

## ВЛИЯНИЕ НЕГЛИКОЗИДНОГО КАРДИОТОНИКА ДОБУТАМИНА НА ИОНОРЕГУЛИРУЮЩУЮ ФУНКЦИЮ ПОЧЕК КРЫС

$\beta_1$ -адреномиметик добутамин вызывает у крыс повышение диуреза, натрийуреза и потери калия с мочой, которое является следствием его кардиотонического действия, ведущего к увеличению кровотока в коре и наружном мозговом веществе почек. Антагонисты РАС эналаприл и лозартан усиливают ингибирующее влияние добутамина на реабсорбцию натрия в почках и потенцируют его диуретический, натрийуретический и калийуретический эффекты.

Добутамина (добутрекс) является негликозидным инотропным средством, который оказывает выраженный кардиотонический эффект. В кардиологической практике этот препарат применяется для интенсивной терапии острой, тяжелой декомпенсированной и рефрактерной сердечной недостаточности (ХСН) [1,2]. В механизме его лечебного действия ведущее значение имеет избирательная стимуляция  $\beta_1$ -адренорецепторов (АР) миокарда, которая сопровождается выраженным инотропным эффектом и улучшением гемодинамического режима в сердечно-сосудистой системе. Одновременно этот лекарственный препарат возбуждает  $\beta_1$ -АР других органов, вызывая ряд дополнительных фармакологических эффектов, которые могут способствовать или, напротив, ослаблять его терапевтическое действие.

Одним из таких органов являются почки, в которых  $\beta_1$ -АР обнаружены в клетках ЮГА, продуцирующих ренин, эпителиальных клетках канальцев, клубочках и других структурах почечной ткани [3]. В последнее время появились сведения о том, что длительная внутривенная инфузия добутамина больным с тяжелой ХСН не только улучшает показатели центральной и периферической гемодинамики, но и оказывает благоприятное влияние на функцию почек, улучшая их кровоснабжение, увеличивая диурез и выделение натрия с мочой [4, 5]. В связи с этим имеются основания рассматривать добутамин как лекарственное средство, которое можно использовать для коррекции водно-электролитных нарушений и повышения эффективности диуретической терапии пациентов с тяжелой декомпенсированной ХСН, включая ее рефрактерные формы. Между тем многие стороны фармакодинамики добутамина в почках

изучены недостаточно или совсем не исследованы. Выяснение этих вопросов имеет существенное значение не только для углубления современных представлений о фармакологических свойствах этого кардиотонического препарата, но и для экспериментального обоснования возможности его применения для лечения отеочного синдрома при ХСН.

В настоящей работе проведен фармакологический анализ роли различных подтипов почечных  $\beta$ -АР и ренин-ангиотензиновой системы (РАС) в механизме действия добутамина на кровоток и ионорегулирующую функцию почек крыс.

### Материалы и методы исследования

Эксперименты выполнены на наркотизированных тиопенталом-натрием (50 мг/кг, в/б) белых беспородных крысах-самцах массой 150-230 г, содержащихся на обычном рационе вивария при свободном доступе к воде. Каждый опыт ставился на одном животном.

### Опыты по изучению объемной скорости локальных кровотоков в почке

Объемная скорость локальных кровотоков в коре и наружном мозговом веществе определялась полярографическим методом по величине клиренса водорода ( $C_{\text{вод}}$ ) в исследуемой зоне почечной ткани [6]. Для проведения опыта крысу после наступления наркоза фиксировали на операционном столе и вскрывали брюшную полость срединным и боковым разрезом вдоль левой реберной дуги. Левую почку помещали в плексигласовую чашечку и с помощью микроманипулятора вводили платиновые электроды во внутреннюю зону коркового слоя и наружную зону мозгового вещества. Локализация кончика электрода в почке оп-

ределялась по глубине погружения во время его введения, по углу наклона регистрируемых кривых вымывания водорода и визуально после окончания опыта. Для ингаляции использовался водород 100% концентрации, необходимое количество которого вводилось в организм за 2-3 вдоха животного. Водород получали электролизным способом непосредственно перед экспериментом с помощью генератора водорода СГС-2. Регистрация кривых вымывания водорода осуществлялась через полярограф ПУ-1 с записью полярограмм на потенциометре КСП-4. Расчет объемной скорости локального кровотока в почечной ткани производился по формуле  $f = 0,693/T_{1/2} \cdot 100$ , где  $f$  – объемная скорость локального кровотока в мл/мин на 100 г почечной ткани,  $T_{1/2}$  – время в минутах, в течение которого начальное значение клиренса водорода снижается в 2 раза (период полувыведения индикатора) [7].

#### **Клиренсовые опыты по изучению ионорегулирующей функции почек**

После наступления наркоза крысу фиксировали на операционном столике и делали трахеотомию для обеспечения нормального дыхания животного в ходе эксперимента. Затем вскрывали брюшную полость срединным разрезом вдоль белой линии живота и в нижнюю полую вену ниже места впадения почечных вен вставляли катетер для введения изотонического раствора хлорида натрия и исследуемых лекарственных препаратов. Для поддержания необходимого уровня диуреза крысе первоначально форсированно вводили 2-3 мл солевого раствора, содержавшего 0,25% инулина, а затем скорость введения снижали до 25 мкл/мин, которую поддерживали на постоянном уровне в течение всего периода эксперимента. В то же время из мочевого пузыря с помощью катетера в микропипетки собирали 10-минутные порции мочи. После стабилизации диуреза забирали две контрольные порции мочи и вводили внутривенно добутамин в течение 90 мин. Перед началом инфузии препарата и после ее окончания из хвостовой вены брали пробы крови в объе-

ме 0,1 мл, которые разводили в 0,9 мл 4% раствора трихлоруксусной кислоты и после осаждения белков центрифугировали при 3000 об/мин. В полученных образцах мочи и крови на фотоэлектрокалориметре КФК-2-УХЛ42 антроновым микрометодом определяли концентрацию инулина. Содержание электролитов в моче и крови исследовали методом пламенной фотометрии на пламенном фотометре ПФМ-МУ. При подсчете концентрации натрия в крови делали поправку на гематокрит. На основании этих данных по общепринятым формулам рассчитывали стандартные показатели ионорегулирующей функции почек [8].

#### **Препараты**

Добутамин (добутрекс, фирма «ELI LILLY», Франция) вводился внутривенно в дозе 5 мкг/кг/мин в течение 90 мин. Функция почек крыс изучалась также при комбинации добутамина с  $\beta_{1,2}$ -адреноблокатором пропранололом (обзидан, фирма «ISIS PHARMA», Германия) и  $\beta_1$ -адреноблокатором талинололом (корданум, фирма VEB ARSNEIMITTEL-WERK», Германия), которые вводились подкожно за 30 мин до начала внутривенной инфузии препарата в дозе 1 мг/кг. Ингибитор ангиотензин I-превращающего фермента (АПФ) эналаприл (энап, фирма «KRKA», Словения) и антагонист  $AT_1$ -ангиотензиновых рецепторов лозартан (козаар, фирма «MERCK SHARP&DOHME», Нидерланды) назначались животным внутрь в дозе 0,5 мг/кг/сутки в течение 7 дней до постановки эксперимента.

#### **Статистическая обработка**

Статистическая обработка данных проведена с использованием стандартных методов вариационной статистики с расчетом средней арифметической величины ( $M$ ) и средней ошибки средней арифметической ( $m$ ). Достоверность результатов оценивалась с помощью критерия  $t$  Стьюдента ( $p$ ) и критерия  $T$  Вилкоксона для парных выборок ( $p_t$ ) [9]. Статистический анализ данных выполнялся с помощью пакета прикладных программ Exel 2000 (MS Office 2000, USA) Biostat 1999.

### Результаты и их обсуждение

Первоначальный анализ почечных эффектов добутамина показал, что внутривенная инфузия препарата оказывает существенное влияние на ионорегулирующую функцию почек.

Добутамин вызывал характерную диуретическую реакцию, которая развивалась спустя 20-30 мин после начала его введения и нарастала до конца эксперимента. Максимально уровень мочеотделения спустя 90 мин наблюдения достоверно возрос в 1,60 раза. Клиренс инулина, характеризующий скорость клубочковой фильтрации (СКФ), при этом практически не изменился (таблица 1). Количество выделенного с мочой натрия, как и диурез, также достоверно возросло в 1,62 раза. Прирост натрийуреза на фоне отсутствия существенных сдвигов в СКФ прямо указывает на то, что причиной вызываемой добутамином натрийуретической реакции является угнетение реабсорбции натрия в почечных канальцах. Об этом же говорит увеличение экскретируемой фракции этого иона с  $0,33 \pm 0,03\%$  до  $0,51 \pm 0,08\%$  ( $p_r < 0,05$ ), которая отражает количество натрия выделяемого с мочой из профильтровавшейся в клубочках жидкости. В этих условиях у крыс отмечался также достоверный прирост почечной экскреции калия с отсутствием изменения отношения натрий/калий мочи.

Внутривенная инфузия добутамина сопровождается системным гемодинамическим сдвигом, который может тормозить реабсорбцию натрия в почках благодаря увеличению кровотока в коре и мозговом веще-

стве почечной ткани. Это связано с тем, что почечная микроциркуляция не только обеспечивает метаболические потребности почек, но и прямо контролирует процесс удаления реабсорбированной части ультрафильтрата, оказывая существенное влияние на реабсорбцию натрия в проксимальных канальцах и дистальных сегментах нефрона [10]. Между тем вопрос о характере гемодинамического сдвига, развивающегося в почках при действии добутамина, остается во многом неясным. Известно, что этот препарат вызывает дилатацию сосудов коркового слоя, которая во многом определяется его кардиотоническим действием. Однако эти сведения получены с использованием в качестве показателя почечного кровотока  $C_{\text{РАН}}$ , который не позволяет судить об особенностях гемодинамического режима в разных зонах почечной ткани, а отражает лишь общий уровень кровоснабжения коркового слоя почек. В наших экспериментах для выявления участия гемодинамических факторов в механизме действия добутамина на ионорегулирующую функцию почек мы использовали методику регистрации  $C_{\text{вод}}$  в двух функциональных зонах почечной ткани, которая позволяет достаточно точно оценить величину объемной скорости локального кровотока в исследуемой зоне почки.

Опыты показали, что диуретической и натрийуретической реакции, возникающей у крыс при введении добутамина, действительно соответствует умеренное, но достоверное увеличение кровотока как во внутренней зоне коры, где располагаются юкстамедул-

Таблица 1. Влияние добутамина на ионорегулирующую функцию почек крыс при действии  $\beta$ -адреноблокаторов пропранолола и талинолола ( $M \pm m$ )

Препараты	n	Клубочковая фильтрация мл/мин/100г		Диурез мкл/мин/100г		Экскреция натрия мкмоль/мин/100г		Экскреция калия мкмоль/мин/100г	
		к	о	к	о	к	о	к	о
Добутамин	10	283,3 $\pm 16,1$	282,1 $\pm 11,2$	2,52 $\pm 0,25$	4,05 $\pm 0,47^{**}$	0,125 $\pm 0,01$	0,203 $\pm 0,02^{**}$	0,159 $\pm 0,02$	0,273 $\pm 0,04^{**}$
Пропранолол + добутамин	10	274,1 $\pm 10,5$	294,1 $\pm 28,6$	2,67 $\pm 0,23$	2,74 $\pm 0,53$	0,147 $\pm 0,08$	0,136 $\pm 0,02$	0,201 $\pm 0,03$	0,230 $\pm 0,04$
Талинолол + добутамин	10	247,8 $\pm 15,4$	249,6 $\pm 28,6$	3,04 $\pm 0,33$	3,08 $\pm 0,49$	0,118 $\pm 0,08$	0,128 $\pm 0,02$	0,141 $\pm 0,02$	0,173 $\pm 0,03$

\*\*  $p_r < 0,01$

Таблица 2. Влияние добутамина на локальный кровоток в коре и мозговом слое почек крыс при действии  $\beta$ -адреноблокаторов пропранолола и талинолола ( $M \pm m$ )

Зона почки	n	Кровоток, мл/мин на 100 г почечной ткани			
		Контроль	30 мин	60 мин	90 мин
Добутамин					
Внутренняя зона коры	10	512,2±98,1	583,4±101,3**	606,4±123,6**	591,4±103,2*
Наружная зона мозгового слоя	10	365,3±87,2	449,5±86,3*	463,5±88,3**	431,2±91,4
Пропранолол + добутамин					
Внутренняя зона коры	10	487,4±131,3	495,2±116,1	489,2±142,5	484,4±112,6
Наружная зона мозгового слоя	10	418,3±98,1	455,4±86,5	458,3±122,2	436,5±99,8
Талинолол + добутамин					
Внутренняя зона коры	10	506,3±99,4	577,4±102,2	522,4±131,5	517,2±124,3
Наружная зона мозгового слоя	10	437,2±83,5	471,6±91,3	468,4±123,6	485,4±106,3

\*  $p_t < 0,05$ , \*\*  $p_t < 0,01$ 

лярные нефроны, так и в наружной зоне мозгового вещества, которая содержит толстые восходящие отделы петель Генле (таблица 2). Эти данные предполагают, что внутрипочечный гемодинамический сдвиг может прямо вовлекаться в механизм угнетения добутамином реабсорбции натрия в проксимальных и дистальных отделах нефрона.

Для оценки роли различных подтипов  $\beta$ -АР в механизме формирования почечных эффектов добутамина мы изучили его взаимодействие в почках крыс со специфическими антагонистами этих рецепторов.

Предварительное введение животным  $\beta_{1,2}$ -адреноблокатора пропранолола полностью устраняло как увеличение кровотока, возникающее в коре и наружной зоне мозгового вещества, так и сопутствующую ему диуретическую и натрийуретическую реакцию (таблица 1). В связи с тем, что пропранолол является антагонистом обоих подтипов  $\beta$ -АР, полученные данные не позволяли достаточно точно оценить функциональное значение  $\beta_1$ -АР в формировании сосудистого и канальцевого эффектов добутамина в почках. Для уточнения роли этих рецепторов в механизме действия добутамина мы дополнительно изучили реакцию почек крыс на этот препарат на фоне действия  $\beta_1$ -адреноблокатора талинолола. В результате оказалось, что предварительное назначение крысам селективного антагониста  $\beta_1$ -АР также препятствует угнетающему действию добутамина на реабсорбцию натрия в почеч-

ных канальцах и практически полностью устраняет гемодинамический сдвиг, возникающий в почках крыс при внутривенной инфузии этого препарата (таблица 2).

Результаты этих опытов позволяют считать, что дилатация почечных сосудов и угнетение реабсорбции натрия, возникающие в почках под влиянием добутамина, являются следствием возбуждения  $\beta_1$ -АР. Однако прямая стимуляция рецепторов этого подтипа вызывает в почках противоположный функциональный сдвиг, который проявляется в увеличении реабсорбции этого иона в почечных канальцах и задержке его в организме [11]. Имеются поэтому основания полагать, что функциональный сдвиг, развивающийся в почках крыс при действии добутамина, не связан с прямым возбуждением  $\beta_1$ -АР почек, а является результатом его кардиотонического эффекта, способствующего улучшению гемодинамического режима в разных зонах почечной ткани.

Циркулирующая и почечная тканевая РАС являются главными звеньями нейрогуморального механизма, контролирующего ионный и циркуляторный гомеостаз организма. Их включение в механизм сохранения натрия и жидкости в организме осуществляется в основном за счет возбуждения рецепторов macula densa (плотного пятна), контролирующих содержание хлорида натрия в канальцевой жидкости, и  $\beta_1$ -АР гранулированных клеток ЮГА, продуцирующих ренин. Многочисленные данные свидетель-

Таблица 3. Влияние добутамина на ионорегулирующую функцию почек крыс при действии ингибиторов РАС эналаприла и лозартана ( $M \pm m$ )

Препараты	n	Клубочковая фильтрация мл/мин/100г		Диурез мкл/мин/100г		Экскреция натрия мкмоль/мин/100г		Экскреция калия мкмоль/мин/100г	
		к	о	к	о	к	о	к	о
Добутамин	10	283,3 ±16,1	282,1 ±11,2	2,52 ±0,25	4,05 ±0,47**	0,125 ±0,01	0,203 ±0,02**	0,159 ±0,02	0,273 ±0,04**
Эналаприл + добутамин	10	218,1 ±9,78	276,7 ±9,13*	2,10 ±0,16	5,99 ±0,53**	0,116 ±0,02	0,375 ±0,06**	0,141 ±0,02	0,513 ±0,06**
Лозартан + добутамин	8	233,2 ±8,76	271,4 ±9,01*	2,23 ±0,12	6,38 ±0,62**	0,090 ±0,02	0,428 ±0,11**	0,220 ±0,12	0,992 ±0,20**

\* $p_T < 0,05$ ; \*\*  $p_T < 0,01$

ствуют о том, что различные  $\beta_1$ -адреномиметики оказывают стимулирующее влияние на процесс секреции ренина ЮГА, увеличивая активность ренина в плазме крови и его содержание в почечной ткани. Поскольку образующийся при этом ангиотензин II специфически увеличивает реабсорбцию натрия в нефроне, следовало ожидать, что повышение активности РАС, возникающее при внутривенной инфузии  $\beta_1$ -адреномиметика добутамина, будет ослаблять его диуретическое и натрийуретическое действие.

Для выяснения роли РАС в механизме действия добутамина в почках мы исследовали влияние на формирование почечных эффектов этого препарата специфических ингибиторов РАС эналаприла и лозартана.

Предварительное назначение крысам ингибитора АПФ эналаприла, ослабляющего стимулирующее действие РАС на транспорт натрия в проксимальных и дистальных отделах нефрона благодаря угнетению образования в почках ангиотензина II [12], весьма существенно изменяло их реакцию на добутамин. Если в контрольных экспериментах диурез к концу 90-минутного периода наблюдения вырос в 1,62 раза, то прирост мочеотделения при комбинации эналаприла с добутамином к этому времени составил 2,85 раза (таблица 3). Внутривенная инфузия добутамина на фоне действия ингибитора АПФ вызывала также значительно более выраженную натрийуретическую реакцию, в результате чего количество теряемого с мочой натрия к концу эксперимента достоверно возросло в 3,62 раза. Аналогичным образом изменялась и величина экскретируемой

фракции натрия, характеризующая реабсорбцию этого иона в почечных канальцах. Если в контрольных опытах экскретируемая фракция натрия увеличилась под влиянием одного добутамина с  $0,33 \pm 0,03\%$  до  $0,51 \pm 0,08\%$  ( $p_T < 0,05$ ), то на фоне предварительного угнетения активности РАС ее значение возросло с  $0,37 \pm 0,04\%$  до  $0,95 \pm 0,14\%$  ( $p_T < 0,01$ ). Эти данные прямо указывают на то, что добутамин после назначения эналаприла в значительно большей степени тормозит реабсорбцию натрия в почках крыс, вызывая у них более выраженную диуретическую и натрийуретическую реакцию. Повышенная потеря натрия с мочой сопровождалась также достоверным увеличением калийуреза, которому соответствовало снижение коэффициента натрий/калий мочи.

Аналогичные данные были получены и в опытах с лозартаном, который ингибирует активность РАС, блокируя  $AT_1$ -ангиотензиновые рецепторы клеток почечных канальцев и других структур почечной ткани (таблица 3).

Таким образом, предварительное подавление активности РАС ингибитором АПФ эналаприлом или антагонистом  $AT_1$ -ангиотензиновых рецепторов лозартаном, резко усиливает ингибирующее действие добутамина на реабсорбцию натрия в почках, которое сопровождается потенцированием его диуретического, натрийуретического и калийуретического эффектов. В связи с этим следует полагать, что РАС выполняет в почках крыс функцию модулятора, препятствующего при внутривенной инфузии добутамина избыточной потере электролитов с мочой.

**Выводы**

1. Внутривенная инфузия добутамина крысам вызывает повышение диуреза, натрийуреза и потери калия с мочой, которое сопровождается увеличением локального кровотока во внутренней зоне коры и наружной зоне мозгового слоя почек.

2. Антагонист  $\beta_{1,2}$ -АР пропранолол и селективный  $\beta_1$ -адреноблокатор талинолол препятствуют гемодинамическому сдвигу во внутренней зоне коры и наружной зоне мозгового слоя почек и полностью устраняют

диуретическую реакцию с увеличением выделения электролитов с мочой, возникающую у крыс при внутривенном введении добутамина.

3. Ингибитор АПФ эналаприл и антагонист  $AT_1$ -ангиотензиновых рецепторов лозартан, подавляющие активность РАС, усиливают ингибирующее действие добутамина на реабсорбцию натрия в почках крыс и потенцируют его диуретический, натрийуретический и калийуретический эффекты.

**Список использованной литературы:**

1. Терещенко С.Н. Новый взгляд на инотропные препараты для лечения сердечной недостаточности // Сердечная недостаточность. – 2001. – Т.2. – №1. – С.8-10
2. Bayram M., De Luca L., Massie M.B., Georghiade M. Reassessment of dobutamine, dopamine and milrinone in the management of acute heart failure // Am. J. Cardiol. – 2005. – Vol. 96. – N6A. – P.47G-58G
3. Boivin V., Jahns R., Gambarian S. et al. Immunofluorescent imaging of beta-1 and beta 2-adrenergic receptors in the rat kidney // Kidney Int. – 2001. – Vol. 59. – N2. – P.515-531
4. Кузнецов Г.Э. Применение негликозидного инотропного препарата добутамина в лечении больных с застойной сердечной недостаточностью: Дисс. ... канд. мед. наук (14.00.06) / Оренб. гос. мед. акад. – Оренбург, 1995. – 139с
5. Wimmer A., Stanek B., Kubecova L. et al. Effects of prostaglandin E1, dobutamine and placebo on hemodynamic, renal and neurohumoral variables in patients with advanced heart failure // Jap. Heart J. – 1999. – Vol. 40. – N3. – P.321
6. Бекетов А.И., Корнелюк И.В. Сравнительный анализ изменений органного кровотока в мозге, почках и в задних конечностях кошек под влиянием адреналина и норадреналина // Фармакол. и токсикол. – 1987. – Т.50. – №2. – С. 33-36
7. Демченко И.Т. Методы изучения мозгового кровообращения. – В кн.: Методы исследования кровообращения / под ред. Б.Н.Ткаченко. – Л.: Наука, 1976. – С.104-125
8. Рябов С.И., Наточин Ю.В. Функциональная нефрология. – СПб.: Лань, 1997. – 294с
9. Петри А., Сэбин К. Наглядная статистика в медицине/ Пер. с англ. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2003. – 143с
10. Persson P.B. Renal blood flow autoregulation in blood pressure control // Curr. Opin. Nephrol. Hypertens. – 2002. – Vol. 11. – N1. – P.67-72
11. Yingst D.R., Massey K.J., Rossi N.F. et al. Angiotensin II directly stimulates activity and alters the phosphorylation of Na-K-ATP-ase in rat proximal tubule a rapid time course // Am. J. Physiol. – 2004. – Vol. 287. – N4. – P. F713-F721
12. Brown N.J., Vaghan D.E. Angiotensin-converting enzyme inhibitors // Circulation. – 1998. – Vol. 97. – N14. – P.1411-1420