

ФАРМАКОЛОГИЯ ЖЕЛУДОЧНО-КИШЕЧНОГО ТРАКТА

РОЛЬ α_2 -АДРЕНО- И I_1 -ИМИДАЗОЛИНОВЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ДЕЙСТВИИ КЛОНИДИНА И МОКСОНИДИНА НА ИЗОЛИРОВАННУЮ ТОЛСТУЮ КИШКУ МЫШИ

Л. П. Козаева, Н. В. Коробов, О. С. Медведев¹

Исследовали способность клонидина и моксонидина взаимодействовать с α_2 -адрено- и I_1 -имидазолиновыми рецепторами на модели изолированной толстой кишки мыши. Оба вещества вызвали дозозависимые сокращения продольной мускулатуры сегмента кишки. Действие препаратов примерно одинаково ослаблялось предварительным введением йохимбина (антагонист α_2 -адренорецепторов с невысоким аффинитетом к I_1 -имидазолиновым рецепторам) и эфароксана (антагонист I_1 -имидазолиновых рецепторов с низким аффинитетом к α_2 -адренорецепторам). Соотношение показателей антагонистической активности (pA_2) йохимбина и эфароксана по отношению к клонидину и моксонидину, а также относительной селективности этих антагонистов позволяет предположить, что действие клонидина и моксонидина на толстую кишку мыши реализуется преимущественно через α_2 -адренорецепторы.

Ключевые слова: клонидин, моксонидин, изолированная толстая кишка мыши, α_2 -адренорецепторы, имидазолиновые рецепторы

ВВЕДЕНИЕ

Клонидин и моксонидин — гипотензивные средства центрального действия, производные имидазолина. Они обладают различной избирательностью к α_2 -адрено- и имидазолиновым рецепторам. Ранее полагали, что механизм гипотензивного действия клонидина связан с активацией α_2 -адренорецепторов преимущественно в росто-вентро-латеральной зоне продолговатого мозга (RVLM) [1, 5, 6, 8]. Позднее было показано, что депрессорная реакция на препараты имидазолиновой структуры может возникать в результате активации в RVLM не только α_2 -адренорецепторов, но также и имидазолиновых I_1 -рецепторов [2–4], плотность которых в этой области мозга существенно выше, чем в других. Более того, в опытах *in vitro* установлено, что аффинность клонидина к имидазолиновым I_1 -рецепторам ($K_i = 1$ нмоль) сравнима с таковой к α_2 -адренорецепторам ($K_i = 4$ нмоль) [3].

Моксонидин — препарат второго поколения гипотензивных средств центрального действия. Показатель аффинности моксонидина к I_1 -имидазолиновым рецепторам (K_i) несколько варьирует в зависимости от вида животных, используемых тканей и радиолигандов, но, как правило, находится в пределах 1–2 нМ [3], то есть приблизительно такой же, как у клонидина. Однако коэффициент селективности, взятый как отно-

шение показателей аффинности (K_i к α_2 -адренорецепторам/ K_i к I_1 -имидазолиновым рецепторам) для моксонидина равен 33, а для клонидина 4 [4].

Поскольку имидазолиновые рецепторы разных типов широко представлены не только в нервной системе, но и во многих органах и тканях (в сердце, почках, желудке, поджелудочной железе, печени, толстом кишечнике, плаценте, предстательной железе [6]), представлялось целесообразным оценить возможность действия клонидина и моксонидина на функции внутренних органов и определить возможный рецепторный спектр их действия. Модель изолированной толстой кишки мыши (ТКМ) выбрана исходя из известных данных об участии α_{2D} -адренорецепторов в контроле сократимости мышц кишечника [2]. Модель ТКМ ранее использовалась для изучения действия агонистов адренорецепторов на простагландиновые механизмы регуляции тонуса мышц толстой кишки [5]. Различия в селективности клонидина и моксонидина к α_2 -адрено- и I_1 -имидазолиновым рецепторам, а также использование антагонистов с различным сродством к данным рецепторам позволяют провести фармакологический анализ роли α_2 -адренорецепторов и имидазолиновых рецепторов в механизме действия клонидина и моксонидина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Сегменты ТКМ длиной около 1 см, взятые от нелинейных мышей массой 20–30 г, помещали в ячейки объемом 10 мл с раствором Кребса при $t^\circ 32^\circ$ С. Начальное натяжение органов составляло 1 г. Через раствор с помещенными в него сегментами кишки постоянно пропускали воздух. Регистрацию сокра-

¹ Кафедра фармакологии (зав. — проф. О. С. Медведев) факультета фундаментальной медицины Московского государственного университета имени М. В. Ломоносова, Москва, 117192, Ломоносовский просп., 31/5.

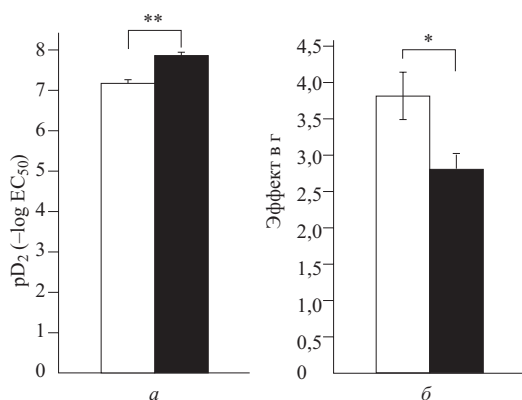


Рис. 1. Сравнительная активность (а) и эффективность (б) клонидина (темные столбики) и моксилидина (светлые столбики) на модели толстого кишечника мыши.

Активность выражена показателем pD_2 , эффективность (амплитуда сокращений мышечной ткани) представлена в граммах. Вертикальные линии отражают величину стандартной ошибки средней, при $n = 20$, * — $p < 0,05$, ** — $p < 0,001$.

щений осуществляли в изометрическом режиме с помощью датчика К30 (“Hugo Sachs Elektronik KG”, Германия) на самописце “Rikadenki” (“Hugo Sachs Elektronik KG”, Германия). Препараты ТКМ уравнивали в растворе Кребса в течение часа, затем в раствор вводили ацетилхолин (АЦХ, $1 \cdot 10^{-6}$ М) для оценки чувствительности гладкой мускулатуры. Исследуемые вещества растворяли в дистиллированной воде и вводили в раствор, омывающий органы, в объеме от 5 до 15 мкл. Каждое последующее введение веществ производили после 4–5-кратного отмывания изолированных органов в течение 12–15 мин. Время воздействия агонистов на сегменты ТКМ составляло 2–3 мин с интервалами в 15 мин. Антагонисты вводили за 5 мин до тестируемых агонистов. На основании полученных данных строили кривые зависимости доза-эффект клонидина и моксилидина в присутствии и отсутствии антагонистов. Активность исследуемых веществ выражали показателем pD_2 (численно равен отрицательному десятичному логарифму концентрации вещества, вызывающей 50 % эффект от максимального), эффективность выражали в граммах, исходя из начального напряжения сегментов ТКМ (1 г). Для антагонистов подсчитывали значения pA_2 по методу Шильда с оценкой активности агониста на уровне 20 % эффекта от максимального из-за трудности отмывания высоких концентраций препаратов. Статистическую обработку данных проводили с использованием t -критерия Стьюдента.

В экспериментах были использованы следующие вещества: ацетилхолина гидрохлорид (“Sigma”), атропина сульфат (“Sigma”), моксилидина гидрохлорид (НПО “Фармзащита”, Россия), йохимбина гидрохлорид (“Sigma”), эфароксана гидрохлорид (RBI), налоксона гидрохлорид (“Sigma”), диклофенак натрия (AGIO), даларгин (ВКНПК РФ).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Клонидин и моксилидин вызвали дозозависимые сокращения сегментов ТКМ ($n = 20$). Дозозависимые ответы вызывали также ацетилхолин и даларгин (синтетический опиоидный пептид). Действие клонидина, моксилидина и даларгина, но не ацетилхолина предупреждалось ингибитором циклооксигеназы диклофенаком ($1 \cdot 10^{-5}$ М). На действие клонидина и моксилидина не оказывали влияние атропин и налоксон ($1 \cdot 10^{-7}$ М). Атропин предупреждал действие ацетилхолина, а налоксон — даларгина.

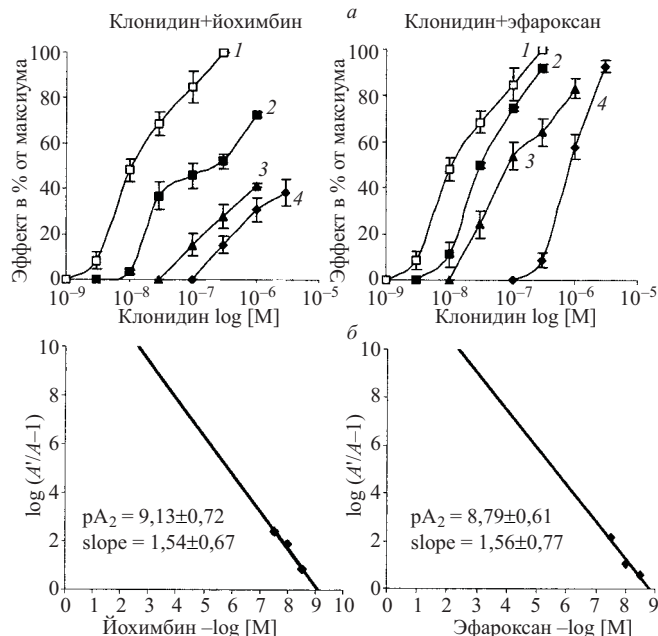


Рис. 2. Кривые зависимости (а) доза-эффект для клонидина в отсутствии (1) и присутствии йохимбина и эфароксана в разных концентрациях.

Здесь и на рис. 3: $2 - 3 \cdot 10^{-9}$ М, $3 - 1 \cdot 10^{-7}$ М, $4 - 3 \cdot 10^{-8}$ М). Каждая точка является средней величиной из данных не менее четырех экспериментов, вертикальные линии отражают величину стандартной ошибки средней. б — графики со значениями pA_2 антагонистов — йохимбина и эфароксана, построенные по методу Шильда.

Анализ полученных данных дает основание предположить, что клонидин и моксилидин вызывают сократительные ответы ТКМ посредством ингибирования нехолинергического неадренергического механизма путем активации α_2 -адренорецепторов и, возможно, I_1 -имидазолиновых рецепторов. Ранее было показано, что угнетение этого нехолинергического неадренергического механизма растормаживает другой, противоположно действующий механизм регуляции мышечного тонуса ТКМ — синтез простагландинов [5]. В проведенных экспериментах это положение подтверждается способностью диклофенака предупреждать действие препаратов. В последнее время также были получены данные о возможности влияния моксилидина на синтез простагландинов в модели изолированного перфузируемого сердца крысы [7].

Активность клонидина на данной модели была выше, в то время как по эффективности он уступал моксилидину (рис. 1, а и б)

Сокращения ТКМ, вызываемые клонидином и моксилидином, уменьшались на фоне предварительного введения йохимбина и эфароксана. Йохимбин и эфароксан смещали кривые доза-эффект тестируемых веществ вправо (рис. 2, а и 3, а).

Взаимодействие этих веществ носит, скорее всего, конкурентный характер, хотя из-за трудности отмывания высоких концентраций исследуемых препаратов (клонидина в большей степени) не удалось получить

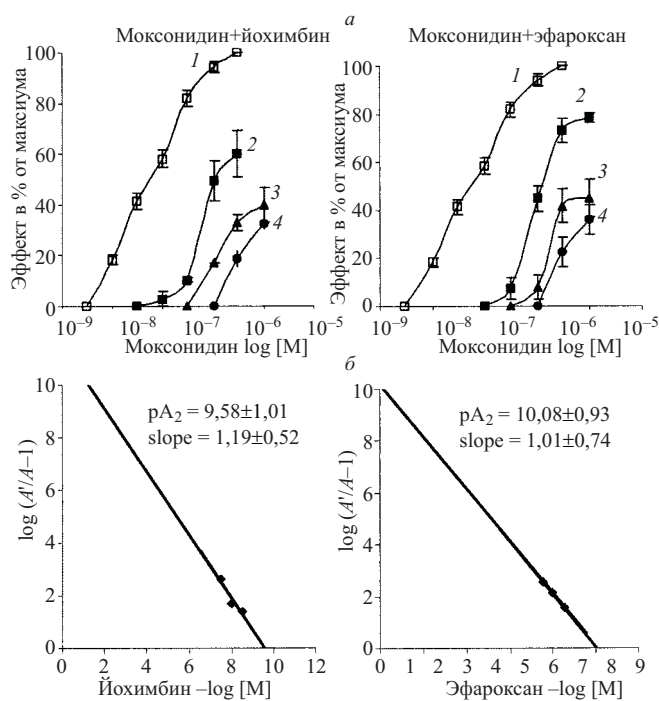


Рис. 3. Кривые зависимости (а) доза-эффект для моксонидина в отсутствии (1) и присутствии йохимбина и эфароксана в разных концентрациях.

Обозначения те же, что на рис. 2.

полных графиков зависимости доза-эффект. Значения $slope$ (рис. 2, б и 3, б), характеризующие конкурентный антагонизм в опытах с клонидином, больше отклоняются от единицы, чем с моксонидином, что, возможно, происходит из-за десенситизации рецепторов высокими концентрациями клонидина [8]. Значения pA_2 (рис. 2, б и 3, б) йохимбина для клонидина и моксонидина отличаются незначительно, тогда как, сравнивая значения pA_2 эфароксана для обоих веществ, можно предположить, что, по-видимому, доля участия I_1 -имидазолиновых рецепторов в реализации эффек-

тов моксонидина несколько больше, чем клонидина. Однако учитывая, что аффинитет эфароксана к I_1 -имидазолиновым рецепторам гораздо выше, чем йохимбина (K_i 0,15 и 5000 нмоль соответственно), тогда как аффинность к α_2 -адренорецепторам у них сопоставима (K_i 5,6 и 5,8 нмоль соответственно) [4], полученные результаты позволяют предположить, что влияние клонидина и моксонидина на ТКМ обусловлено преимущественно взаимодействием с α_2 -адренорецепторами. В то же время некоторое превосходство моксонидина над клонидином по вызываемому эффекту (максимальная сила сокращений) в этой модели, возможно, обусловлено влиянием и на имидазолиновые рецепторы.

ВЫВОДЫ

1. Клонидин и моксонидин, устраняя ингибирующее влияние нехолинергического неадренергического механизма, активируют синтез простагландинов в ткани толстого кишечника мыши.
2. Действие веществ, по-видимому, связано с влиянием преимущественно на α_2 -адренорецепторы.

ЛИТЕРАТУРА

1. B. I. Armah, *Arzneimittel Forsch. Drug Res.*, **38**(11), 1435 – 1442 (1988).
2. R. Colucci, C. Blandizzi, D. Carignani, G. Placanica, et al., *Nauyn Schiedberg's Arch. Pharmacol.*, **357**, 682 – 691 (1998).
3. P. Ernsberger, T. H. Damon, L. M. Graff, et al., *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **264**, 172 – 182 (1993).
4. P. Ernsberger, M. E. Graves, L. M. Graff, et al., *Ann. NY Acad. Sci.*, **763**, 22 – 42 (1997).
5. J. Fontaine, A. Grivegnée, and J. Reuse, *Br. J. Pharmacol.*, **81**, 231 – 243 (1984).
6. G. J. Molderings, *Drugs Future.*, **22**, 757 – 772 (1997).
7. U. Schafer, C. Burgdorf, A. Engelhardt, T. Kurz, and G. Rihardt, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **303**(3), 163 – 1170 (2002).
8. H. O. Schild, *Pharmacol. Rev.*, **2** – 4, 242 – 246 (1957).

Поступила 22.03.04

THE ROLE OF α_2 -ADRENERGIC AND I_1 -IMIDAZOLINE RECEPTORS IN THE EFFECTS OF CLONIDINE AND MOXONIDINE ON ISOLATED LARGE INTESTINE OF MICE

L. P. Kozueva, N. V. Korobov, and O. S. Medvedev

Pharmacology Chair, Department of Fundamental Medicine, Moscow State University, Lomonosovskii pr. 31/5, Moscow, 117192 Russia

The ability of clonidine and moxonidine to interact with α_2 -adreno- and I_1 -imidazoline receptors was studied on isolated segments of large intestine of mice. Both drugs induced dose-dependent contractions in longitudinal muscles of the intestine segments. In both cases, the drug action was almost equally decreased by pretreatment with of yohimbine (α_2 -adrenoreceptor agonist with low affinity to I_1 -imidazoline receptors) and efaroxan (I_1 -imidazoline receptor agonist with low affinity to α_2 -adrenoreceptors). Analysis of the ratios of the antagonist activities (pA_2) of yohimbine and efaroxan with respect to clonidine and moxonidine, as well as the relative selectivity of the two antagonists suggested that the action of both drugs on the large intestine is realized predominantly via α_2 -adrenoreceptors.