

# Сравнительное изучение влияния неселективной и высокоизбирательной блокады холинореактивных структур на течение тяжелой постгеморрагической гипотензии у крыс с различной индивидуальной устойчивостью к циркуляторной гипоксии

КОВАЛЕНКО Н.Я., МАЦИЕВСКИЙ Д.Д., РЕШЕТНЯК В.К.

ФБГУ НИИ общей патологии и патофизиологии РАМН, 125315, Москва, ул. Балтийская, д. 8; тел. 601-22-98

*В опытах на крысах с острой массивной кровопотерей с использованием высокочастотной ультразвуковой измерительной техники, а также неселективных холинолитиков (амизил, метацин, циклодол) и высокоизбирательных М-холиноблокаторов (пирензипин, 4DAMP, тропикамид) показано, что при развитии тяжелой постгеморрагической гипотензии у животных как с высокой, так и с низкой индивидуальной резистентностью к циркуляторной гипоксии различные подтипы М-холинорецепторов выполняют разнонаправленные функции. М1-холинорецепторы являются шок-лимитирующими, а М4-холинорецепторы шок-активирующими холинореактивными структурами. М3-холинорецепторы и центральные Н-холинорецепторы на динамику постгеморрагических нарушений системного и портального кровообращения, а также продолжительность жизни крыс после остановки кровотечения не влияют. Низкая устойчивость сердечно-сосудистой системы к циркуляторной гипоксии при формировании шокового процесса рассматривается, как дизрегуляторная патология.*

**Ключевые слова:** ультразвук, системное и портальное кровообращение, неселективные и высокоизбирательные холиноблокаторы, М1, М3, М4 и Н-холинорецепторы, индивидуальная устойчивость к острой кровопотере

## Введение

В настоящее время проблема индивидуальных особенностей реагирования организма на гипоксию различного генеза достаточно хорошо изучена на системном и клеточном уровне. Однако неясным остается вопрос о механизмах, лежащих в основе формирования индивидуальной резистентности организма на разных уровнях его интеграции к недостатку кислорода [1]. Ранее мы показали, что предварительное блокирование у крыс ГАМК-А рецепторов пикротоксином значительно повышает индивидуальную устойчивость сердечно-сосудистой системы к тяжелой постгеморрагической гипоксии [2]. ГАМКергические влияния на систему кровообращения опосредуются через холинореактивные структуры бульбарного кардиоваскулярного центра [8]. Нам представлялось интересным изучить в сравнительном аспекте вопрос о том, как превентивная блокада центральных, а также периферических холинорецепторов, проводимая с помощью неселективных и высокоизбирательных холинолитиков повлияет на индивидуальную устойчивость системы кровообращения к тяжелой постгеморрагической гипотензии.

## Материалы и методы исследования

Опыты выполнены на 76 крысах-самцах Вистар весом 250—280 г под уретановым наркозом (1,25 г/кг в/б). Интактным животным за 10 мин до начала кровопотери вводили в/в неселективный блокатор центральных М-холинорецепторов (М-ХР) амизил в дозе 1 мг/кг, блокатор периферических М-ХР метацин (0,1 мг/кг), либо блокатор центральных Н-холинорецепторов (Н-ХР) циклодол (1 мг/кг). Для блокирования М1 подтипа М-ХР крысам вводили вы-

сокоселективный блокатор М1-ХР головного мозга пирензипин (Sigma) в дозе, проникающей гематоэнцефалический барьер — 50 мг/кг [3]. Для превентивного выключения М3-ХР и М4-ХР животным также за 10 мин до кровопотери вводили в/в высокоселективные блокаторы М3-ХР 4-DAMP (Tocris) — 0,2 мг/кг и М4-ХР тропикамид (Sigma) — 0,0001 мг/кг соответственно. В ходе эксперимента у всех животных регистрировали микроманометром системное артериальное давление (АД) в бедренной артерии. Линейную и объемную скорость кровотока в воротной вене печени определяли в условиях лапоротомии ультразвуковым (УЗ) датчиком бандажного типа внутренним диаметром 1,5 мм. Скорость кровотока в восходящей части дуги аорты определяли без вскрытия грудной клетки с помощью вводимого через сонную артерию УЗ катетера диаметром 0,6 мм. В качестве чувствительного элемента датчика применяли миниатюрные пьезокристаллы, работающие на частоте 26,8 МГц и 33 МГц [5, 6]. С помощью электронного устройства определяли динамику ударного (УО) и минутного (МО) объемов сердца.

Острую кровопотерю вызывали однократным выпуском крови из бедренной артерии в количестве 2,5% от массы тела животного в течение 10 мин. Время наблюдения за состоянием животного определялось продолжительностью его жизни. Для статистической обработки полученных данных использовали метод Фишера—Стьюдента. Достоверность различия оценивали с помощью t критерия Стьюдента при  $p < 0,05$ . Показателями индивидуальной устойчивости крыс к острой кровопотере служили продолжительность жизни животного после остановки кровотечения, а также динамика АД и органного портального кровотока.

### Результаты и их обсуждение

По продолжительности жизни после окончания кровопотери, характеру постгеморрагической динамики АД и скорости органного портального кровотока все животные, перенесшие контрольную кровопотерю, были разделены на две подгруппы — высокоустойчивых [ВУ] — (60,9% случаев) и низкоустойчивых [НУ] — (39,1% случаев) к постгеморрагической гипоксии особей. Продолжительность жизни ВУ животных составила  $189,0 \pm 27,5$  мин. После остановки кровотечения, снижаемые во время самой кровопотери АД и объемная скорость органного портального кровотока у всех ВУ крыс временно восстанавливались до 70—80% от исходного уровня (рис. 1). В дальнейшем у резистентных к острой кровопотере индивидуумов наблюдалось типовое течение постгеморрагического периода с развитием фазы относительной стабилизации изученных гемодинамических показателей и затем их вторичного необратимого снижения (терминальная фаза процесса). У НУ крыс постгеморрагический период протекал, в отличие от ВУ животных, по типу первичной декомпенсации АД, а также портального кровообращения, и сразу начинался с развития терминальной фазы (рис. 1). Продолжительность жизни НУ животных не превышала 1,5 ч. В отличие от постгеморрагических изменений АД и органного портального кровотока характер постгеморрагической динамики СВ у ВУ и значительной части НУ особей был однотипен. У всех ВУ крыс и 62,4% НУ особей после остановки кровотечения отмечался рост

скорости аортального кровотока, УО и МО сердца, продолжающийся и в терминальную фазу постгеморрагического периода. У 37,6% НУ крыс на фоне первично необратимого снижения АД и скорости портального кровотока развивался синдром малого СВ, который проявлялся в прогрессивном снижении у таких животных скорости аортального кровотока, УО и МО сердца, что приводило к злокачественному, скоротечному течению постгеморрагического периода с гибелью животных во время самой кровопотери, либо в течение первых 30 мин после ее остановки.

Предварительное введение интактным крысам неселективных холиноблокаторов не оказывало заметного действия на показатели сердечно-сосудистой системы. Использованные нами неселективные холиноантагонисты влияли на течение постгеморрагического периода следующим образом.

Превентивное введение животным неселективного блокатора центральных М-ХР амизила увеличивало, по сравнению с контрольной кровопотерей, количество ВУ особей с типовым, фазовым течением постгеморрагического периода до 90,9%. При этом у животных с острой кровопотерей после предварительного введения им амизила продолжительность жизни увеличивалась до  $271,9 \pm 348$  мин и значительно пролонгировалась длительность фазы компенсации по таким параметрам, как величина системного АД и скорость органного портального кровотока. Лишь у двух крыс из 22 животных в этой

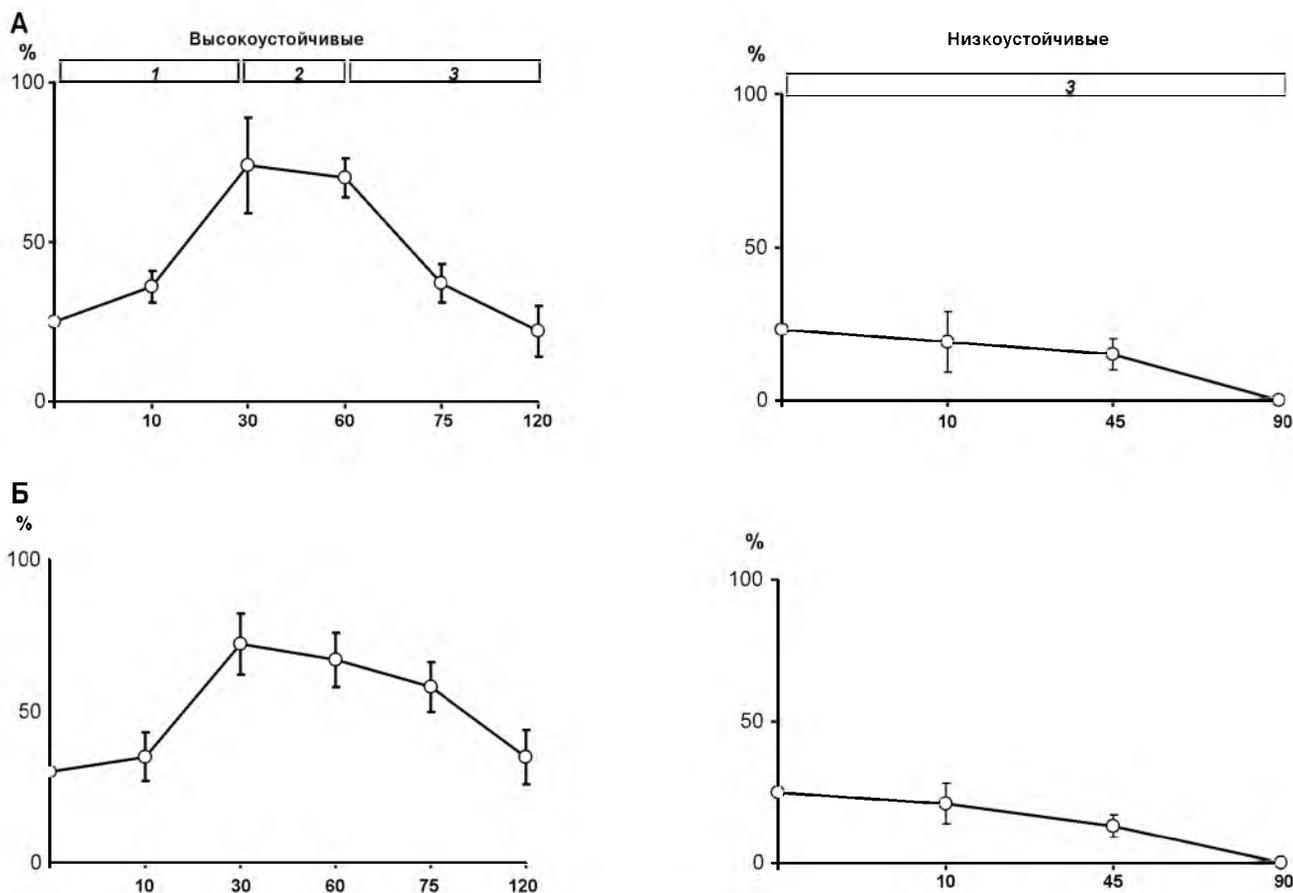


Рис. 1. Постгеморрагическая динамика системного артериального давления (А) и объемной скорости органного портального кровотока (Б) у высоко- и низкоустойчивых к острой массивной кровопотере крыс:

1 — фаза восстановления; 2 — фаза компенсации; 3 — терминальная фаза;

По оси абсцисс — время после окончания кровопотери; по оси ординат — изменения показателей от исходной величины до кровопотери.

группе исследований постгеморрагический период протекал по типу первичной декомпенсации АД и портального кровообращения. Однако показатели СВ и у этих животных оставались на субнормальном уровне до конца жизни.

Предварительное выключение у животных периферических МХ-Р с помощью метацина, не проникающего, как известно, гематоэнцефалический барьер, а также превентивная блокада центральных Н-ХР с помощью циклодола не изменяли, по сравнению с контрольной кровопотерей, процентное соотношение ВУ крыс с фазовыми изменениями АД и портального кровотока и НУ животных с первично необратимым постгеморрагическим снижением этих параметров. Обращает на себя внимание тот факт, что ни у одной из НУ особей, с заблокированными метацином периферическими М-ХР, после остановки кровотечения не развился синдром малого СВ.

Таким образом, предварительное неселективное выключение у интактных животных центральных М-ХР с помощью амизила значительно увеличивает количество ВУ особей с типовыми, фазовыми изменениями системного АД и органного портального кровотока. В то же время блокада центральных Н-ХР и периферических М-ХР практически не изменяет процентное соотношение крыс с высокой и низкой резистентностью к постгеморрагической гипоксии. Это дает основания полагать, что в механизмах формирования индивидуальной чувствительности сердечно-сосудистой системы к острой кровопотере по таким параметрам, как АД и портальный кровоток, принимают участие центральные М-холинореактивные структуры, что согласуется с полученными нами ранее данными о том, что патогенез постгеморрагического невосстановления АД, портального кровотока и необратимой генерализованной констрикции микрососудов у НУ крыс может быть связан с гиперактивацией центральных М-ХР [1].

В связи с тем, что амизил не является селективным М-холинолитиком и выключает центральные холинореактивные структуры суммарно на основании данных, полученных нами с его использованием, нельзя сказать, какой из известных на сегодня 5 подтипов М-ХР [7, 8, 11, 12] ответственен за формирование низкой устойчивости системы кровообращения к недостатку кислорода. Поэтому нами были проведены специальные исследования с использованием высокоселективных блокаторов М1, М3 и М4-ХР, которые показали следующее. Введение интактным крысам в системную циркуляцию высокоселективного блокатора М1-ХР пирензипина вызывало, в отличие от амизила, следующие транзиторные изменения со стороны системы кровообращения. Через 15 с после внутривенной инъекции данного мускаринового антагониста у животных наблюдалось снижение АД до 35–40 мм рт.ст. (рис. 2). К концу первой мин после введения пирензипина начинался процесс его восстановления, который проходил постепенно в течение 2–3 мин после введения холинолитика. На показатели СВ и объемную скорость органного портального кровотока пирензипин у интактных животных не влиял.

У крыс, которым превентивно вводился пирензипин, непосредственно сама кровопотеря и постгеморрагический период протекали следующим образом. У животных с заблокированными М1-ХР головного мозга к концу кро-

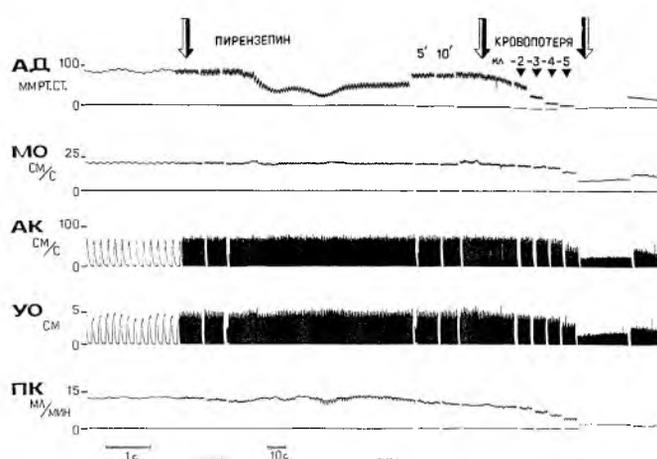


Рис. 2. Влияние пирензипина (50 мг/кг внутривенно) на показатели системного и органного портального кровотока у крыс в норме и при острой кровопотере (оригинальные кривые).

Вверху слева направо: первая стрелка начало введения препарата и далее время после его окончания (мин), вторая и третья стрелки начало и конец кровопотери (мл).

Здесь и на рис. 3 (сверху вниз):

АД — системное артериальное давление; МО — минутный объем крови; АК — линейная скорость кровотока в восходящей дуге аорты; УО — ударный объем крови; ПК — объемная скорость кровотока в воротной вене печени

вотптери изменения системного и портального кровообращения достоверно не отличались от изменений аналогичных гемодинамических параметров в контрольной группе животных. Так, у крыс, которым вводился высокоизбирательный мускариновый антагонист, к моменту остановки кровотечения АД снижалось до  $19,9 \pm 7,8$  мм рт.ст., скорость аортального кровотока, УО и МО снижались до  $24,8 \pm 7,9$  мм рт.ст., скорость аортального кровотока, УО и МО уменьшались не более чем на 20–25%, объемная скорость кровотока в воротной вене печени составляла  $26,9 \pm 8,7\%$  от исходного уровня. После остановки кровотечения у всех животных данной серии очень быстро развивалось необратимое снижение АД до

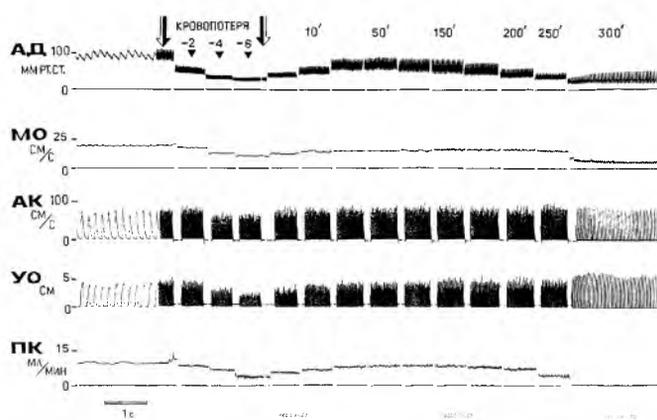


Рис. 3. Реакция показателей системного и портального кровообращения на острую кровопотерю у крысы с предварительно заблокированными тропикамидом (0,0001 мг/кг внутривенно) М4-холинорецепторами (оригинальные кривые).

Вверху слева направо: стрелки — начало и конец кровопотери (мл)

нулевых значений, Скорость кровотока в восходящей аорте, МО и УО уменьшались до 50—60%. Скорость органного портального кровотока составляла не более 20% от исходного уровня (рис. 2). Смерть животных наступала в первые мин после остановки кровотока.

Предварительное выключение у животных МЗ-ХР с помощью 4-DAMP заметного влияния на изученные исходные гемодинамические показатели в норме и динамике их постгеморрагических изменений не оказывало и не изменяло, по сравнению с контрольной кровопотерей, процентное соотношение ВУ крыс с фазовыми постгеморрагическими изменениями АД и портального кровотока у НУ животных с первично необратимым постгеморрагическим снижением этих параметров.

Введение intactным животным высокоселективного блокатора М4-ХР тропикамида вызывало транзиторное снижение АД на 20-25%. На показатели СВ и величину органного портального кровотока тропикамид заметного действия не оказывал. На течение острой массивной кровопотери выключение М4-ХР действовало так же, как превентивное введение крысам неселективного холинолитика амизила. Так, у животных этой группы увеличивалось, по сравнению с контрольной кровопотерей, количество ВУ животных с типовым, фазовым течением постгеморрагического периода до 87,5%. При этом у животных с острой кровопотерей после предварительного введения им селективного холинолитика продолжительность жизни увеличивалась до 275,4±34,6 мин и значительно пролонгировалась длительность фазы компенсации по таким параметрам, как АД и скорость органного портального кровотока (рис. 3). Лишь у двух крыс из 16 животных в этой группе исследований постгеморрагический период протекал по типу первичной декомпенсации АД и портального кровообращения. Показатели СВ у этих НУ особей оставались на субнормальном уровне до конца жизни животного.

Таким образом, согласно нашим наблюдениям, выключение у крыс центральных М-ХР с помощью неселективного М-холиноблокатора амизила, блокирующего центральные М-холинореактивные структуры суммарно, улучшает течение постгеморрагического периода по таким показателям, как величина системного АД, органного портального кровотока и продолжительность жизни у большинства животных, независимо от их индивидуальной чувствительности к острой массивной кровопотере. В то же время, результаты наших исследований с использованием высокоселективных М-холиноантагонистов свидетельствуют о том, что различные подтипы М-ХР являются гетерогенными структурами, выполняющими при развитии тяжелой постгеморрагической гипотензии у крыс как с высокой, так и с низкой индивидуальной резистентностью к циркуляторной гипоксии, разнонаправленные функции. Так, предварительное селективное блокирование М1-ХР головного мозга пирензипином приводит к повышению чувствительности организма к циркуляторной гипоксии. У всех животных с выключенными М1-холинореактивными структурами, острая кровопотеря протекала по типу первичной декомпенсации системного АД, портального кровообращения, а также с постгеморрагическим необратимым снижением насосной функции сердца. Выключение М4-ХР, напротив, улучшало постгеморрагическое состояние сердечно-сосудистой системы у животных как с высокой, так и с низкой индивидуальной ре-

зистентностью к острой кровопотере. Таким образом, М1-ХР, располагающиеся в центральных структурах мозга [8], являются шок-лимитирующими холинореактивными структурами. М4-ХР, локализующиеся в области продолговатого мозга и непосредственно в сосудистой стенке [7, 9, 10] выполняют антагонистическую, шок-активирующую функцию. В то же время М3-ХР, принадлежащие, как известно, к периферическим холинореактивным структурам, которые находятся в эндотелиальных клетках сосудов практически всех органов и ответственны за нейрональную эндотелийзависимую апетилхолиновую вазодилатацию [8], на динамику постгеморрагических нарушений системного и портального кровообращения не влияют. Всё вышесказанное согласуется с выдвинутым нами ранее положением о том, что при формировании шокового процесса низкая устойчивость сердечно-сосудистой системы к циркуляторной гипоксии может рассматриваться как дизрегуляторная патология, которая возникает не вследствие первичного поражения органа, а как результат нарушений в аппарате его центральной регуляции или ауторегуляции [1, 4].

В заключение следует подчеркнуть тот факт, что использование холинотропных препаратов с оптимальным профилем рецепторной активности может быть весьма перспективным не только для более углубленного изучения патогенеза шокового процесса, но и для разработки патогенетических схем его лечения.

#### Список литературы

1. Коваленко Н.Я., Магиевский Д.Д. Индивидуальная устойчивость к острой кровопотере — реальность и проблемы // Патогенез. — 2004. — №2. — С. 53—66.
2. Коваленко Н.Я., Магиевский Д.Д. Изменения индивидуальной устойчивости систем кровообращения и дыхания крыс к постгеморрагической гипоксии после фармакологических воздействий на функциональное состояние головного мозга // Патол. физиол. — 2003. — №3. — С. 12—14.
3. Космачев А.Б., Беляев В.А., Храброва А.В. и др. Антипаркинсоническая активность мускариновых антагонистов в зависимости от их избирательности к отдельным подтипам М-холинорецепторов // Экспер. и клин. фармакол. — 1998. — Т. 61, №5. — С. 3—5.
4. Крыжановский Г.Н. Дизрегуляторная патология. — М., 2002.
5. Магиевский Д.Д. Измерения кровотока в исследованиях макро- и микроциркуляции // Бюлл. exper. биол. — 2004. — Т. 138, №10. — С. 612—616.
6. Магиевский Д.Д. Ультразвук в экспериментальных исследованиях макро- и микроциркуляции // Бюлл. exper. биол. — 2003. — Т. 136, №7. — С. 115—118.
7. Подосиновикова Н.П., Горобец Л.Ф., Долго-Сабуров В.Б. Типовая принадлежность пресинаптических М-холинорецепторов различных отделов мозга крысы // Бюлл. exper. биол. — 1996. — Т. 122, №7. — С. 75—77.
8. Broadly K.J., Kelly D.B. Muscarinic receptors agonist and antagonist // Molecular. — 2001. — №6. — P. 142—193.
9. Eglen R.M., Whiting R.L. Heterogeneity of vascular muscarinic receptors // J. Auton. Pharmacol. — 1990. — Vol. 10, №4. — P. 233—245.
10. Lereis V.A., Hita F.J., Gobbi M.D. et al. Pharmacological characterization of muscarinic receptor subtypes mediating vasoconstriction of human umbilical vein // Br. J. Pharmacol. — 2006. — Vol. 147, №5. — P. 516—523.
11. Shi H., Wang H., Wang Z. Identification and characterization of subtypes of muscarinic acetylcholine receptors // Mol. Pharmacol. — 1999. — Vol. 55, №3. — P. 497—507.
12. Walch L., Brink C., Norel X. The muscarinic receptor subtypes in human blood vessels // Therapie. — 2001. — №56. — P. 223—226.

---

***Comperative study of the influence nonselective  
and high selective blokage of cholinoreactive structures  
on the development of the severe posthemorrhage hypotention  
in rats with different individual resistance to circulatory hypoxia***

**KOVALENKO N.Ya., MATSIEVSKY D.D., RESHETNYAK V.K.**

Institute of General Pathology and pathophysiology, RAMS,  
Baltiyskaya str., 8, Moscow, 125315, tel. 601-22-98

*In experiments on rats using high frequency ultrasonic measurement technigie and nonselective cholinolitic block agents (amizile, metacyne, cyclodole) and high selective M-cholinoreceptor antagonists (pirensipine, 4-DAMP, tropicamide) it was shown, that in the development of severe posthemorrhage hypotention in animals with high and low individual resistance to circulatory hypotention different subtypes of M-cholinoreceptors fulfil heterogeneous functions. M-1 cholinoreceptors are shock-limitating and M-4 cholinoreceptors shock-activating cholinoreactive structures. M-3 cholinoreceptors and H-cholinoreceptors do not influence on the dynamics of posthemorrhage disorders of system and portal circulation, and lifespan after the stop of bleeding. Low resistance of cardiovascular system to circulatory hypoxia in the formation of shock process is scrutinized as disregulatory desease.*

**Key words:** *ultrasound, system and portal circulation, nonselective and high selective cholinoantagonists, M1, M3, M4 and H-cholinoreceptors, individual resistance to acute hemorrhage*