

Grażyna SZURSKA

Wpływ klonidyny na układ kininowy osocza szczurów

Влияние клонидина на кининовую систему в плазме крыс

The Influence of Clonidine on the Kinin System in Rats Plasma

Klonidyna jest lekiem, którego mechanizm działania hipotensyjnego nie jest w pełni wyjaśniony. Wykazano, że klonidyna działa hipotensyjnie we wszystkich postaciach nadciśnienia u ludzi (3, 9, 10, 11, 12, 17, 18, 20, 21), a także w różnych doświadczalnych modelach nadciśnienia u zwierząt (4, 5, 15, 22, 23). Liczne prace sugerują, że mechanizm hipotensyjnego działania klonidyny związany jest z aktywacją presynaptycznego receptora α -noradrenergicznego w ośrodkowym układzie nerwowym (1, 7, 8), choć nie brak także doniesień przeczących temu (18). Wichmann i wsp. (18) uważają, że klonidyna działa bezpośrednio na mięśnie gładkie naczyń. Wykazano ponadto (6), że klonidyna powoduje obniżenie wrażliwości mięśni gładkich małych naczyń na działanie noradrenaliny, angiotensyny II i lizyl-wazopresyny, co zdaniem tych autorów odgrywa istotną rolę w mechanizmie jej hipotensyjnego działania. Wiele prac poświęcono badaniom wpływu klonidyny na układ renina-angiotensyna-aldosteron zarówno w aspekcie klinicznym (3, 11, 17, 20), jak i doświadczalnym na zwierzętach (5, 13). Hamowanie sekrecji reniny ma być główną przyczyną efektywności hipotensyjnej klonidyny w różnych postaciach nadciśnienia u ludzi, jak też w różnych postaciach nadciśnienia doświadczalnego u zwierząt.

Opisane wyżej efekty klonidyny na sekrecję reniny skłoniły mnie do podjęcia badań nad wpływem tego leku na zachowanie się układu kininowego osocza, będącego fizjologicznym antagonistą układu renina-angiotensyna.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenia przeprowadzono na białych szczurach szczepu Wistar o ciężarze ciała 160–200 g. Klonidynę podawano i.p. w dawkach: 0,125, 0,25 i 0,5 mg/kg. Grupa kontrolna otrzymywała iniekcje takich samych objętości płynu fizjologicznego. W 1,5 godz. po podaniu leku w lekkiej narkozie eterowej pobierano z żyły brzusznej krew do oznaczeń kininogenu całkowitego i prekallikreiny. Po odwirowaniu krwi w temp. +4°C przy obrotach 2200/min. i odpipetowaniu osocza sporządzono prepa-

raty kininogenu i prekallikreiny wg metody Briseida i wsp. (2). Oznaczenia wymienionych parametrów układu kininowego wykonywane w oparciu o tę metodę pozwalają na podstawie wzrostu czy zmniejszenia zawartości kininogenu i prekallikreiny oceniać kininogenezę *in vivo*. Oznaczenia zawartości kinin przeprowadzono na wyosobnionej macicy szczura. Jako standardu używano bradykininy firmy Sandoz. Posługiwano się klamrowym sposobem testowania, w którym wzajemny stosunek bradykininy wynosił 3:2.

Tab. 1. Wpływ klonidyny na poziom kininogenu całkowitego w osoczu szczurów
The influence of clonidine on the kininogen level in rats plasma

Stosowano i.p.	Kininogen całkowity w $\mu\text{g/ml}$ osocza
0,87% NaCl	$2,19 \pm 0,08$ (15)
Klonidyna 0,125 mg/kg	$1,97 \pm 0,05$ (15) $p < 0,05$
Klonidyna 0,25 mg/kg	$1,86 \pm 0,03$ (15) $p < 0,005$
Klonidyna 0,50 mg/kg	$1,79 \pm 0,03$ (15) $p < 0,005$

Objaśnienia do tab. 1—2; p obliczane w stosunku do grupy kontrolnej; w nawiasach podano ilość oznaczeń.

Explanations to Tabs. 1—2; p calculated in relation to the control group; number of denotations given in brackets.

W celu przebadania zdolności aktywacji prekallikreiny przez klonidynę wykonano doświadczenia *in vitro*. Do 0,9 ml preparatu prekallikreiny dodawano klonidynę w stężeniach: 0,01 ng/ml, 0,1 ng/ml, 0,5 ng/ml, 5 ng/ml, 10 ng/ml, 100 ng/ml oraz 1 $\mu\text{g/ml}$; stężenia te zawarte były zawsze w stałej objętości 0,1 ml. Po 15 min. inkubacji leku z preparatami prekallikreiny w temp. 37°C 0,5 ml inkubatu dodawano do 0,5 ml preparatu kininogenu. Mieszaninę inkubowano przez dalsze 15 min. także w temp. 37°C. Po upływie tego czasu 0,5 ml inkubatu przenoszono do 2,5 ml wrzącego płynu fizjologicznego i gotowano przez 5 min. Następnie próbki oziębiano i uzupełniano płynem fizjologicznym do 5 ml. Zawartość kinin określano na wyosobnionej macicy szczura.

Uzyskane wyniki poddano analizie statystycznej posługując się testem t-Studenta.

WYNIKI

Wpływ klonidyny (0,125 mg/kg, 0,25 mg/kg, 0,5 mg/kg i.p.) na poziom kininogenu całkowitego oraz prekallikreiny w osoczu szczurów 1,5 godz. po podaniu ilustrują tab. 1 i 2. Zastosowana w tych dawkach klonidyna wywołuje statystycznie istotne, proporcjonalne do zastosowa-

nej dawki obniżenie poziomu kininogenu całkowitego w osoczu szczurów. Natomiast poziom prekallikreiny praktycznie nie ulega zmianom po zastosowaniu tych dawek klonidyny. Wpływ klonidyny na zdolność aktywacji prekallikreiny w osoczu szczurów *in vitro* przedstawia tab. 3. Klonidyna zastosowana w stężeniach 0,1—0,5 mg/ml powoduje największą aktywację prekallikreiny do czynnej kallikreiny, o czym świadczy największa ilość uwolnionych kinin. Przy zastosowaniu wyższych stężeń (10—1000 ng/ml) siła aktywacji była mniejsza.

Tab. 2. Wpływ klonidyny na poziom prekallikreiny w osoczu szczurów
The influence of clonidine on the precallicreine level in rats plasma

Stosowano i.p.	Prekallikreina w μ l
0,87% NaCl	27,25 $\pm$ 3,06 (4)
Klonidyna 0,125 mg/kg	31,25 $\pm$ 4,82 (4) $p > 0,1$
Klonidyna 0,25 mg/kg	28,30 $\pm$ 3,0 (3) $p > 0,1$
Klonidyna 0,50 mg/kg	31,6 $\pm$ 3,33 (3) $p > 0,1$

OMÓWIENIE I DYSKUSJA

Uzyskane wyniki — obniżenie poziomu kininogenu całkowitego oraz prekallikreiny — wskazujące na zdolność klonidyny do aktywacji układu kininowego, a zatem do uwalniania wolnych kinin, mogą świadczyć o udziale tego układu w efekcie hipotensji wywołanym przez ten lek.

Na szczególną uwagę zasługuje zdolność aktywacji prekallikreiny w bardzo niskich stężeniach (rzędu 0,1 ng/ml). Jest to zgodne z obserwacjami, iż hipotensja uzyskiwana po podaniu klonidyny występuje po podaniu małych dawek leku (4, 8). Klonidyna podawana dożylnie w dużych dawkach powoduje w pierwszej fazie wzrost ciśnienia krwi, co tłumaczone jest jej bezpośrednim wpływem na postsynaptyczne receptory β -adrenergiczne w naczyniach (8). Zakres stężeń we krwi, w których występuje najsilniejszy efekt hipotensyjny zarówno u ludzi, jak i u zwierząt, mieści się w granicach 0,5—10 ng/ml.

Pozytywne efekty uzyskiwane w klinice przy łącznym stosowaniu klonidyny ze związkami blokującym receptory β -adrenergiczne w leczeniu różnych postaci nadciśnienia (9, 14, 19) można tłumaczyć także podobnym wpływem tych leków na układ kinin osocza we krwi. Wykazano, że

Tab. 3. Wpływ klonidyny na zdolność aktywacji prekallikreiny *in vitro*
 The influence of clonidine on the activation of precallicreine *in vitro*

Stężenie klonidyny (w $\mu\text{g/ml}$)	Uwolnione kininy (w μg)
—	$0,07 \pm 0,03$ (10)
0,01	$0,07 \pm 0,03$ NZ (4)
0,1	$0,32 \pm 0,03$ $p < 0,001$ (4)
0,5	$0,43 \pm 0,03$ $p < 0,001$ (5)
5,0	$0,29 \pm 0,024$ $p < 0,001$ (5)
10,0	$0,24 \pm 0,01$ $p < 0,005$ (4)
100,0	$0,19 \pm 0,014$ $p < 0,01$ (10)
1000,0	$0,15 \pm 0,028$ NZ (10)

W nawiasach podano ilość oznaczeń.

Number of denotations given in brackets.

różne leki z grupy β -blokerów posiadają zdolność aktywacji układu kininowego w osoczu (16). Opisywana sumacja efektu hipotensyjnego może być wynikiem wzmożonego uwalniania kinin w osoczu.

Na podstawie przeprowadzonych badań można sugerować, że w mechanizmie hipotensyjnego działania klonidyny — obok jej działania hamującego uwalnianie noradrenaliny na poziomie receptora presynaptycznego, hamującego sekrecję reniny, zmniejszającego wrażliwość mięśniówki naczyń na czynniki presyjne — mają udział uwalniane przez nią kininy bardzo silnie działające hipotensyjnie peptydy osocza krwi.

PIŚMIENNICTWO

1. Borkowski K. R., Finch L.: A comparison of the cardiovascular effects of centrally administered clonidine and adrenaline in the anaesthetized rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **31**, 16, 1979.

2. Briseid K., Dyrud O. K., Öie S.: Determination of factors of the kinin system in rat plasma. *Acta pharmac. tox.* **28**, 124, 1970.
3. Casado S., Liano F., Hernando L.: Efectos de la clonidina sobre el sistema renina-angiotensina-aldosterona en patients hipertensos. *Rev. clin. esp.* **146**, 229, 1977.
4. Christeresson S., Frisk-Holmberg M.: Steady state plasma concentration of clonidine and its relation to the effect on blood pressure in normotensive and hypertensive rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **31**, 418, 1979.
5. Dadkar N. K., Aroskar V. A., Dokadvalla A. N.: Differential anti-hypertensive effects of clonidine in different models of experimental hypertension in rats. *J. Pharm. Pharmacol.* **31**, 264, 1979.
6. Gaskell P., Melnyk G.: The effect of clonidine on vascular reactivity to angiotensin, noradrenaline and vasopressin in conscious rats. *J. Physiol. Pharmacol.* **56**, 23, 1978.
7. Katic F., Lavery H., Lowe R. D.: The central action of clonidine and its antagonism. *Br. J. Pharmac.* **44**, 779, 1972.
8. Kobinger W.: Central α -adrenergic systems as targets for hypotensive drugs. *Rev. Physiol. Biochem. Pharmacol.* **81**, 39, 1978.
9. Laragh J. H., Leterher R. L., Pichering T. G.: Renin profiling for diagnosis and treatment of hypertension. *JAMA*, **1**, 151, 1979.
10. Marion J., Legall F., Pottier G., Hanteville D., Jean P., Chagnon A.: Traitement de l'hypertension arterielle par le clonidine. *Rev. mediter. sci. med.* **1**, 447, 1976.
11. Niarchos A. F., Baer D., Radichewich I.: Role of renin and aldosterone suppression in the antihypertensive mechanism of clonidine. *Amer. J. Med.* **65**, 614, 1978.
12. Pettinger W. A.: Drug therapy. Clonidine, a new antihypertensive drug. *N. Engl. J. Med.* **213**, 1179, 1975.
13. Pettinger W. A., Kaeton T. K., Campbell W. B., Harper D. C.: Evidence for a renal α -adrenergic receptor inhibiting renin release. *Circulat. Res.*, **38**, 338, 1976.
14. Pettinger W. A., Mitchell H. C., Gullner H. G.: Clonidine and the vasodilating beta blocker antihypertensive drug interaction. *Clin. Pharmacol. Ther.* **22**, 164, 1977.
15. Roba J., Lambelin G., Schaepdryver A. F.: Antihypertensive activity of four β -blocking agents in spontaneously hypertensive rats. *Arch. int. Pharmacodyn.* **200**, 182, 1972.
16. Szurska G., Kleinrok Z.: The influence of β -blocking agents on the kinin system in rat plasma. *J. Pharm. Pharmacol.* **30**, 323, 1978.
17. Tanberger G., Flory P. J., Volkert W.: Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus von Clonidin. *Arzneimittel-Forsch.* **27**, 1570, 1977.
18. Wichmann J., Polak H. J., Koall W.: Erste Erfahrungen mit Haemiton retard. *Medicamentum* **41**, 11, 1976.
19. Wilkinson P. R., Rofferty E. B.: A comparative trial of clonidine, propranolol and placebo in the treatment of moderate hypertension. *Brit. J. Clin. Pharm.*, **4**, 289, 1977.
20. Wurstemberger B., de Gysling E.: Effects of long term administration of clonidine on plasma renin activity. *Can. Med. Assoc. J.*, **11**, 115, 1976.
21. Zaimis E.: Pharmacology of the antihypertensive drugs. *Minerva cardi-angiol.* **24**, 453, 1976.

22. Zandberg P., De Jong W.: Hypotensive action of clonidine after adrenalectomy in the rat. *J. Pharm. Pharmacol.*, 29, 697, 1977.
23. Yates M. S., Hiley C. R.: Haemodynamic effects of systemic administration of clonidine in the anaesthetized spontaneously hypertensive rats. *J. Pharm. Pharmacol.* 31, 483, 1979.

Wpł. 2 VII 1981 r.

РЕЗЮМЕ

В исследованиях проведенных на крысах Вистар доказано, что клонидин (0,125 мг/кг, 0,25 мг/кг, 0,50 мг/кг) угнетает уровень кининогена, тоже и прекалликреина. Это свидетельствует об активации кининовой системы в плазме крови.

SUMMARY

In studies performed on the Wistar rats it has been ascertained that clonidine decreased the level of kininogen and precallieine. These results may be the evidence that the clonidine-activated kinin system leads to the release of free kinins.