

# ФАРМАКОЛОГИЯ, КЛИНИЧЕСКАЯ ФАРМАКОЛОГИЯ

Е. В. Бондарев, С. Ю. Штрыголь

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЙ АНАЛИЗ РОЛИ АДРЕНО- И ХОЛИНОРЕЦЕПТОРОВ ВО ФРИГОПРОТЕКТОРНОМ ДЕЙСТВИИ ГЛЮКОЗАМИНА ГИДРОХЛОРИДА

Национальный фармацевтический университет, г. Харьков, Украина

*Лечение и профилактика острой холодовой травмы относятся к важнейшим проблемам современной медицины и фармакологии и требуют углубленного изучения механизмов адаптации организма к низким температурам. Для эффективного лечения и профилактики холодовых травм необходим поиск новых фригопротекторных средств. Целью данной работы стало изучение значения адрено- и холинорецепторов в повышении устойчивости к острому общему охлаждению под влиянием глюкозамина гидрохлорида в опытах на мышах. Глюкозамина гидрохлорид оказывает выраженный фригопротекторный эффект. Блокада  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - и  $\alpha_1$ -адренорецепторов значительно снижает устойчивость организма к общему охлаждению, но эффект  $\beta$ -блокатора практически устраняется введением глюкозамина гидрохлорида, а эффект  $\alpha_1$ -адреноблокатора не устраняется. Блокада М-холинорецепторов препятствует фригопротекторным свойствам глюкозамина гидрохлорида, а стимуляция  $\alpha_2$ -адренорецепторов не влияет на них.*

*Ключевые слова: острое охлаждение, глюкозамина гидрохлорид, атропин, пропранолол, клонидин, доксазозин.*

### ВВЕДЕНИЕ

Одно из распространенных неблагоприятных экологических воздействий, которое испытывает человек, – это общее охлаждение организма [1–3]. Оно развивается под влиянием низких температур и сопровождается нарушением жизненно важных функций: кровообращения, терморегуляции, состояния центральной нервной системы. Действие холода приводит к перенапряжению компенсаторных реакций, снижению уровня энергетического и пластического обмена, изменениям со стороны кожи и микроциркуляции в ней [4–6].

Несмотря на большое количество исследований, профилактика и лечение холодовой травмы остаются сложной задачей. Поэтому поиск лекарственных средств с фригопротекторным действием является актуальной задачей [7–9]. В решении этой задачи привлекает внимание глюкозамина гидрохлорид (Г г/х).

Глюкозамин является важным структурным компонентом, необходимым для биосинтеза таких соединений, как гликолипиды, гликопротеины, гликозаминогли-

каны. Непосредственно или косвенно глюкозамин играет роль в формировании суставных поверхностей, сухожилий, связок, синовиальной жидкости, кожи, костной ткани, ногтей, клапанов сердца, кровеносных сосудов и слизистой оболочки пищеварительного, дыхательного и мочевого тракта [7, 8, 10].

Глюкозамин и его производные имеют полимодальные фармакологические свойства, в том числе церебропротекторные, мембраностабилизирующие, противовоспалительные, антиоксидантные, гастропротекторные, хондропротекторные [10].

Нами впервые выявлено выраженное фригопротекторное действие у Г г/х на экспериментальной модели острого общего охлаждения [7]. Г г/х улучшает показатели выживания животных, двигательную активность, тонус мышц, координацию движений и физическую выносливость, нормализует функциональное состояние почек в восстановительном периоде. Все эти преимущества обосновывают целесообразность углубленных исследований Г г/х в качестве потенциального фригопротектора.

В регуляции чувствительности организма к действию холода принимают участие адрено- и холинореактивные системы [11–13, 16]. В литературе не обнаружено данных о возможном участии отдельных типов адрено- и холинорецепторов во фригопротекторном действии Г г/х.

Цель исследования: оценить эффективность фригопротекторного действия Г г/х при совместном применении с  $\beta_{1,2}$ -адреноблокатором,  $\alpha_1$ -адреноблокатором,  $\alpha_2$ -адреномиметиком и М-холиноблокатором в условиях острой холодовой травмы у мышей.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено в зимний период на белых рандомбредных мышьях-самцах массой 28–32 г, которых содержали согласно правилам GLP в стандартных условиях вивария при температуре +24–25°C. Придерживались требований Директивы Совета ЕС по вопросам защиты животных, используемых для экспериментальных и других научных целей [14].

Модель острого охлаждения воспроизводили на белых мышьях-самцах по экспериментальной методике [9]. Для моделирования холодовой травмы животных помещали в индивидуальные пластиковые пеналы размером 8×8×15 см, которые не ограничивают доступ воздуха. Животных в пеналах помещали в морозильную камеру «Nord Inter-300» при температуре –18°C. Исследуемые средства атропин, пропранолол, доксазозин, клонидин, глюкозамина гидрохлорид вводили в виде водного раствора внутривентриально (в/б) в профилактическом режиме за 30 мин до холодовой травмы.

Животные были разделены на группы в соответствии со средством, которое они получали. Группа 1 – контроль + холодовая травма (n=7); группа 2 – Г г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма (n=11); группа 3 – атропина сульфат (1 мг/кг, в/б) + холодовая травма (n=7); группа 4 – атропина сульфат (1 мг/кг) + Г г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма (n=7); группа 5 – пропранолол (4 мг/кг, в/б) + холодовая травма (n=11); группа 6 – пропранолол (4 мг/кг) + Г г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма (n=11); группа 7 – клонидин (10 мкг/кг, в/б) + холодовая травма (n=7); группа 8 – клонидин (10 мкг/кг, в/б) + Г г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма (n=7); группа 9 – доксазозин (10 мг/

кг, в/б) + холодовая травма (n=8); группа 10 – доксазозин (10 мг/кг, в/б) + Г г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма.

Использованные дозы тестирующих средств обеспечивают соответствующие адрено- и холинотропные эффекты [12]. При выборе эффективной фригопротекторной дозы Г г/х (50 мг/кг) ориентировались на результаты предыдущих исследований [7, 8].

Критерием эффективности фригопротекторного действия служило время жизни животных. Рассчитывали показатель фригопротекторной активности – изменение среднего времени жизни в каждой группе к времени жизни в контроле (%). Для статистической обработки количественных данных использовали критерий Стьюдента.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

На модели общего охлаждения наблюдаются изменения времени жизни животных, представленные в таблице.

Анализ результатов свидетельствует, что при остром охлаждении под действием Г г/х в дозе 50 мг/кг при в/б введении время жизни мышей статистически достоверно повышалось в сравнении с группой контроля (холодовая травма) в среднем на 35,6%, что подтверждает установленное ранее фригопротекторное действие средства.

При введении атропина в дозе 1 мг/кг в/б на фоне острой холодовой травмы показатель времени жизни был ниже контрольного на 5,6%. Следовательно, блокада М-холинорецепторов практически не влияет на чувствительность к острому охлаждению. При этом продолжительность жизни животных под действием атропина была достоверно ниже, чем в группе «холодовая травма + Г г/х» ( $p < 0,05$ ).

Тенденция к снижению устойчивости к охлаждению на фоне внутривентриального введения атропина, очевидно, объясняется угнетением холинореактивных систем и дисбалансом вегетативного тонуса, что может приводить к нарушению вазомоторных реакций, снижению метаболизма и усиленной потере тепла.

При комбинации Г г/х и атропина показатель времени жизни животных сохраняется на уровне группы контроля. Это означает, что блокада М-холинорецепторов устраняет фригопротекторные свойства Г г/х.

Таблица – Изменения времени жизни и фригопротекторная активность животных в условиях острой холодовой травмы у мышей

№	Условия опыта	n	Время жизни мышей, мин	Фригопротекторная активность, %
1	Контроль (холодовая травма)	7	76,4±3,72##/□	-
2	Глюкозамина г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма	11	103,6±13,0 ##/^^/□	+35,6
3	Атропина сульфат (1 мг/кг, в/б) + холодовая травма	7	72,1±2,05 **/##/□	-5,6
4	Атропина сульфат (1 мг/кг) + глюкозамина г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма	7	73,3±3,64 **/##/□	-4,0
5	Пропранолол (4 мг/кг, в/б) + холодовая травма	11	57,7±2,51 */**/□	-24,5
6	Пропранолол (4 мг/кг) + глюкозамина г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма	11	76,9±6,27 ##/□	+0,7
7	Клонидин (10 мкг/кг, в/б) + холодовая травма	7	66,9±5,98 **/□	-12,4
8	Клонидин (10 мкг/кг, в/б) + Г г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма	7	92,4±6,21 */^^/##/□	+20,9
9	Доксазозин (10 мг/кг, в/б) + холодовая травма	8	34,8±1,92 */**/^^	-54,5
10	Доксазозин (10 мг/кг, в/б) + глюкозамина г/х (50 мг/кг, в/б) + холодовая травма	8	35,7±1,30 */**/^^	-53,3

Примечания: \* – достоверно по отношению к контролю (холодовая травма),  $p < 0,05$ . \*\* – достоверно по отношению к группе «холодовая травма + глюкозамина г/х (50 мг/кг, в/б)»,  $p < 0,05$ . ## – достоверно по отношению к группе «пропранолол + холодовая травма»,  $p < 0,05$ . ^^ – достоверно по отношению к группе «клонидин + холодовая травма»,  $p < 0,05$ . □ – достоверно по отношению к группе «доксазозин + холодовая травма»,  $p < 0,05$ .

В группе, получавшей на фоне холодовой травмы пропранолол в дозе 4 мг/кг, наблюдали достоверное уменьшение показателя времени жизни животных по отношению к группе контроля на 24,5% и по отношению к группе (Г г/х + холодовая травма) ( $p < 0,05$ ). Таким образом, блокада  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторов резко снижает устойчивость организма к острой холодовой травме. В связи с такими эффектами  $\beta$ -адреноблокаторов, как снижение тонуса симпатической иннервации, работы сердца и АД, уменьшение интенсивности периферического кровотока и обмена глюкозы и липидов, устойчивость организма к охлаждению снижается, что и было установлено в эксперименте.

Г г/х в комбинации с пропранололом устранял неблагоприятное действие бета-блокатора, достоверно увеличивая продолжительность жизни до контрольного уровня.

Поскольку Г г/х на фоне  $\beta_{1,2}$ -адреноблокаторов оказывает такое же по выра-

женности защитное действие при острой холодовой травме, можно предположить, что  $\beta$ -адренорецепторы не вовлечены в механизм его фригопротекторного эффекта.

Клонидин снижал устойчивость к холоду на уровне тенденции на 12,4%, а Г г/х достоверно устранял этот эффект (фригопротекторная активность 20,9%). Механизм действия клонидина обусловлен стимуляцией постсинаптических  $\alpha_2$ -адренорецепторов сосудодвигательного центра продолговатого мозга и периферических адренореактивных структур. Возможный механизм умеренного снижения устойчивости к охлаждению на фоне внутрибрюшинного введения клонидина, по-видимому, объясняется взаимодействием периферических и центральных эффектов  $\alpha_2$ -адреномиметика. Возбуждение периферических  $\alpha_2$ -адренорецепторов, которое может преобладать в первой фазе действия парентерально введенного клонидина [15], способствует вазоконстрик-

ции, а по мере стимуляции центральных  $\alpha_2$ -адренорецепторов ослабляется симпатический контроль сердечно-сосудистой системы со снижением работы сердца и вазодилатацией, что может способствовать уменьшению интенсивности метаболизма и усиленной потере тепла. Очевидно, в результате преобладания последнего время выживания животных в условиях острого охлаждения имело рассмотренную выше устойчивую тенденцию к снижению.

Оказывая сосудорасширяющее действие, доксазозин в дозе 10 мг/кг в/б на фоне острой холодовой травмы уменьшал время жизни на 54,5%. При этом продолжительность жизни животных под действием доксазозина была также достоверно ниже, чем в группе «холодовая травма + Г г/х 50 мг/кг в/б». Следовательно, блокада  $\alpha_1$ -адренорецепторов повышает устойчивость организма к острому охлаждению, очевидно, за счет усиленной потери тепла при вазодилатации.

При комбинации Г г/х и доксазозина показатель времени жизни животных также был ниже, чем в группе контроля, на 53,3%. Это означает, что блокада  $\alpha$ -адренорецепторов устраняет фригопротекторные свойства Г г/х.

Обобщая комплекс полученных данных, следует отметить, что блокада различных типов адренорецепторов ( $\beta_1$ -,  $\beta_2$ -,  $\alpha_1$ -) повышает чувствительность организма к общему охлаждению. Это, очевидно, важно учитывать пациентам, получающим соответствующие лекарственные средства в условиях низкой температуры окружающего воздуха.  $\alpha_2$ -адреномиметик клонидин также может несколько ухудшать холодоустойчивость. Блокада М-холинорецепторов почти не влияет на чувствительность к острой холодовой травме. Г г/х, который *per se* оказывает фригопротекторный эффект, сохраняет эти свойства на фоне блокады  $\beta$ -адренорецепторов разных типов и на фоне стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецепторов.

Однако в условиях блокады М-холинорецепторов или  $\alpha_1$ -адренорецепторов фригопротекторные свойства Г г/х не проявляются. Следовательно, по результатам фармакологического анализа можно утверждать, что М-холинореактивные и  $\alpha_1$ -адренореактивные структуры вовлечены в механизм фригопротекторного эффекта Г г/х, который может, по-видимому, выступать в роли модулятора М-холинорецепторов и  $\alpha_1$ -адренорецепторов.

## ВЫВОДЫ

1. В эксперименте на мышах в условиях острого общего охлаждения глюкозамина гидрохлорид в дозе 50 мг/кг при внутрибрюшинном введении оказывает выраженное фригопротекторное действие, которое заключается в увеличении времени жизни животных.

2. Блокада М-холинорецепторов атропином существенно не влияет на время жизни животных в условиях холодовой травмы, но устраняет фригопротекторный эффект глюкозамина гидрохлорида.

3. Блокируя  $\beta_1$ - и  $\beta_2$ -адренорецепторы, пропранолол снижает устойчивость организма к общему охлаждению, чему препятствует глюкозамина гидрохлорид.

4. При блокаде  $\alpha_1$ -адренорецепторов доксазозином снижается устойчивость организма к острому охлаждению, данный эффект не устраняется глюкозамина гидрохлоридом.

5. При стимуляции  $\alpha_2$ -адренорецепторов клонидином умеренно снижается устойчивость организма к общему охлаждению, глюкозамина гидрохлорид препятствует этому эффекту  $\alpha_2$ -адреномиметика.

6. В механизме фригопротекторного действия глюкозамина гидрохлорида принимают участие  $\alpha_1$ -адренорецепторы и М-холинорецепторы.

## SUMMARY

Ye. V. Bondarev, S. Yu. Shtrygol  
EXPERIMENTAL ANALYSIS  
OF THE ROLE OF ADRENERGIC  
AND CHOLINERGIC RECEPTORS  
IN GLUCOSAMINE HYDROCHLORIDE  
FRIGOPROTECTION ACTION

Treatment and prevention of acute cold injury refer to the important problems of modern medicine and pharmacology and require in-depth study of the mechanisms of adaptation to low temperatures. For the effective treatment and prevention of cold injury the search for new frigoprotective drug is required. Objective of our work was to analyse the implications of adrenergic and cholinergic receptors in the increase of resistance to acute general exposure to cold by glucosamine hydrochloride in mice. Glucosamine hydrochloride has a strong frigoprotective action. Blockade of  $\beta_1$ -,  $\beta_2$ - and  $\alpha_1$ -adrenoreceptors significantly reduces the body resistance to the total cooling but the effect of  $\beta$ -blocker is eliminated by adminis-

tration of glucosamine hydrochloride while the effect of  $\alpha_1$ -blocker persists. M-cholinergic receptor blockade prevents frigoprotective properties of glucosamine hydrochloride, and  $\alpha_2$ -adrenoceptor stimulation does not affect them.

Keywords: acute exposure to cold, glucosamine hydrochloride, atropine, propranolol, clonidine, doxazosin.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Karlsen, A. M. Equipment to prevent, diagnose, and treat hypothermia: a survey of Norwegian pre-hospital services / A. M. Karlsen // *Scand J Trauma Resusc Emerg Med.* – 2013, 21:63.

2. Lapostolle, F. Risk factors for onset of hypothermia in trauma victims: the Hypo Traum study / F. Lapostolle // *Crit Care* 2012, 16:R142.

3. *Clin. North. Am.* – 2000. – Vol.26. – P. 1–11.

4. Андреев, О. В. Диагностика и лечение локальной холодовой травмы / О. В. Андреев, Н. Н. Фисталь, Д. П. Гиодурец // *Вестник неотложной и восстановительной медицины.* – 2005. – Т. 6. – №2. – С. 247–249.

5. Афанасьева, Р. Ф. Холодовой стресс, критерии оценки, прогнозирование риска охлаждения человека / Р. Ф. Афанасьева // *Безопасность жизнедеятельности.* – 2006. – №2. – С. 16–21.

6. Крылов, К. М. Холодовая травма: проблемы и вариант решения / К. М. Крылов, Д. А. Козулин, Д. В. Немченко // Третья научная конференция по проблеме «Холодовая травма». Сборник тезисов. – Санкт-Петербург. – 2002. – С. 47–48.

7. Бондарев, Є. В. Скринінгове дослідження глюкозаміну гідрохлориду в якості засобу фригопротекторної дії / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // *Клінічна фармація.* – 2010. – Т.14. – №4. – С. 47–49.

8. Бондарев, Є. В. Вплив глюкозаміну гідрохлориду на стан центральної нервової системи та на фізичну витривалість мишей після гострого загального охолодження / Є. В. Бондарев, С. Ю. Штриголь // *Український біофармацевтичний журнал.* – 2010. – №5(10). – С. 60–65.

9. Увеличение продолжительности жизни мышей при остром охлаждении под воздействием препарата, выделенного из *Laminaria sacchara* / Ю. В. Дрозд [и др.] // *Биол.эксперим.биол.и мед.* – 1991. – №4. – С. 383–384.

10. Delafuente, J. C. Glucosamine in the treatment of osteoarthritis / J. C. Delafuente // *Rheum. Dis. Soreide K: Clinical and translational aspects of hypothermia in major trauma patients: from pathophysiology to prevention, prognosis and potential preservation.* *Injury* 2014, 45:647–654.

11. Азов, О. А. Влияние температуры тела на сердечный ритм у крыс после блокады адрено- и холинорецепторов / О. А. Азов, О. Г. Тихонович // *Функциональные системы организма в норме и при патологии.* Сборник научных тезисов под редакцией доктора медицинских наук, профессора В. С. Улащика и доктора биологических наук А. Г. Чумака. – Минск: РИВШ. – 2008. – С. 56–59.

12. Мирюк, М. И. Фармакодинамика адренорецепторов и холинорецепторов при адаптации к холоду / М. И. Мирюк // *Фундаментальная наука и клиническая медицина.* Тринадцатая Всероссийская медико-биологическая конференция молодых исследователей «Человек и его здоровье». – Санкт – Петербург. – 2010. – С. 127–128.

13. Ананьев В. Н. Действие адаптации к холоду на рецепторы сердечно-сосудистой системы / В. Н. Ананьев // *Авиакосмическая и экологическая медицина.* – 2014. – Т. 47. – №4. – С. 5–6.

14. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / [под ред. Р. У. Хабриева]. – М.: Медицина, 2005. – С. 832.

15. Штриголь, С. Ю. Модуляция фармакологических эффектов при различных солевых режимах / С. Ю. Штриголь. – Харьков : Авеста-ВЛТ, 2007. – 360 с.

16. Сивков, А. В. Альфа-1-адреноблокаторы в терапии доброкачественной гиперплазии предстательной железы / А. В. Сивков, О. И. Аполихин // *Consilium Medicum.* – 2002. – №07 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [http://conmed.ru/magazines/consilium\\_medicum/consilium\\_medicum-07-2002/](http://conmed.ru/magazines/consilium_medicum/consilium_medicum-07-2002/).

### Адрес для корреспонденции:

61002, Украина,  
г. Харьков, ул. Пушкинская, 53,  
Национальный фармацевтический университет,  
кафедра фармакологии,  
тел. (+38099) 9571995,  
e-mail: [jck.bond@gmail.com](mailto:jck.bond@gmail.com),  
Бондарев Е. В.

Поступила 27.10.2014 г.