Дата публикации: 01.06.2023
DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_02_2
УДК 612.5

Publication date: 01.06.2023
DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_02_2
UDC 612.5

ФАРМАКОКИНЕТИКА И ФАРМАКОДИНАМИКА КЛОНИДИНА ПРИ ЕГО ДЕЙСТВИИ НА АЛЬФА-2-АДРЕНОРЕЦЕПТОРЫ АРТЕРИЙ КОНЕЧНОСТИ КРОЛИКА НА 10 ДЕНЬ ХОЛОДОВОЙ АДАПТАЦИИ

В.Н. Ананьев[1], Н.Я. Прокопьев[2], Г.В. Ананьев[3], Е.С. Гуртовой[4]
[1]Институт медико-биологических проблем РАН, г. Москва, Россия
[2]Тюменский государственный университет, г. Тюмень, Россия
[3]АО «ФАРМСТАНДАРТ» Московская область, г. Долгопрудный, Россия
[4]Тюменский государственный медицинский университет, г. Тюмень, Россия

Аннотация. В статье приведены результаты изменения альфа-2-адренорецепторов артерий конечности кролика на клонидин после 10-дневной холодовой адаптации. Такие сроки холодовой адаптации часто отмечаются при проведении отпуска на лыжных курортах, при лыжных походах, при вахтово-экспедиционном труде, при смене погоды, при переезде в более холодные регионы. Установлено, что после 10-дневной холодовой адаптации усиливается сосудосуживающее действие клонидина, как селективного а2-адреномиметика. Физиологический анализ этого результата в двойных обратных координатах Лайнувера-Берка показал, что после холодовой адаптации увеличилось на 43% количество активных (Pm) прессорных постсинаптических а2-адренорецепторов артерий конечности. Также увеличилась чувствительность на 67% а2-адренорецепторов артерий после 10 дней холодовой адаптации. Поэтому увеличение количества активных а2-адренорецепторов артерий и их чувствительности после холодовой адаптации приводит к увеличению прессорной реакции артериальных сосудов к а2-адреномиметикам.
Ключевые слова: адаптация к холоду, а2-адренорецепторы, артерии, клонидин, кролики.

PHARMACOKINETICS AND PHARMACODYNAMICS OF CLONIDINE IN ITS EFFECT ON ALPHA-2-ADRENORECEPTORS OF RABBIT LIMB ARTERIES ON DAY 10 OF COLD ADAPTATION

V.N. Anan'ev[1], N.Ya. Prokop'ev[2], G.V. Anan'ev[3], E.S. Gurtovoj[4]
[1]Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, Russia
[2]Tyumen State University, Tyumen, Russia
[3]"PHARMSTANDART" JSC, Moscow region, Dolgoprudnyj, Russia
[4]Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia

Annotation. The article presents the results of changes in alpha-2-adrenergic receptors of rabbit limb arteries to clonidine after 10 days of cold adaptation. Such periods of cold adaptation are often observed when spending holidays at ski resorts, during ski trips, during rotational expeditionary work, when the weather changes, when moving to colder regions. It has been established that after 10 days of cold adaptation, the vasoconstrictive effect of clonidine as a selective α2-adrenergic agonist is enhanced. Physiological analysis of this result in Linuver-Burke double inverse coordinates demonstrated that after cold adaptation, the number of active (Pm) pressor postsynaptic α2-adrenergic receptors of limb arteries increased by 43%. The sensitivity of a2-adrenergic receptors of arteries also increased by 67% after 10 days of cold adaptation. Therefore, an increase in the number of active a2-adrenergic receptors in the arteries and their sensitivity after cold adaptation leads to an increase in the pressor response of arterial vessels to a2-agonists.
Keywords: cold adaptation, a2-adrenergic receptors, arteries, clonidine, rabbits.

Введение. Адаптация организма к низким температурам окружающей среды является актуальной проблемой физиологии, особенно для России, где значительные территории находятся в зоне действия низких температур [1]. Действие холода на организм [2] приводит к адаптационным изменениям в деятельности сердечно-

сосудистой системы, так как величина кровотока поверхности тела определяет прогрев тканей и сроки возникновения отморожений. В то же время увеличение прогрева поверхности тела ведет к усилению теплоотдачи и быстрому охлаждению организма. Поэтому в процессе эволюции выработались физиологические механизмы наиболее оптимального изменения при регуляции кровотока в артериальном русле «оболочки тела», к которой относится кожно-мышечная область задней конечности [3]. При действии холода возрастает тонус симпатической нервной системы, возрастает в крови концентрация ее нейромедиаторов норадреналина и адреналина, которые оба усиливают сокращение артериальных сосудов и уменьшают кровоток. Нейромедиатор норадреналин в большей степени возбуждает a1-адренорецепторы, а адреналин возбуждает a2-адренорецепторы и a1-адренорецепторы [4]. В артериях кожно-мышечной области конечности имеются как a1-адренорецепторы, так и a2-адренорецепторы, которые сокращают артерии. Организм, видимо, изменяя концентрации норадреналина и адреналина, комбинации их сочетания, регулирует тонус артерий и кровоток в артериях оболочки (кожно-мышечная область) и ядра тела (внутренние органы). Изучение реактивности a1-адренорецепторов и a2-адренорецепторов артерий кожно-мышечной области при адаптации к низким температурам могло бы обогатить наши научные модели действия холода на организм. Это позволило бы дать научные рекомендации при адаптации к холоду и разработать профилактические меры повреждений при действии низких температур. Изучение изменения рецепторных механизмов адаптации к холоду очень важно для практической медицины, так как в лечении сердечно-сосудистых заболеваний широко используются лекарства, действующие на a1-адренорецепторы и a2-адренорецепторы [4]. Так как адреналин возбуждает a1-AP и a2-AP, для изучения a2-AP широко используется селективный миметик a2-AP клонидин, что позволяет однозначно анализировать результаты опытов как работу a2-AP [4].

Различные сроки холодовой адаптации в значительной степени изменяют реактивность сердечно-сосудистой системы к действию симпатической нервной системы и ее нейромедиаторов норадреналина и адреналина. Играет роль и холодовый режим адаптации организма, при каких температурах проходил процесс адаптации [3-4].

При изучении адаптации к холоду новосибирские ученые [2] ввели термин «незавершенная адаптация», когда процесс адаптации проходил в течение примерно 10 дней. При незавершенной холодовой адаптации у людей наблюдались изменения на кардиограмме, электроэнцефалограмме, отмечались боли в сердце, нарушался сон, возрастал нейротизм и т.д. К 30 дню адаптации к холоду новосибирские ученые [2] отметили нормализацию всех параметров организма, пропали жалобы людей. Все это позволило им сделать вывод о том, что 30 дней вполне достаточно для полной адаптации людей к холоду.

Адаптация к холоду в течение 10 дней возникает после нахождения при низких температурах не менее 15% времени в сутки [3]. Если в течение 10 дней холода был перерыв в виде нескольких дней нахождения в тепле, то адаптация не наступит, требуется постоянное нахождение при холоде 10 дней. Такие кратковременные сроки холодовой адаптации часто бывают при проведении отпуска на лыжных курортах, при лыжных походах, при вахтово-экспедиционном труде, при смене погоды. Поэтому мы считаем, что с точки зрения наиболее напряженных процессов адаптации к холоду 10-дневная адаптация требует тщательного научного изучения.

Значение a2-адренорецепторов для организма показано в работе [5], где рассмотрены α2-адренорецепторы (a2-AR), подразделяемые на подтипы a2A, a2B и a2C и экспрессируемые в сердце, кровеносных сосудах, почках, тромбоцитах и головном

мозге. Рецепторы a2-AR важны для регуляции артериального давления, обезболивания и агрегации тромбоцитов.

В другой работе отмечено [6], что α2-антагонист йохимбин, получаемый из африканского дерева, уже более столетия используется в клинической практике в качестве афродизиака.

Исследования a2-AR доказали [7], что α2-AR человека имеют большее сходство с таковыми у свиньи, собаки и кролика, но меньшее сходство, чем у крысы, мыши и морской свинки [8], что добавляет дополнительную осторожность при экстраполяции результатов исследований на клиническую значимость действия лекарств для человека.

В работах [9-10] было показано, что активация периферических альфа-(2C)-адренорецепторов вызывает вазоконстрикцию.

Были проведены исследования влияния низких температур на организм, результаты которых показали, что острый холод рассматривается как фактор сердечно-сосудистого риска [11], и есть тесная корреляция между острым воздействием холода и зимней смертностью, вызванной сердечными заболеваниями. Напротив, хорошо известно, что адекватный режим холодной акклиматизации оказывает благотворное влияние [11], такое как улучшение иммунного ответа, терморегуляции и сосудистой реактивности, а также увеличение аэробного метаболизма.

Исследование холодового стресса всего тела показало рефлекторное увеличение эфферентной активности симпатических нервов кожи, что вызвало кожную вазоконстрикцию и последующее снижение кровотока кожи для минимизации потери тепла [12].

Анализ литературных источников показал, что физиологическая функция a2-адренорецепторов в организме многогранна, рецепторы принимают активную роль в регуляции кровотока при холодовой адаптации, но нет количественной оценки работы a2-AR артерий при холодовой адаптации. Поэтому целью нашей работы было изучение фармакокинетических и фармакодинамических параметров селективного миметика a2-адренорецепторов клонидина на 10 день холодовой адаптации, что позволило определить количество активных a2-AR и их чувствительность после действия холода.

Методы и организация исследования. Для проведения работы были использованы кролики двух групп. Первая группа – контрольная (25 кроликов). Вторая группа кроликов (22 кролика) адаптировались к холоду в течение 10 дней по 6 часов ежедневно при температуре минус шесть градусов Цельсия. Такой режим адаптации моделировал среднее время пребывания человека на холоде ежедневно при вахтово-экспедиционном труде [2], при спортивных мероприятиях, и обеспечивал холодовую адаптацию, так как превышал 15% суточного пребывания на холоде [3]. В остальное время кролики обеих групп находились при комнатной температуре при стандартном режиме питания и содержания. Острые опыты проводились одинаково в обеих группах на самцах кроликов (весом 3-4 кг) под гексеналовым наркозом (внутривенно 30 мг/кг) с применением гепарина (1000 ед/кг). Основу исследования составила регистрация артериального тонуса сосудов задней конечности при введении 8 доз альфа-2-адреномиметика клонидина [4]. Для этого хирургически выделялся доступ к бедренной артерии, перевязывались все анастомозы, перерезалась бедренная артерия, и в ее дистальный и проксимальный концы вставлялись канюли. Между канюлями подключался перфузионный насос желудочкового типа, который дозированно (вместо сердца) качал кровь в бедренную артерию. Через тройник подключался датчик давления, давление насосом устанавливалось на 110 мм рт. ст. Клонидин в 8 дозах вводился в кровоток на выходе насоса, попадал в артериальное русло бедренной артерии, стимулировал постсинаптические a2-AP артерий, что приводило к сокращению артерий и повышению давления в артериях конечности. Датчик

давления через аналогово-цифровой преобразователь записывал изменения давления в компьютер. Различные 8 доз клонидина характеризовали его фармакокинетические параметры (фармакокинетика – что происходит с лекарством, его различные дозы) [4]. Изменения тонуса артерий по датчику давления на разные дозы клонидина показывали фармакодинамические свойства клонидина (фармакодинамика – что делает лекарство в организме) [4, 16].

Для выявления механизмов изменения a2-AP адренореактивности артерий региона бедренной артерии к клонидину при 10-дневной холодовой адаптации был проведен анализ результатов опытов в двойных обратных координатах Лайнувера-Берка [13-15]. Это позволило определить количество активных a2-AP артерий, которые взаимодействуют с клонидином. Этот же метод позволил определить чувствительность a2-AP артерий к клонидину до и после 10-дневной холодовой адаптации [4, 16].

Количество активных a2-AP артерий (1/Pm) численно равно (пропорционально) максимальному увеличению давления в русле бедренной артерии при введении максимально большой дозы клонидина [4, 16]. Этот метод оценки базируется на том, что если клонидин возбудил уже при данной дозе 100% a2-AP, то увеличение дозы не приводит к увеличению тонуса артерий и перфузионному давлению. На графике величина повышения давления (Pm) дана в обратной величине (1/Pm), прямая величина давления на графике возрастает к центру координат. На графике при пересечении с осью ординат мы находим предел величины максимального возможного прессорного давления в артериях, что и равно количеству активных рецепторов, при теоретически бесконечно большой дозе клонидина [17].

Чувствительность a2-адренорецепторов к клонидину (1/К) показывает, какая доза клонидина (К) вызывает 50% от максимально возможной прессорной реакции артериальных сосудов региона бедренной артерии при постоянном расходе перфузионного насоса. Чувствительность к клонидину (1/К) можно найти и простым методом: нужно увеличивать дозу клонидина, и когда прессорная реакция (Pm) не будет увеличиваться, доза клонидина при 50% максимального эффекта и будет чувствительностью (1/К) [16].

Математическую обработку экспериментальных результатов проводили с помощью программы SigmaPlot-5. Достоверность разницы между контролем и опытом оценивали по t-критерию Стьюдента, достоверно при *$p<0,05$.

Проведение опытов в контрольной группе кроликов и на фоне 10-дневной холодовой адаптации позволило определить фармакокинетические и фармакодинамические свойства клонидина и в результате описать изменения в физиологической активности a2-адренорецепторов в артериях кожно-мышечной области кролика [4, 17].

Результаты исследования и их обсуждение. Проведенное исследование показало, что в контрольной группе кроликов и животных после 10 дней холодовой адаптации (10-ДХА) все дозы клонидина вызывали повышение тонуса артерий перфузируемой насосом задней конечности (рис. 1). На все дозы клонидина от 2 мкг/кг до 50 мкг/кг прессорная реакция артерий была достоверно ($p<0,05$) больше у кроликов после 10 дней холодовой адаптации (рис.1). Так как клонидин является селективным миметиком a2-адренорецепторов артерий, можно сделать заключение, что после 10 дней холодовой адаптации происходит физиологическая активация a2-адренорецепторов артериальных сосудов оболочки тела кролика.

После введения клонидина в дозе 2,0 мкг/кг перфузионное давление в контрольной группе увеличилось до 15 мм рт. ст., а на фоне 10 дней холода – на 34 мм рт. ст. ($p<0,05$), что было на 19 мм рт. ст. больше. Дальнейшее увеличение дозы клонидина вызывало большую прессорную реакцию артерий у кроликов на фоне 10-ДХА. Так, на самую большую дозу клонидина 50 мкг/кг в контроле перфузионное давление в артериальном русле задней конечности увеличилось до 162 мм рт. ст., а на фоне холода – до 274 мм рт. ст. ($p<0,05$) (рис. 1).

Повышение реактивности артерий на клонидин после 10-ДХА показывают, что физиологические механизмы адаптации к холоду на 10 день значительно увеличивают функциональную активность а2-адренорецепторов артерий задней конечности. Такие изменения могут способствовать сохранению тепла в теле, так как нейромедиатор симпатической системы адреналин, который в большей степени секретируется в кровь из надпочечников, стимулирует как а1-адренорецепторы, так и а2-адренорецепторы артерий. При воздействии холода возникает холодовый стресс, увеличивается концентрация в крови адреналина, который, возбуждая а2-адренорецепторы артерий, вызывает гораздо большее их сокращение по сравнению с контролем. В результате уменьшается отдача тепла телом, увеличивается время выживания на холоде по сравнению с контролем. Однако при сильном холоде уменьшение прогрева (за счет сокращения артерий адреналином) может вызвать отморожения. Поэтому 10 дней холодовой адаптации рядом авторов называется незавершенной адаптацией [14], при которой у людей отмечается бессонница, боли в области сердца. Знание этих физиологических рецепторных параметров адаптации может применяться для профилактики нарушений работы сердечно-сосудистой системы. Здесь следует отметить, что многие люди с сердечно-сосудистыми заболеваниями применяют лекарственные средства, действующие на адренорецепторы артерий, но действие низких температур и периодов холодовой адаптации при этом учитывается мало, так как эти проблемы изучены еще недостаточно.

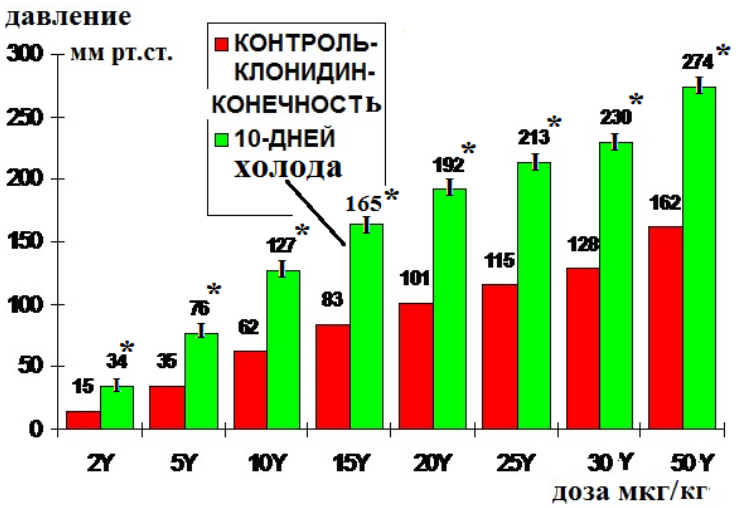


Рис.1. Повышение перфузионного давления артериального русла задней конечности на клонидин в контрольной группе и после 10 дней холодовой адаптации

Примечание: по оси абсцисс – дозы препарата в мкг/кг (Y); по оси ординат – изменение перфузионного давления в мм рт. ст.; достоверные различия опытной к контрольной группе (*p<0,05)

Дальнейший анализ лиганд-рецепторных взаимодействий клонидина с а2-АР до и на фоне 10 дней холодовой адаптации мы провели в двойных обратных координатах Лайнувера-Берка (рис. 2), что дало возможность определить количество активных а2-АР (Pm) в артериях и проанализировать изменение чувствительности рецепторов (1/К).

В работе показано, что холодовая адаптация привела к увеличению количества а2-АР в артериях в 1,4 раза с Рм=270 мм рт. ст. в контроле – до Рм=385 мм рт. ст. после 10 дней холода

(рис. 2). Также выявлено, что изменение количества рецепторов достигается таким природным фактором, как холод. Этот результат может быть перспективным при профилактике ряда заболеваний, так как показывает, что можно изменить количество активных а2-АР в артериях холодом.

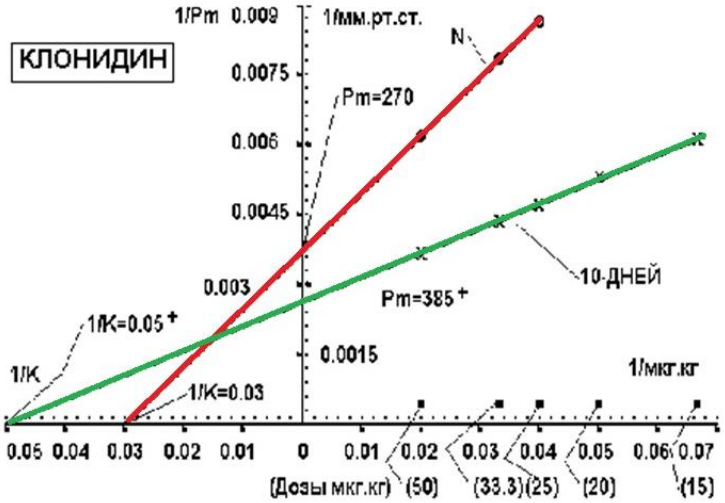


Рис. 2. Количество активных рецепторов (Pm) и чувствительность (1/К) а2-адренорецепторов артерий к клонидину в двойных обратных координатах Лайнувера-Берка после 10 дней холода

Примечание: по оси ординат – обратная величина перфузионного давления (1/Рм); по оси абсцисс – обратная величина дозы (1/Д)

Анализ данных опытов в двойных обратных координатах Лайнувера-Берка [6, 17] позволил определить чувствительность (1/К) взаимодействия клонидина с а2-АР в артериях (рис. 2). Результаты показывают, что после 10 дней холодовой адаптации чувствительность а2-АР в артериях увеличилась в 1,66 раз с 1/К=0,03 в контроле до 1/К=0,05 после действия холода. Величина чувствительности рецепторов численно равна дозе клонидина, вызывающей 50% от максимально возможной прессорной реакции (Pm). В контроле 1/К=0,03, отсюда обратная величина К=33 мкг/кг, а при холоде К=20 мкг/кг. Доза клонидина, вызывающая 50% от максимума, на фоне холода К=20 мкг/кг, а в контроле К=33 мкг/кг, что и говорит о меньшей чувствительности.

Заключение. После 10 дней холодовой адаптации количество активных (Pm) а2-адренорецепторов артерий конечности увеличилось на 43%. Также увеличилась чувствительность (1/К) на 67% а2-адренорецепторов артерий после 10 дней холодовой адаптации. В связи с этим увеличение количества активных а2-адренорецепторов артерий и их чувствительности после холодовой адаптации приводит к увеличению прессорной реакции артериальных сосудов к а2-адреномиметикам.

Так как адреналин является а2-адреномиметиком, он увеличивает свою концентрацию при различных стрессах, поэтому после 10 дней холодовой адаптации любые стрессы вызовут значительное повышение артериального давления за счет активации адреналином а2-АР. Такие механизмы предполагаемой гипертонии, полученные в результате фундаментальных исследований рецепторов, могут быть основой для дальнейшего исследования причин и профилактики гипертонии у людей.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Агаджанян, Н. А. Человек в условиях Севера / Н. А. Агаджанян, П. Г. Петрова. – М.: КРУК, 1996. – 208 с.

2. Кривощеков, С. Г Производственные миграции и здоровье человека на Севере / С. Г. Кривощеков, С. В. Охотников. – Новосибирск, 2000. – 118 с.

3. Руководство по физиологии. Физиология адаптационных процессов. – М.: Наука, 1986. – 635 с.
4. Сергеев П. В. Рецепторы физиологически активных веществ / П. В. Сергеев, Н. Л. Шимановский, В. И. Петров. – Волкоград: Из-во «Семь ветров», 1999. – 640 с.
5. Proudman, R. G. W. The affinity and selectivity of α-adrenoceptor antagonists, antidepressants and antipsychotics for the human α2A, α2B, and α2C-adrenoceptors and comparison with human α1 and β-adrenoceptors / R. G. W. Proudman, J. Akinaga, J. G. Baker // Pharmacol Res Perspect. – Apr 2022. – № 10(2). – Art. № e00936. DOI: 10.1002/prp2.936. PMID: 35224877
6. Morales, A. Yohimbine in erectile dysfunction: would an orphan drug ever be properly assessed? / A. Morales // World J Urol. – 2001. – № 19(4). – pp. 251-255. DOI: 10.1007/s003450000182
7. Clarke, R. W. RX 821002 as a tool for physiological investigation of alpha(2)-adrenoceptors / R. W. Clarke, J. Harris // CNS Drug Rev. – 2002. – № 8(2). – pp. 177-192. DOI: 10.1111/j.1527-3458.2002.tb00222.x.
8. Uhlén, S. [3H]RS79948-197 binding to human, rat, guinea pig and pig alpha2A-, alpha2B- and alpha2C-adrenoceptors. Comparison with MK912, RX821002, rauwolscine and yohimbine / S. Uhlén, M. Dambrova, J. Näsman // Eur J Pharmacol. – 1998. – № 343(1). – pp. 93-101. DOI: 10.1016/s0014-2999(97)01521-5.
9. Civantos Calzada, B. Alpha-adrenoceptor subtypes / B. Civantos Calzada, A. Aleixandre de Artiñano // Pharmacol Res. – Sep 2001. – № 44(3). – pp. 195-208. DOI: 10.1006/phrs.2001.0857.
10.Kanagy, N. L. Alpha(2)-adrenergic receptor signalling in hypertension / N. L. Kanagy // Clin Sci (Lond). – Nov 2005. – № 109(5). – pp. 431-437. DOI: 10.1042/CS20050101.
11.Gradual cold acclimation induces cardioprotection without affecting β-adrenergic receptor-mediated adenylyl cyclase signaling / Tibenska V., Benesova A., Vebr P. [et al] // J Appl Physiol. – Apr 1, 2020. – № 128(4). – pp. 1023-1032. DOI: 10.1152/japplphysiol.00511.2019.
12.Greaney, J. L. Neurovascular mechanisms underlying augmented cold-induced reflex cutaneous vasoconstriction in human hypertension / J. L. Greaney, W. L. Kenney, L. M. Alexander // J Physiol. – Mar 1, 2017. – № 595(5). – pp. 1687-1698. DOI: 10.1113/JP273487
13.Lineweaver, H. The Determination of Enzyme Dissociation Constants / H. Lineweaver, D. Burk // J Am Chem Soc. – 1934. – № 56. – pp. 658-666. DOI: 10.1021/ja01318a036
14.The Kinetics of Enzyme Mixtures / S. Brown, N. Muhamad, C. K. Pedley, C. D. Simcock // Mol Biol Res Commun. – Mar 2014. – № 3(1). – pp. 21-32. PMID: 27843974
15.Best Practices for the Collection of Robust Time Course Reaction Profiles for Kinetic Studies / Deem M. C., Cai I., Derasp J. S. [et al] //ACS-Catalysis. – 2023. – № 13(2). – pp. 1418-1430. DOI: https://doi.org/10.1021/acscatal.2c05045
16.Манухин, Б. Н. Анализ лиганд-рецепторных взаимодействий на уровне от молекулярного до организменного / Б. Н. Манухин // Российский физиол. журн. им. И.М. Сеченова. – 2000. – Т. 86. – № 9. – С. 1220-1232.
17.Варфоломеев, С. Д. Биокинетика. Практический курс / С. Д. Варфоломеев, К. Г. Гуревич. – М.: Фаир-Пресс, 1999. – 720 с.

REFERENCES

1. Agadzhanyan N.A., Petrova P.G. Man in conditions of the North. Moscow: KRUK, 1996. 208 p. (in Russ.)
2. Krivoshchekov S.G., Okhotnikov S.V. Industrial migration and human health in the North. Novosibirsk, 2000.118 p. (in Russ.)
3. Physiology guidelines. Physiology of adaptive processes. Moscow: Nauka, 1986.635 p. (in Russ.)
4. Sergeev P.V. Shimanovskij N.L., Petrov V.I. Receptors of phsysiologically active substances. Volgograd: Publishing house “Sem' vetrov”, 1999. 640 p. (in Russ.)
5. Proudman R.G.W., Akinaga J., Baker J.G. The affinity and selectivity of α-adrenoceptor antagonists, antidepressants and antipsychotics for the human α2A, α2B, and α2C-adrenoceptors and comparison with human α1 and β-adrenoceptors. *Pharmacol Res Perspect*, Apr 2022, no. 10(2), art. no. e00936. DOI: 10.1002/prp2.936. PMID: 35224877.
6. Morales A. Yohimbine in erectile dysfunction: would an orphan drug ever be properly assessed? *World J Urol*, 2001, no. 19(4), pp. 251-255. DOI: 10.1007/s003450000182.
7. Clarke R.W., Harris J. RX 821002 as a tool for physiological investigation of alpha(2)-adrenoceptors. *CNS Drug Rev*, 2002, no. 8 (2), pp. 177-192. DOI: 10.1111/j.15273458.2002.tb00222.x.
8. Uhlén S., Dambrova M., Näsman J. [3H]RS79948-197 binding to human, rat, guinea pig and pig alpha2A-, alpha2B- and alpha2C

adrenoceptors. Comparison with MK912, RX821002, rauwolscine and yohimbine. *Eur J Pharmacol*. 1998, no. 343(1), pp. 93-101. DOI: 10.1016/s0014-2999(97)01521-5.
9. Civantos Calzada B., Aleixandre de Artiñano A. Alpha-adrenoceptor subtypes. *Pharmacol Res*, Sep 2001, no. 44(3), pp. 195-208. DOI: 10.1006/phrs.2001.0857.
10.Kanagy N.L. Alpha(2)-adrenergic receptor signalling in hypertension. *Clin Sci (Lond)*, Nov 2005, no. 109(5), pp. 431-437. DOI: 10.1042/CS20050101.
11.Tibenska V., Benesova A., Vebr P., Liptakova A., Hejnová L., Elsnicová B., Dra-hota Z., Hornikova D., Galatík F., Kolar D., Vybiral S., Alánová P, Novotný J., Kolar F., Novakova O., Zurmanova J.M. Gradual cold acclimation induces cardioprotection without affecting β-adrenergic receptor-mediated adenylyl cyclase signaling. *J Appl Physiol*, Apr 1, 2020, no. 128(4), pp. 1023-1032. DOI: 10.1152/japplphysiol.00511.2019.
12.Greaney J.L., Kenney W.L., Alexander L.M. Neurovascular mechanisms underlying augmented cold-induced reflex cutaneous vasoconstriction in human hypertension. *J Physiol*, Mar 1, 2017, no. 595(5), pp. 1687-1698. DOI: 10.1113/JP273487
13.Lineweaver H., Burk D. The Determination of Enzyme Dissociation Constants. *J Am Chem Soc*, 1934, no. 56, pp. 658-666. DOI: 10.1021/ja01318a036.
14.Brown S., Muhamad N., Pedley C.K., Simcock C.D. The Kinetics of Enzyme Mixtures. *Mol Biol Res Commun*, Mar 2014, no. 3(1), pp. 21-32. PMID: 27843974.
15.Deem M.C., Cai I., Derasp J.S., Prieto P.L., Sato Y., Liu J., Kukor A.J., Hein J.E. Best Practices for the Collection of Robust Time Course Reaction Profiles for Kinetic Studies. *ACS-Catalysis*, 2023, no. 13(2), pp. 1418-1430. DOI: https://doi.org/10.1021/acscatal.2c05045
16.Manukhin B.N. Analysis of ligand-receptor interactions at the level from molecular to organismic. *Russian Journal of Physiology*, 2000, vol. 86. no. 9, pp. 1220-1232. (in Russ.)
17.Varfolomeev S.D., Gurevich K.G. Biokinetics. A practical course. Moscow: Fair-Press, 1999. 720 p. (in Russ.)

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:
Владимир Николаевич Ананьев – доктор медицинских наук, профессор, ведущий научный сотрудник, ГНЦ РФ Институт медико-биологических проблем РАН, Москва, e-mail: noradrenalin1952@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4679-6441.
Николай Яковлевич Прокопьев – доктор медицинских наук, профессор, Тюменский государственный университет, Тюмень. ORCID: 0000-0002-9525-0576
Георгий Владимирович Ананьев – врач, медицинский консультант АО «ФАРМСТАНДАРТ», Московская область, Долгопрудный. ORCID: 0000-0003-3199-7264
Елисей Сергеевич Гуртовой – студент, Тюменский государственный медицинский университет, Тюмень.

INFORMATION ABOUT THE AUTHORS:
Vladimir Nikolaevich Anan'ev – Doctor of Medical Sciences, Professor, Leading Researcher, Institute of Biomedical Problems of the Russian Academy of Sciences, Moscow, e-mail: noradrenalin1952@mail.ru, ORCID: 0000-0002-4679-6441.
Nikolaj Yakovlevich Prokop'ev – Doctor of Medical Sciences, Professor, Tyumen State University, Tyumen. ORCID: 0000-0002-9525-0576.
Georgij Vladimirovich Anan'ev – Physician, Medical Consultant, "PHARMSTANDARD" JSC, Moscow Oblast, Dolgoprudnyj. ORCID: 0000-0003-3199-7264.
Elisej Sergeevich Gurtovoj – Student, Tyumen State Medical University, Tyumen, Russia.

Для цитирования: Фармакокинетика и фармакодинамика клонидина при его действии на альфа-2-адренорецепторы артерий конечности кролика на 10 день холодовой адаптации / В. Н. Ананьев, Н. Я. Прокопьев, Г. В. Ананьев, Е. С. Гуртовой // Современные вопросы биомедицины. – 2023. – Т. 7. – № 2. DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_02_2

For citation: Anan'ev V.N., Prokop'ev N.Ya., Anan'ev G.V., Gurtovoj E.S. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of clonidine in its effect on alpha-2-adrenoreceptors of rabbit limb arteries on day 10 of cold adaptation. *Modern Issues of Biomedicine*, 2023, vol. 7, no. 2. DOI: 10.24412/2588-0500-2023_07_02_2