

## ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 612.13

### РЕАКТИВНОСТЬ КРОВООБРАЩЕНИЯ К АЦЕТИЛХОЛИНУ ПРИ АДАПТАЦИИ К ХОЛОДУ

В.Н. Ананьев

Институт медико-биологических проблем РАН

*Реактивность системного давления и периферических артерий к ацетилхолину меняется за счет изменения чувствительности рецепторов и их количества. Депрессорная реакция системного давления на все дозы ацетилхолина на 30-й день холодовой адаптации меньше контрольной благодаря снижению чувствительности М-2-холинорецепторов сердца в 3,6 раза, а количество М-2-холинорецепторов при этом не изменяется. После 30 дней холодовой адаптации возрастает депрессорное действие ацетилхолина на артериальные сосуды за счет увеличения чувствительности М-3-холинорецепторов на 233%, а количество активных М-3-холинорецепторов на 30-й день холодовой адаптации уменьшается на 41%.*

*Ключевые слова:* холод, адаптация, холинорецепторы, сердце, артерии, ацетилхолин, кровообращение.

**Введение.** Адаптация к холоду является актуальной задачей теоретической и практической медицины [1; 2; 4; 7; 9]. Учение о рецепторах играет исключительную роль в понимании механизмов гомеостаза и патогенеза различных заболеваний [14; 15; 16]. Использование данных о существовании альфа-адренорецепторов позволило создать и применить эффективно в клинической практике как селективные миметики так и селективные блокаторы альфа-1 и альфа-2-адренорецепторов [14; 16]. Но до настоящего времени не нашло широкого применения использования лекарственных средств, действующих на М-2-холинорецепторы сердца и М-3-холинорецепторы артерий для улучшения приспособляемости человека к различным режимам холодовой адаптации [1;3;6]. Это связано с тем, что недостаточно изучены фундаментальные механизмы адаптации к холоду на уровне рецепторных взаимоотношений [3; 6; 16]. Показано, что изменения в сердечно-сосудистой системе во многом определяют резервы организма при адаптации к холоду [2; 10; 15].

Изучение действия природных факторов, в том числе холода, на регуляцию рецепторов сердечно-сосудистой системы имеет фундаментальное значение, так как это, возможно, может позволить с профилактической целью с помощью холодового закаливания изменять в нужном направлении количество рецепторов и их чувствительность [2; 16]. Знание количества и чувствительности М-холинорецепторов сердечно-сосудистой системы в

различные периоды холодовой адаптации позволит более точно подбирать дозу лекарств, действующих на холинорецепторы при различных заболеваниях и при адаптации в условиях Крайнего Севера [1; 3; 13]. Поэтому, целью настоящей работы явилось изучение холинореактивности системного давления и тонуса артериальных сосудов кожно-мышечной области задней конечности в различные сроки холодовой адаптации.

**Материал и методика.** Для решения поставленных задач проведены исследования на кроликах самцах (массой 2,5 – 3,5 кг) под наркозом. Контрольную группу составили кролики, содержащиеся при температуре окружающей среды  $+18 - 22^{\circ}\text{C}$  в течение 30-ти дней. Холодовое воздействие проводилось ежедневно по 6 часов в охлаждающей камере при температуре  $-10^{\circ}\text{C}$ , в остальное время кролики находились при температуре  $+18 - 22^{\circ}\text{C}$ . Исследовали системное давление и сосудистую ответную реакцию препарата кожно-мышечной области задней конечности при перфузии кровью этого же животного с помощью насоса постоянной производительности [3]. Ацетилхолин в восьми дозах вводили внутривенно и внутриартериально перед входом насоса, изменения системного давления и перфузионного давления регистрировали электроманометрами и записывали на ленте самописца. Для описания взаимодействия медиатора со специфическим рецептором использовалась теория Кларка и Ариенса, которая основывается на том, что величина эффекта пропорциональна количеству комплексов рецептор-медиатор. Величина фармакологического эффекта (E) прямо пропорциональна концентрации комплексов лекарственное вещество - рецептор. Максимальный эффект имеет место при оккупации всех рецепторов. Для анализа ответной реакции сосудистых регионов нами использован графический способ определения параметров взаимодействия, впервые предложенный Лайниувером и Берком. Для оценки параметров взаимодействия рецепторов с медиаторами были применены методы количественной оценки взаимодействия «медиатор-рецептор» [3]. Для построения графика «доза-эффект» в двойных обратных координатах экспериментальные точки соединяли прямой с использованием метода наименьших квадратов и экстраполировали до пересечения с осями ординат и абсцисс. Пересечение с осью ординат давало отрезок, который соответствовал  $1/P_m$ , обратная величина которого отражала максимально возможную реакцию системного и перфузионного давления ( $P_m$  – мм рт. ст.) и соответствовала количеству активных рецепторов; пересечение с осью абсцисс отсекало отрезок, который был равен величине  $1/K$  и отражал чувствительность рецепторов к агонисту, а обратная величина ( $K$  – мкг.кг) отражала сродство рецепторов к агонисту и была равна дозе, вызывающей 50% от максимально возможной реакции перфузионного давления при внутриартериальном введении и реакции системного давления при внутривенном введении. Определялась и эффективность взаимодействия медиатора с рецептором E (мм рт. ст./мкг), которая находилась по формуле  $E = P_m / (2 \times K)$ .

**Результаты и обсуждение.** На рис. 1. представлены данные опытов, проведенных на животных, после 30 дней холодовой адаптации. Введение восьми возрастающих доз ацетилхолина вызывало, как и в контрольной

группе, увеличение депрессорной реакции артериального давления (рис. 1). При введении 0,1 мкг/кг ацетилхолина артериальное давление снижалось на  $7 \pm 0,39$  мм рт. ст., при введении дозы 0,2 мкг/кг депрессорная реакция артериального давления увеличилась до  $12 \pm 0,85$  мм рт. ст.

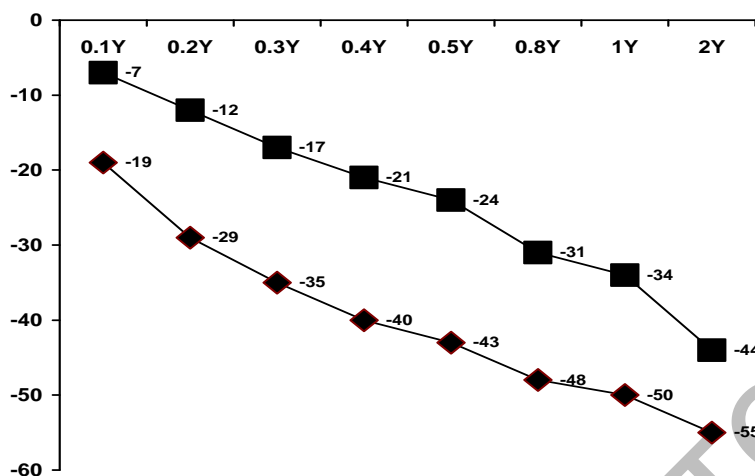


Рис. 1. Средние величины снижения артериального давления при введении ацетилхолина в контрольной группе (ромбы) и после 30 дней холодовой адаптации (квадраты): по оси абсцисс – доза ацетилхолина, мкг/кг; по оси ординат – разница артериального давления, мм рт. ст.

Дальнейшее увеличение вводимых доз ацетилхолина ведет к увеличению депрессорной реакции артериального давления. При введении максимальной исследуемой дозы 2 мкг/кг артериальное давление снизилось на  $44 \pm 1,24$  мм рт. ст. На рис. 1 представлены величины снижения артериального давления (мм рт. ст.) контрольной группы (N) и кроликов после 30 дней холодовой адаптации при введении восьми доз ацетилхолина. Как видно из рис.1, на все дозы ацетилхолина от 0,1 мкг/кг до 2 мкг/кг депрессорная реакция артериального давления была достоверно меньше ( $P < 0,05$ ) у животных после 30 дней адаптации к холоду по сравнению с контрольной группой. Для количественной характеристики действия различных доз ацетилхолина на системное давление после 30 дней холодовой адаптации на рис. 2 представлен график изменения системного давления в двойных обратных координатах.

Прямая, отражающая реакцию животных после 30 дней адаптации к холоду, пересекает ось ординат при  $1/P_m = 0,01626$ , что соответствует  $P_m = 61,5 \pm 1,7$  мм рт. ст. (рис. 2). Прямая для контрольной группы животных (N) пересекает ось ординат при  $1/P_m = 0,01626$ , что соответствует  $P_m = 61,5 \pm 1,6$  мм рт. ст (рис. 2). Максимально возможная депрессорная реакция артериального давления на ацетилхолин после 30 дней адаптации к холоду нормализуется.

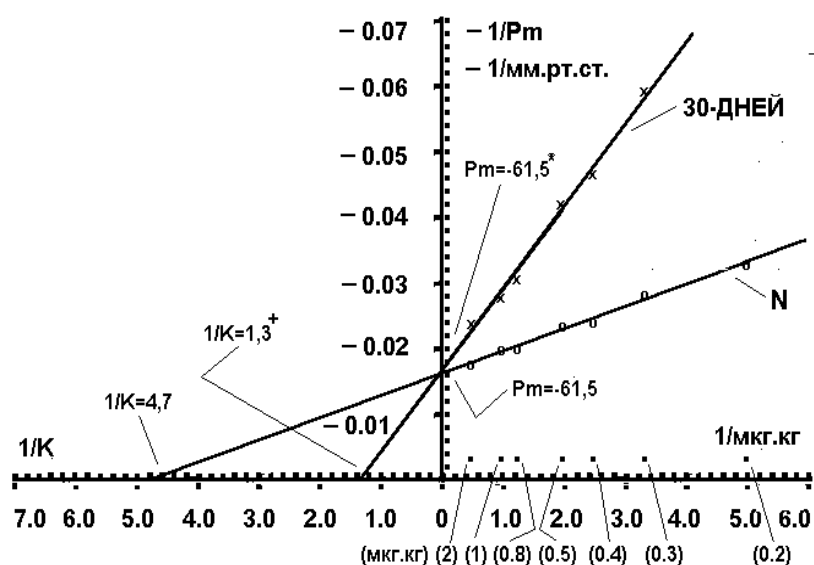


Рис. 2. Снижение артериального давления у кролика при введении ацетилхолина в двойных обратных координатах в контрольной группе (N) и после 30 дней холодовой адаптации: по оси абсцисс: от пересечения с осью ординат направо – доза препарата в обратной величине ( $1/\text{мкг.кг}$ ); ниже в круглых скобках – доза в прямых величинах ( $\text{мкг.кг}$ ); от пересечения с осью ординат налево – величина чувствительности взаимодействия ( $1/K$ ) рецепторов с миметиком; обратная ей величина отражает сродство ( $K$   $\text{мкг.кг}$ ) рецепторов к ацетилхолину; по оси ординат: обратная величина давления ( $1/P_m$ ); прямая величина ( $P_m$ ) мм рт. ст. – пропорциональна количеству активных рецепторов

Для характеристики чувствительности депрессорной реакции системного давления с ацетилхолином прямая, характеризующая группу животных после 30 дней адаптации к холоду (рис. 2), была экстраполирована до пересечения с осью абсцисс, что позволило получить параметр  $1/K=1,3\pm 0,08$ , который был меньше чем в контрольной группе на 72% ( $P<0.05$ ). Откуда доза ( $K$ ), вызывающая 50% от максимально возможного эффекта ( $P_m$ ) была  $K=0,769\pm 0,03$   $\text{мкг/кг}$ .

Таким образом, можно сделать вывод, что после 30 дней адаптации к холоду чувствительность ( $1/K$ ) депрессорной реакции системного давления к ацетилхолину уменьшилась в 3,61 раза (или на 72%), а максимально возможная депрессорная реакция ( $P_m$ ) нормализовалась, в результате эффективность ( $E$ ) реактивности системного давления была меньше контроля на 72%. Меньшая депрессорная реакция артериального давления на 30-й день холодовой адаптации к ацетилхолину отмечалась исключительно в результате снижения чувствительности ( $1/K$ ) депрессорной реакции системного давления на все дозы ацетилхолина.

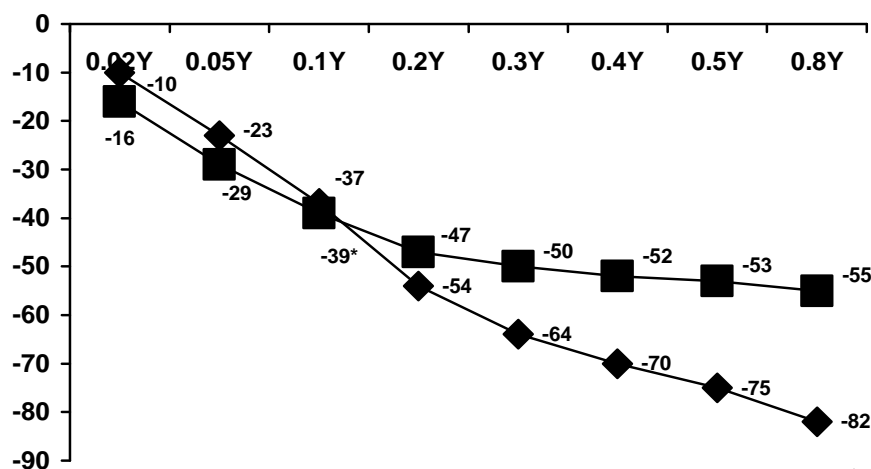


Рис. 3. Средние величины снижения перфузионного давления артериального русла задней конечности кролика на ацетилхолин в контрольной группе (ромб) и после 30 дней холодовой адаптации (квадрат): по оси абсцисс – дозы препарата в мкг/кг, по оси ординат – разница артериального давления, мм рт. ст.

На рис. 3 приведены данные изучения 30-дневной холодовой адаптации на функциональную активность М-холинорецепторов артериальных сосудов кожно-мышечной области задней конечности кролика. Представлена группа животных после 30 дней холодовой адаптации. Введение восьми возрастающих доз ацетилхолина вызывало, как и в контрольной группе, снижение перфузионного давления. После 30 дней холодовой адаптации депрессорная реакция на дозы ацетилхолина от 0,02 – 0,05 мкг/кг была достоверно больше контроля ( $P < 0,05$ ) (рис. 3). При дозах ацетилхолина 0,2 – 0,8 мкг/кг депрессорная реакция была уже больше в контрольной группе, чем после 30 дней холодовой адаптации ( $P < 0,001$ ).

После 30 дней холодовой адаптации депрессорная реакция на возрастающие дозы ацетилхолина от 0,02 до 0,05 мкг/кг была больше соответствующих реакций контрольной группы на 59 – 25%. При дозах ацетилхолина 0,2 – 0,8 мкг/кг депрессорная реакция после 30 дней адаптации к холоду была уже меньше контроля (соответственно введенным дозам) на 14 – 33%. Механизмы изменения холинореактивности артериальных сосудов кролика после 30 дней холодовой адаптации к ацетилхолину и количественной оценки взаимодействия медиатор-рецептор отражены на рис. 4. Показано изменение перфузионного давления в двойных обратных координатах. Прямая, соответствующая реакции животных после 30 дней холодовой адаптации, пересекает ось ординат при  $1/P_M = -0,017$ , что соответствует  $P_M = -58,8$  мм рт. ст., и отражает количество активных М-холинорецепторов.

Таким образом, количество активных М-холинорецепторов после 30 дней холодовой адаптации уменьшилось с  $P_m = -100$  мм рт. ст. в контроле до  $P_m = -58,8$  мм рт. ст. после 30 дней холодовой адаптации, то есть количество активных М-холинорецепторов уменьшилось на 41% по сравнению с контрольной группой ( $P < 0,05$ ). Для характеристики чувствительности взаимодействия ацетилхолина с М-холинорецепторами артерий прямая, характеризующая группу животных после 30 дней холодовой адаптации, была экстраполирована до пересечения с осью абсцисс. Это позволило получить параметр  $1/K = 20 \pm 1,2$ , который характеризует чувствительность взаимодействия ацетилхолина с М-холинорецепторами и который был на 233% больше чем в контрольной группе, где  $1/K = 6$  ( $P < 0,05$ ).

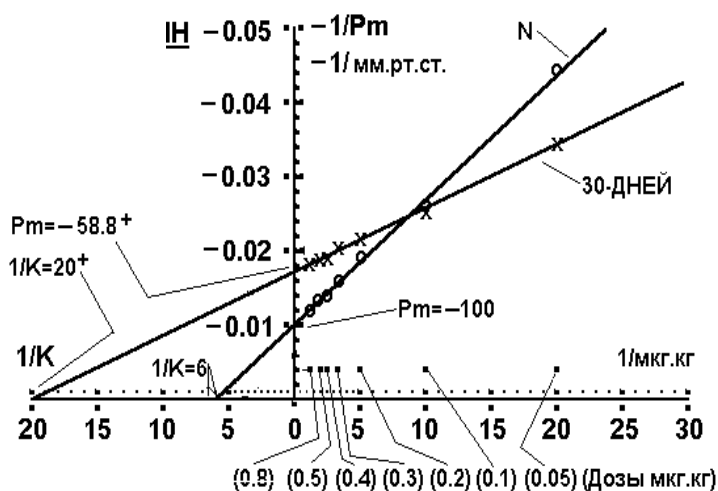


Рис. 4. Снижение перфузионного давления артериального русла задней конечности кролика на ацетилхолин в двойных обратных координатах в контрольной группе (N) и после 30 дней холодовой адаптации: условные обозначения такие же, как на рис. 2

**Заключение.** Проведенные исследования показали, что после 30-ти дней холодовой адаптации возрастает депрессорное действие ацетилхолина (при дозах 0,02 – 0,05 мкг.кг) на артериальные сосуды исключительно за счет увеличения чувствительности М-3-холинорецепторов на 233%. Уменьшение депрессорного действия ацетилхолина при дозах 0,2 – 0,8 мкг.кг на артерии объясняется снижением количества активных М-3-холинорецепторов на 30-й день холодовой адаптации на 41% по отношению к контрольной группе. В результате  $[E = (P_m/2) \times K]$  эффективность взаимодействия ацетилхолина с М-3-холинорецепторами сосудов возросла на 96% с  $E = -300$  (мм рт. ст./1мкг.кг) в контрольной группе до  $E = -588 \pm 14$  после 30-и дней холодовой адаптации ( $P < 0,05$ ).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян Н.А., Жвавый Н.Ф., Ананьев В.Н. Адаптация человека к условиям Крайнего Севера. М., 1998.
2. Агаджанян Н.А., Петрова П.Г. Человек в условиях Севера. М., 1996.
3. Ананьев В.Н., Койносов П.Г., Сосин Д.Г. Адаптация организма к воздействию низких температур. М., 1998.
4. Бартон А., Эдхолм О. Человек в условиях холода. М., 1957.
5. Варфоломеев С.Д., Гуревич К.Г. Биокинетика. М., 1999.
6. Галенко-Ярошевский П.А. Фармакологическая регуляция тонуса сосудов. М., 1999.
7. Данишевский Г.М. Акклиматизация человека на Севере. М., 1955.
8. Данишевский Г.М. Труд и здоровье на Крайнем Севере. М., 1970.
9. Деряпа Н.Р., Рябинин И.Ф. Адаптация человека в полярных районах земли. Л., 1977.
10. Казначеев В.П. Современные аспекты адаптации. Новосибирск, 1980.
11. Корниш-Боуден Э. Основы ферментативной кинетики. М., 1979.
12. Кривошеко С.Г., Охотников С.В. Производственные миграции и здоровье человека на Севере. Новосибирск, 2000.
13. Манухин Б.Н., Нестерова Л.А. Кинетика реакции воротной вены печени крысы на катехоламины и ацетилхолин // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова. 1994. Т. 80, №2. С. 68 – 75.
14. Машковский М.Д. Лекарственные средства. Т 1. М., 1994.
15. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: Концепция долговременной адаптации. М., 1993.
16. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л., Петров В.И. Рецепторы физиологически активных веществ. Волгоград, 1999.

#### REACTANCE OF BLOOD CIRCULATION TO ACETYLCHOLINE AT ADAPTATION TO THE COLD

V.N. Anan'ev

Institute for Biomedical Problems

*Reactance of system pressure and peripheral arteries to acetylcholin changes opposite at the expense of change of sensitivity of receptors and their quantity. The reduced reaction of system pressure to all doses acetylcholin for 30th day cold adaptations was below the control exclusively at the expense of decrease in sensitivity M-2-cholinoreceptors of heart in 3,6 times, and quantity M-2-cholinoreceptors has not changed. The carried out researches have shown, that after 30 days cold adaptations weakening action acetylcholin on arterial vessels exclusively at the expense of increase in sensitivity M-3-cholinoreceptor at 233% increases., and the quantity active M-3-cholinoreceptor for 30th day cold adaptations has decreased for 41%.*

*Key words: a cold, adaptation, cholinoreceptors, heart, arteries, acetylcholin, blood circulation.*