределение диуретического эффекта, экскреции электролитов и фуросемида на протяжении суточного цикла в обоих наших экспериментах носило схожий характер. Как и в предыдущем опыте, была выявлена прямая зависимость между экскрецией фуросемида с мочой и выделением из организма ионов Na^+ . В среднем около 90% натрия и 85% фуросемида от их общей суточной экскреции приходилось на первые шесть часов после введения препарата. Начиная с четвертого введения, этот показатель последовательно снижался с нарастанием величины выделения натрия и фуросемида в последующие 18 часов и только после седьмого введения вклад первых 6 часов в общую суточную экскрецию заметно увеличивался. В то же время суточная динамика диуретического и калийуретического эффектов существенно отличалась от описанной выше. Так, за первые 6 часов после введения фуросемида выделялось от 50% до 70% от суточного диуреза и от 50% до 55% от суточной экскреции калия. Эта тенденция сохранялась на протяжении первых трех дней, затем вклад 6-часовой экскреции уменьшался до 28-37% и лишь после седьмого введения выделение калия с мочой за первые 6 часов по отношению к общей суточной экскреции вновь увеличилось до 46%, при этом 6-часовая экскреция воды осталась неизменной.

Таким образом, исходя из анализа полученных результатов, можно предположить, что на фоне хлорамфеникола экскреция фуросемида за первые шесть часов после введения диуретика, в отличие от опытов без антибиотика, не снижается, что, по-видимому, обусловлено ослаблением его метаболизма в гепатоцитах, вызванное ингибированием здесь цитохрома P_{450} . Это приводит к сохранению числа активных молекул фуросемида, попадающих

в просвет канальцев. И как следствие этого, не происходило последовательного снижения диуретического эффекта, характерного для длительного применения одного фуросемида, равно как и столь резкого падения натрийуреза в течение семи дней введения по сравнению с экспериментами без хлорамфеникола. В то же время, 18-часовая экскреция фуросемида постоянно нарастала на протяжении эксперимента с параллельным ростом выделения жидкости из организма. Это на фоне отсутствия изменений со стороны 6-часовой экскреции и обеспечило увеличение суточной экскреции фуросемида, а также суточного мочеотделения. Кроме того, последовательное увеличение 18-часовой экскреции фуросемида указывает на то, что в ходе эксперимента не удалось зафиксировать подавления субстратной стимуляции канальцевой секреции диуретика, что, по-видимому, связано с преимущественным угнетающим влиянием хлорамфеникола на метаболизм фуросемида в печени.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Повторное 7-дневное внутрибрюшинное введение фуросемида на фоне постоянного предварительного введения хлорамфеникола сопровождается усилением мочегонного эффекта диуретика. Одновременно с этим происходит менее резкое ослабление его натрийуретического эффекта по сравнению с экспериментом без введения хлорамфеникола.

Полученные эффекты обусловлены увеличением почечной экскреции диуретика.

В данных экспериментальных условиях длительное введение диуретика не сопровождается существенными изменениями его экскреции за первые 6 часов суточного цикла. Выделение препарата в последующие 18 часов последовательно увеличивается на протяжении всего периода наблюдения. Эти изменения суточной динамики обуславливают увеличение экскреции фуросемида с мочой в 1,5 раза, что и обеспечивает усиление его диуретического эффекта.

Динамика суточной экскреции воды, электролитов и фуросемида существенно не отличается от таковой в эксперименте без введения хлорамфеникола. Более 85% суточного выделения натрия осуществляется в первые 6 часов после введения фуросемида и сопровождается сопоставимой величиной экскреции последнего. Выделение воды и калия на протяжении суток распределяется более равномерно.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Prandota J, Pruitt AW. Pharmacokinetic, biliary excretion, and metabolic studies of ^{14}C -furosemide in the rat. *Xenobiotica* 1991; 21 (6): 725-736
2. Sekikawa H, Yagi N, Oda K et al. Biliary excretion of furosemide glucuronide in rabbits. *J Pharmacol Exp Ther* 1995; 18 (3): 447-453
3. Berkhin EB, Humphreys MY. Regulation of renal tubular secretion of organic compounds. *Kidney Int* 2001; 59: 17

Поступила в редакцию 18.09.2005 г.