

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК  
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ  
ТОМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ

На правах рукописи

Нарыжная  
Наталья Владимировна

РЕЦЕПТОР-ОПОСРЕДОВАННЫЕ МЕХАНИЗМЫ  
ВЛИЯНИЯ ОПИОИДНОЙ СИСТЕМЫ НА УСТОЙЧИВОСТЬ СЕРДЦА  
К СТРЕССОРНЫМ ПОВРЕЖДЕНИЯМ

14.00.16 - патологическая физиология

Д и с с е р т а ц и я

на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:  
член-корреспондент РАМН,  
доктор медицинских наук,  
профессор  
Ю.Б. Лишманов

Научный консультант:  
доктор медицинских наук  
Л.Н. Маслов

ТОМСК - 1998

## СПИСОК УСЛОВНЫХ СОКРАЩЕНИЙ

- % об. - объемные проценты
- $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ -  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфат
- АКТГ - адренкортикотропный гормон
- АТФ - аденозинтрифосфорная кислота
- ГАМК - гамма-аминомасляная кислота
- ГОМК - гамма-окимасляная кислота
- ГЭБ - гематоэнцефалический барьер
- ДК - диеновые конъюгаты
- ДНК - дезоксирибонуклеиновая кислота
- КА - катехоламины
- МДА - малоновый диальдегид
- ОИМ - острый инфаркт миокарда
- ОП - опиоидные пептиды
- ОР - опиатные рецепторы
- ПОЛ - перекисное окисление липидов
- ПФЖ - порог фибрилляции желудочков
- ПЦ - простациклин
- РИА - радиоиммунный анализ
- РНК - рибонуклеиновая кислота
- САС - симпато-адреналовая система
- СЛС - стресс-лимитирующая система
- СПР - саркоплазматический ретикулум
- СПС - стрессорное повреждение сердца
- ТХУ - трихлоруксусная кислота
- ТХ - тромбоксан В<sub>2</sub>
- усл. ед. - условные единицы
- цАМФ - циклический аденозин монофосфат
- цГМФ - циклический гуанозин монофосфат
- ЦНС - центральная нервная система
- i.c.v. - интрацеребровентрикулярное введение
- СРМ - count per minute - количество импульсов в минуту

## ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ .....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	
Система опиоидных нейропептидов и регуляция устойчивости миокарда к стрессорным повреждениям .....	12
Влияние лигандов опиатных рецепторов на звенья симпатической нервной системы и ее роль в развитии стресс-реакции и повреждении миокарда .....	16
Влияние опиоидов на уровень минерал- и глюкокортикоидов при стрессе .....	22
Вклад метаболитов арахидоновой кислоты в патогенез стрессорных повреждений миокарда и их взаимодействие с лигандами ОР .....	24
.....	24
Понятие об адаптационной защите сердца и стресс-лимитирующих системах .....	28
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ .....	33
2.1. Препараты и животные .....	33
2.2. Экспериментальная модель стресса .....	37
2.3. Модель изадринового некроза .....	37
2.4. Методы оценки повреждений сердца .....	38
2.4.1. Методика оценки повреждений сердца по аккумуляции <sup>99m</sup> Tc-пирофосфата в ткани миокарда.	38
2.4.2. Методика определения порога желудочковой фибрилляции .....	39
2.5. Метод интрацеребровентрикулярного введения препаратов ..	40
.....	40
2.6. Биохимические методы исследования .....	40
2.6.1. Определение общей интенсивности биосинтеза белка .....	40
.....	40
2.6.2. Определение содержания продуктов перекисного	

окисления липидов . . . . .	41
2.7. Радиоиммунные методы исследования . . . . .	44
2.8. Гистохимическое определение катехоламинов в ткани миокарда и надпочечников . . . . .	47
2.9. Методы статистической обработки результатов . . . . . . . . . .	48
<b>ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ     И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ . . . . .</b>	<b>50</b>
3.1. Основные субтипы опиатных рецепторов, лиганды которых модулируют устойчивость миокарда к повреждающему воздействию стресса . . . . .	50
3.1.1. Влияние лигандов опиатных рецепторов и блокаторов энкефалиназ на уровень аккумуляции <sup>99m</sup> Tc-пирофосфата в кардиомиоцитах при иммобилизационном стрессе . . . . . . . . . .	51
3.1.2. Опиатергическая модуляция стресс-индуцированного снижения порога желудочковой фибрилляции . . . . . . . . . .	66
3.2. Опиатные рецепторы и адреналовый компонент стрессорного повреждения сердца . . . . .	75
3.2.1. Изменения уровня катехоламинов в миокарде и надпочечниках стрессированных крыс на фоне предварительного введения лигандов опиатных рецепторов . . . . . . . . . .	76
3.2.2. Роль периферического звена симпатической нервной системы в опосредовании мю-опиатергических влияний на устойчивость сердца к стрессорному повреждению . . . . .	80
3.3. Роль системы эйкозаноидов в реализации опиатергических влияний на устойчивость миокарда к стресс-индуцированным	

повреждениям . . . . .	93
3.3.1. Роль простаноидов в механизмах опиоидной защиты миокарда при стрессе . . . . .	94
3.3.1.1. Изменение уровня простагландинов в плазме крови и миокарде стрессированных крыс на фоне предварительного введения лигандов опиатных рецепторов . . . . .	94
3.3.1.2. Влияние ингибитора циклооксигеназы индометацина на проявления кардиотропных эффектов опиоидов при стрессе . . . . .	97
3.3.2. Изменение содержания продуктов ПОЛ в плазме крови и миокарде стрессированных крыс при введении лигандов опиатных рецепторов . . . . .	102
3.4. Взаимосвязь кардиотропного действия опиоидов с процессами биосинтеза белка при стрессе . . . . .	107
3.4.1. Воздействие лигандов опиатных рецепторов на интенсивность биосинтеза белка в миокарде при иммобилизационном стрессе . . . . .	107
3.4.2. Влияние блокатора биосинтеза белка циклогексимида на кардиопротекторные свойства агониста $\mu$ -опиатных рецепторов DALDA при иммобилизационном стрессе . . . . .	110
ЗАКЛЮЧЕНИЕ . . . . .	116
ВЫВОДЫ . . . . .	122
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ . . . . .	124

Стрессорные (адренергические) повреждения ранее здорового сердца представляют собой реальное явление в патологии человека.

Ф.З. Меерсон

## ВВЕДЕНИЕ

**АКТУАЛЬНОСТЬ ПРОБЛЕМЫ.** Проблема профилактики стресс-индуцированных повреждений миокарда в экстремальных ситуациях приобретает особую актуальность для современного индустриального общества с его урбанизацией, усложнением профессиональной деятельности человека, ускорением темпов жизни и возросшими психоэмоциональными нагрузками.

Согласно концепции Г.Селье, получившей развитие в нашей стране благодаря работам Ф.З.Меерсона, стресс-реакция, которая сформировалась в ходе эволюции как необходимое звено индивидуальной адаптации организма, в случае чрезмерно интенсивных или неадекватно длительных воздействий может сама по себе явиться источником тканевых и органных повреждений [76, 100, 241, 242, 245]. Кроме того, в литературе все чаще встречаются сообщения о фатальных нарушениях желудочкового ритма и случаях сердечной смерти у лиц, не имевших “коронарного” анамнеза, но переживших тяжелый стресс или длительное психо-эмоциональное напряжение [199]. Однако единого мнения по вопросу патогенетически обоснованной профилактики стрессорных нарушений электрической стабильности сердца и стресс-индуцированных повреждений его мембран до настоящего времени не существует.

В последнее время активно обсуждается положение, согласно которому одним из наиболее оптимальных и физиологичных путей повышения резистентности сердца к экстремальным воздействиям является, так называемая, адаптационная защита сердца [75, 76, 77, 78, 79]. Суть ее сводится к профилактике или ослаблению различных по этиопатогенезу повреждений сердечно-сосудистой системы с помощью стимуляции механизмов естественной неспецифической

резистентности организма или фармакологической имитации приспособительных процессов.

Профессор Ф.З.Меерсон предположил, что в основе данного феномена может лежать активация эндогенных стресс-лимитирующих систем (СЛС), к которым он относит серотонинергическую, ГАМК-ергическую системы, простаноиды, антиоксиданты и опиоидные пептиды [74, 75, 77, 79, 82, 84, 85, 86, 96, 98].

Активные исследования опиоидов, предпринятые в 80-90-х годах, показали их высокую стресс-лимитирующую [40,52,53], кардиопротекторную [35, 36, 50, 69, 198] и антиаритмическую [44, 46, 47, 49, 56, 64, 66, 67, 68] активность. В ряде работ показано, что энкефалины и эндорфины могут модулировать синтез и секрецию ряда гормонов, традиционно считающихся "стрессовыми" [7, 36, 40, 146, 155, 159, 184, 225]. Публикации последних лет позволяют говорить о тесном взаимодействии опиоидных пептидов с вегетативной нервной системой [12, 13, 142, 143, 158, 233, 261], роль которой в стрессорном повреждении сердца общеизвестна.

Таким образом, в настоящее время не вызывает сомнения, что опиоидные пептиды играют важную роль в регуляции устойчивости сердца к повреждающему действию стресса.

Вместе с тем, остается открытым вопрос о типах и локализации рецепторов, отвечающих за кардиопротекторные эффекты опиоидов.

Единство взглядов отсутствует и в отношении физиологических механизмов, опосредующих эффект активации тех или иных субпопуляций опиатных рецепторов. Данные литературы позволяют рассматривать в качестве таких механизмов реакцию других известных стресс-лимитирующих систем организма, в частности - простаноидов [51, 54, 240], антиоксидантов [82, 88], ГАМК-ергической системы [223, 234] и др., а также опиатергическое ингибирование стресс-реализующих систем (в частности - супрессия неадекватного выброса катехоламинов) [12, 13, 15, 142, 143, 158, 233, 261].

Изучению вышеизложенных проблем и посвящена данная работа.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ: изучить рецептор-опосредованные механизмы влияния опиоидной системы на устойчивость миокарда к стрессорным повреждениям.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ:

1. Изучить роль различных типов опиатных рецепторов в регуляции естественной устойчивости сердца к стресс-индуцированным повреждениям.
2. Оценить роль вегетативной нервной системы в реализации опиатергических влияний на устойчивость миокарда к повреждениям сердца при стрессе.
3. Исследовать вклад продуктов метаболизма арахидоновой кислоты (простаноидов и продуктов перекисного окисления липидов) в реализацию кардиопротекторного или “кардиопато-генного” влияния лигандов ОР при стрессе.
4. Сопоставить кардиопротекторные эффекты лигандов опиатных рецепторов с их влиянием на процессы биосинтеза белка в миокарде.

ПОЛОЖЕНИЯ, ВЫНОСИМЫЕ НА ЗАЩИТУ:

1. Основным опиатергическим механизмом повышения устойчивости сердца к стресс-индуцированному повреждению является активация периферических морфиноподобных рецепторов ( $\mu$ -ОР).
2. Возбуждение центральных  $\mu$ -ОР потенцирует стрессорное повреждение мембран кардиомиоцитов и наблюдаемое при этом снижение электрической стабильности миокарда.
3. Рецептор-опосредованное влияние опиоидной системы на резистентность сердца к повреждающему действию стресса реализуется через модуляцию симпатической активности, воздействие на метаболизм арахидоновой кислоты и ускорение биосинтеза белка в кардиомиоцитах.

НАУЧНАЯ НОВИЗНА. В работе впервые получены новые сведения о рецептор-опосредованных механизмах влияния опиоидной системы на устойчивость сердца к стрессорным повреждениям.



Абсолютно новыми можно считать данные о неоднозначной роли различных типов опиатных рецепторов и их эндогенных агонистов в предупреждении или, наоборот, потенцировании альтерации мембран кардиомиоцитов. Так, активация периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов приводит к повышению устойчивости сердца к стрессорным повреждениям, а фармакологическое “выключение” этого типа рецепторов на периферии, соответственно, потенцирует повреждение миокарда в аналогичных условиях. Стимуляция центральных  $\mu$ -ОР, наоборот, способствует усилению "стрессорной кардиомиопатии", а их блокада предупреждает повреждение сердца крыс при последующем стрессировании. Рецепторы  $\delta$ -,  $\kappa$ - и  $\sigma$ -типов, согласно полученным результатам, не имеют существенного значения в регуляции изучаемых процессов.

Оригинальным является и сам комплексный подход к экспериментальному изучению рецепторных звеньев опиоидной системы, включающий в себя системное и интрацеребровентрикулярное введение синтетических агонистов, селективную блокаду различных типов ОР и увеличение содержания эндогенных ОП с помощью ингибиторов энкефалиназ.

Прямые доказательства ведущей роли симпато-адреналовой системы в патогенезе стресс-индуцированных повреждений сердца, также как и участие эндогенных катехоламинов в реализации опиатергических воздействий на миокард, не имеют литературных аналогов.

Новизну представляют результаты, прямо показывающие участие простагландинов в формировании стрессорного повреждения кардиомиоцитов и доказательство их роли в кардиопротекторном эффекте активации периферических  $\mu$ -ОР. Впервые получены аргументы в пользу способности лигандов  $\mu$ -ОР модулировать интенсивность биосинтеза миокардиального белка при иммобилизационном стрессе, что существенно отражается на резистентности мембран кардиомиоцитов к повреждению при экстремальных воздействиях.

НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКАЯ ЗНАЧИМОСТЬ. Полученные в процессе диссертационного исследования факты развивают и обогащают существующие

представления о механизмах повреждения миокарда в стрессовых ситуациях и роли опиоидной системы в регуляции неспецифической устойчивости сердца к действию чрезвычайных факторов. Результаты работы могут быть использованы при создании перспективных кардиопротекторов опиатергического типа действия.

Результаты исследования используются при чтении лекций и проведении семинарских занятий на кафедре биохимии МБФ Сибирского Государственного Медицинского Университета и кафедре физиологии Томского Государственного Университета.

АПРОБАЦИЯ РАБОТЫ. Материалы диссертации докладывались и обсуждались на отчетной научной сессии "Актуальные проблемы кардиологии" (Томск, 4-6 октября 1994 г.); научной конференции, посвященной 15-летию НИИ кардиологии "Современные проблемы кардиологии" (Томск, 15 июня 1995); II Съезде физиологов Сибири и Дальнего Востока (г. Новосибирск, 14-17 июня 1995 г.), II Конгрессе кардиологов Центральной Азии (г. Алматы, сентябрь 1995 г.); I Российском Конгрессе по патофизиологии "Патофизиология органов и систем. Типовые патологические процессы (Экспериментальные и клинические аспекты)" (Москва, 17-19 октября 1996 г.); VII Всероссийском симпозиуме "Коррекция гомеостаза" (17-22 марта 1996 г.); научной конференции памяти В.А.Пегеля (г. Томск, декабрь 1996 г.); конференции "Актуальные проблемы кардиологии", (г. Томск, сентябрь 1997 г.).

ПУБЛИКАЦИИ. По теме диссертации опубликовано 16 печатных работ, из них 5 - статьи в центральных журналах, 9 - тезисы в материалах отечественных и 2 - зарубежных конференций.

ОБЪЕМ И СТРУКТУРА РАБОТЫ. Диссертация изложена на 163 стр. машинописного текста и состоит из введения, трех глав, заключения, выводов и списка литературы, иллюстрирована 9 рисунками и 13 таблицами. Библиографический указатель включает 279 источников, из них 123 отечественных и 156 иностранных.

## Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

### СИСТЕМА ОПИОИДНЫХ НЕЙРОПЕПТИДОВ И РЕГУЛЯЦИЯ УСТОЙЧИВОСТИ МИОКАРДА К СТРЕССОРНЫМ ПОВРЕЖДЕНИЯМ

Точка зрения о важной роли стресса в патогенезе сердечно-сосудистых заболеваний далеко не нова. Еще 150 лет назад Corvisart считал, что все сердечные заболевания возникают в результате двух основных причин: “от работы органа и от страстей человека” [цитировано по 33]. Действительно, стресс-реакция, сформировавшаяся в ходе эволюционного процесса как необходимое звено индивидуальной адаптации организма, при чрезмерно интенсивных или неадекватно длительных воздействиях сама может явиться источником органических и системных нарушений [76] от язвенной болезни желудка до стрессорных и ишемических поражений миокарда. Так, в 1958 г. Russek К. и соавт. показали, что длительный стресс предшествовал развитию сердечного приступа у больных ишемией в 91% случаев [цитировано по 33]. Исследования Kruhn и его коллег (1970) подтверждали предполагаемую зависимость между эмоциональным статусом, физиологическим состоянием и возникновением ишемической болезни сердца. В последующем появился ряд работ, связывающих эмоциональное и умственное напряжение с развитием сердечно-сосудистой патологии [33, 106, 109, 113, 116].

Понятие о стрессорном повреждении сердца как нозологическом феномене было впервые предложено в конце 50-х годов Г.Селье, который наблюдал у крыс, перенесших иммобилизационный стресс, транзиторные гистологические изменения, проявляющиеся “появлением очагов фуксинофилии” [241]. В экспериментах на обезьянах Ю.М. Репин и В.Г. Старцева обнаружили в нескольких случаях появление отрицательного зубца Т на ЭКГ и повышение активности трансаминаз в крови при реализации пассивно-оборонительной реакции [цитировано по 74]. Bernard Lown в своих работах развил теорию Селье и неопровержимо доказал, что эпизоды острого эмоционального напряжения часто приводят к значительным изменениям электрической стабильности сердца, снижению порога желудочковой фибрилляции

и могут спровоцировать внезапную остановку сердца [199]. Эти данные были подтверждены рядом исследователей [144, 181, 202, 265]

Однако, несмотря на большой интерес исследователей к проблеме стрессорного повреждения, исчерпывающего ответа на вопрос о патогенезе СПС не было дано. Еще в 1969 г. Селье высказал предположение о мультифакториальном характере формирования СПС [245]. В работе В.В.Малышева и соавт. [62] было установлено, что многие вещества - модуляторы различных функциональных систем организма - (пропранолол, ионол, гамма-оксимаслянная кислота) способны в значительной мере предупреждать стрессорное повреждение сердца. Однако ни одно из этих веществ не устраняло СПС полностью, поэтому следует согласиться с мнением Н.Selye о "плюрикаузальной" (многофакторной) природе стрессорной кардиомиопатии [245].

Первые исследователи использовали морфологические методы выявления повреждений, которые являются довольно наглядными, но не позволяют количественно оценить степень СПС [229, 242]. В 1977 году была опубликована работа Miller & Malov, в которой авторы предложили радиоизотопный метод количественной оценки диффузных повреждений миокарда, использующийся по сей день в экспериментальных исследованиях [210]. Данный метод позволяет не только выявить повреждения кардиомиоцитов при стрессе, но и успешно тестировать препараты на предмет их кардиопротекторной активности.

В настоящий момент наиболее аргументированной нам представляется концепция о том, что патогенез стрессорного повреждения складывается из нескольких звеньев:

1. Гиперактивация стресс-реализующих систем и прежде всего симпатико-адреналовой системы [76, 229, 244].

2. Подавление или несостоятельность стресс-лимитирующих систем, в том числе - эндогенной опиоидной системы [18, 41, 43, 75, 77].

3. Запуск мембранных и внутриклеточных механизмов стресса - изменение соотношения циклических мононуклеотидов в клетках миокарда; нарушение работы ионных каналов клеток сердца и, как следствие, сдвиг мембранных потенциалов

[89,120,121,269]; запуск “липидной триады” и активация перекисного окисления липидов (ПОЛ) в мембранах кардиомиоцитов [30,77,82,145]; изменение соотношения продуктов метаболизма арахидоновой кислоты [30,97,118]; сдвиг внутриклеточного метаболизма кардиомиоцитов в сторону преобладания процессов распада белков и нуклеиновых кислот над их ресинтезом [76,78,83,122].

Мы далеки от мысли, что вышеизложенный перечень патофизиологических факторов, участвующих в формировании СПС, является полным, так как этот список постоянно пополняется.

Поскольку страх и боль зачастую сами по себе являются стресс-факторами, обезболивающий и седативный эффект опиатов был причиной интереса к этим препаратам как к потенциально антистрессорным. Уже в ранних сообщениях по проблеме опиоидных нейропептидов отмечено увеличение уровня опиоидов в плазме крови, центральной нервной системе и спинно-мозговой жидкости при стрессе [10,11,102,193]. Позднее данные об активации опиоидной системы при стрессе были неоднократно подтверждены [28,41,105]. Однако, физиологическая роль такого изменения активности опиоидной системы при стрессе долгое время оставалась неясной.

В экспериментальных исследованиях удалось выяснить, что даларгин, смешанный агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -опиатных рецепторов, заметно подавлял гипертрофию надпочечников у стрессированных крыс [52]. Уменьшилось число образующихся язвенных поражений слизистой желудка, что указывало на наличие у даларгина стресс-лимитирующих свойств [36]. Наиболее интересными, на наш взгляд, явились эксперименты, в которых было показана способность даларгина снижать аккумуляцию  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс при стрессе [35,69]. Этот эффект предупреждался налоксоном. Вышеизложенные факты внесли ясность в вопрос о физиологической роли опиоидов при стрессе и убедительно доказали несомненное участие данной системы в предупреждении стрессорной патологии миокарда. Однако, оставались невыясненными рецепторные и патофизиологические механизмы опиатергической защиты сердца.

На наш взгляд, влияние опиоидной системы на процессы стрессорного повреждения сердца может опосредоваться различными путями:

1. Модуляция тонуса симпатического и парасимпатического звена вегетативной нервной системы и снижение кардиотоксического влияния катехоламинов на миокард.
2. Изменение уровня стресс-гормонов.
3. Изменение соотношения продуктов метаболизма арахидоновой кислоты (простаноидов и липоперекисей).
4. Снижение отношения вторичных внутриклеточных мессенджеров (цАМФ/цГМФ) в миокарде.
5. Предупреждение стресс-индуцированного снижения биосинтеза белка и нуклеиновых кислот.

Ниже мы попытаемся подробнее изложить имеющиеся в литературе данные о патогенезе стрессорного повреждения миокарда и влиянии опиоидной системы на различные патогенетические звенья этого процесса.

#### ВЛИЯНИЕ ЛИГАНДОВ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ НА ЗВЕНЬЯ СИМПАТИЧЕСКОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ И ЕЕ РОЛЬ В РАЗВИТИИ СТРЕСС-РЕАКЦИИ И ПОВРЕЖДЕНИИ МИОКАРДА

В 1959 году Г. Селье [244] указал на ключевую роль катехоламинов в патогенезе стрессорных повреждений. Работами Г.Селье [241-245], Rona G. [229] и рядом других авторов [145,167,169,181] было показано, что при введении больших доз норадреналина и его синтетического аналога изопротеренола развиваются мелкоочаговые некробиотические изменения миокарда, аналогичные тем, что наблюдаются при стрессорном повреждении сердца. Кардиотоксическое действие катехоламинов было подтверждено в экспериментах на изолированном перфузируемом сердце крыс. Так А.Р. Waldenstrom и соавт. (1978) [цитировано по 76] установили,

что возрастающие концентрации норадреналина, не изменяя коронарного протока, вызывают повреждение клеток сердца, выражающееся в снижении уровня АТФ и появлении в перфузате креатинкиназы и трансаминаз. Эти альтеративные изменения предупреждались введением  $\beta$ -блокаторов и верапамила, что свидетельствует о практически прямом повреждающем эффекте катехоламинов. С другой стороны, при стрессе имеет место снижение содержания катехоламинов в миокарде, надпочечниках и структурах головного мозга [28, 31, 59], обусловленное тем, что во время стресса выход катехоламинов из депо в кровоток и метаболизм их в органах-мишенях намного опережают их ресинтез. Повреждающая роль катехоламинов при стрессе подтверждается и тем фактом, что блокатор  $\beta$ -адренорецепторов пропранолол значительно увеличивал порог фибрилляции желудочков, сниженный в результате стрессорного воздействия [76]. Таким образом, на настоящий момент в литературе существует множество данных, косвенно указывающих на то, что в основе патогенеза стресс-индуцированного повреждения сердца лежит кардиотоксический эффект многократно увеличенной концентрации катехоламинов [28, 31, 59, 145, 167, 169, 181]. Каков же механизм кардиотоксического действия катехоламинов? Профессор Ф.З. Меерсон, являющийся одним из основоположников учения о патогенезе стрессорного повреждения сердца, выдвинул и обосновал каскадную теорию адренергической альтерации миокарда при действии экстремальных факторов [76].

Катехоламины, взаимодействуя с адренорецепторами, вызывают активацию аденилатциклазы, что в конечном счете ведет к увеличению образования в клетке цАМФ. Этот внутриклеточный мессенджер активирует протеинкиназу А,

фосфорилирующую белки медленного канала транспорта  $\text{Ca}^{2+}$  [252]. Увеличение интенсивности и длительности этого эффекта при стрессе обеспечивает усиленное поступление  $\text{Ca}^{2+}$  в кардиомиоциты. Ионизированный кальций в свою очередь активирует кальмодулин, являющийся одним из важнейших регуляторов функции и метаболизма клеток [269]. Действуя через единый механизм протеинкиназ, кальмодулин и цАМФ стимулируют гликолиз, а также ингибируют ресинтез гликогена [269]. Кроме того, катехоламины через цАМФ и кальмодулин оказывают липотропный эффект [29]: активируют основные процессы обновления липидного бислоя мембран кардиомиоцитов, а именно липолиз, фосфолиполиз и перекисное окисление липидов. Нарушение структуры мембран приводит к снижению активности  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФ-азы и увеличению проницаемости для  $\text{Ca}^{2+}$  поврежденных мембран саркоплазматического ретикулума. В саркоплазме кардиомиоцитов при этом нарастает избыток  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  и развивается дефицит  $\text{K}^+$  [87,120]. Такое изменение ионного баланса влечет за собой важные последствия для миокарда. Во-первых, оно может активировать совокупность процессов, составляющих липидную триаду и, таким образом, замыкать порочный круг, усугубляющий повреждение миокарда. Во-вторых, избыток  $\text{Ca}^{2+}$  обладает самостоятельным повреждающим действием - вызывает внутри клеток развитие комплекса патологических процессов, называемых кальциевой триадой. Кальциевая триада складывается из контрактуры миофибрилл, активации фосфолипаз и особенно протеаз, разрушающих диски миофибрилл, и нарушения окисления и фосфорилирования в перегруженных  $\text{Ca}^{2+}$  митохондриях [30,61,80]. В результате возникают стойкая контрактура и некроз отдельных групп кардиомиоцитов и выраженные нарушения сокращения и



расслабления сердца в целом. Стрессорное повреждение не ограничивается патологическими процессами в саркоплазме – свободно-радикальные продукты ПОЛ могут вызывать повреждение ДНК клеточных ядер [83].

Клинически весь комплекс названных изменений проявляется нарушением сократительной функции миокарда, падением сердечного выброса, снижением резистентности сердечной мышцы к гипоксии и нарушениями ритма сердца [76].

Для большинства кардиомиоцитов даже при тяжелом однократном воздействии этот комплекс стрессорных повреждений оказывается обратимым – система антиоксидантов “гасит” каскад свободно-радикальных реакций, в результате активации репаративных процессов компенсируются последствия ДНК-повреждений [83]. Однако, морфологические исследования показали, что в отдельных группах миофибрилл сохраняются контрактурные изменения с последующим переходом в некробиоз и очаговый кардиосклероз [229].

Столь подробное описание процессов, происходящих в кардиомиоцитах при их стрессорном повреждении, мы позволили себе с целью продемонстрировать в дальнейшем, что лиганды опиатных рецепторов способны влиять на различные звенья механизма альтерации клеток сердца и, тем самым, ослаблять их патологическое значение.

В первую очередь необходимо указать на то, что опиоиды влияют на периферическое звено САС, подавляя секрецию норадреналина из периферических нервных окончаний [142, 143, 161]. Подтверждением данным исследованиям служат работы Лишманова Ю.Б. и соавт. [35, 41] показавшие, что агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -ОР далаггин способен снижать стресс-индуцированное выделение КА с мочой, что трактуется авторами как антиадренергическое действие пептида. Однако, в работах Van Loon [174, 175, 191, 203, 261, 262]. показано, что при центральном введении агонисты ОР оказывают стимулирующее действие на САС: вызывают

тахикардию, увеличение артериального давления и уровня катехоламинов в плазме крови. Аналогичные результаты были получены рядом других авторов [140, 219, 250]. С другой стороны, показано, что морфин способен рецептор-опосредованно снижать спонтанную активность нейронов locus coeruleus - ядра, содержащего как тела большинства адренергических нейронов головного мозга, так и энкефалинергические нейроны [188], что предполагает тормозное влияние этого опиата на активность симпатической нервной системы. Как можно видеть, данные о влиянии опиоидов на САС зачастую противоречивы. Отчасти это происходит вследствие того, что авторами не исследуется рецепторная специфичность используемого лиганда и не учитывается локализация опиатных рецепторов. Последнее обстоятельство является важным, поскольку эффекты активации ОР в ЦНС и на периферии могут быть противоположными [68, 143, 261]. Немаловажным является то, что до настоящего времени не получено прямого доказательства тому, что кардиопротекторные эффекты опиатов при стрессе опосредуются через изменение активности САС.

Не менее важной точкой приложения действия опиоидов при экстремальных воздействиях является их влияние на соотношение цАМФ/цГМФ в миокарде. Как известно, высокий уровень цАМФ является одним из факторов, способствующих развитию повреждений кардиомиоцитов и возникновению желудочковой фибрилляции [214, 222]. Данные литературы [23, 41, 105, 137, 185, 186, 204], убедительно свидетельствуют о существовании тесных корреляций между эффектами опиоидных пептидов и уровнем циклических нуклеотидов в клетках миокарда. Так, например, показано, что внутривенная инъекция даларгина вызывала достоверное ослабление индуцированного острым инфарктом миокарда подъема уровня цАМФ в сердечной мышце, что косвенно указывает на снижение симпатического влияния на миокард при одновременном повышении тонуса парасимпатического отдела вегетативной нервной системы [260]. На содержание цГМФ даларгин действовал противоположным образом [65].

На первый взгляд можно предположить, что изменение уровня циклонуклеотидов может быть прямым следствием модуляции активности симпато-

адреналовой системы. Однако, ряд фактов указывают на то, что в механизм действия энкефалинов на характер адренергических процессов при стрессе включается и ограничение кардиотропного действия катехоламинов на уровне эффектора. Так, показано, что предварительная инъекция даларгина достоверно уменьшает аккумуляцию  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс не только при стрессе, но и после введения изадрина [41]. Авторы предполагают, что кардиопротекторный эффект даларгина при изадриновом некрозе, по-видимому, был связан с ограничением синтеза цАМФ - основного внутриклеточного мессенджера действия изадрина на сердце, так как после введения изопротеренола уровень цАМФ в миокарде крыс, получавших даларгин, был в 2 раза ниже, чем в группе изадрин-контроль. В другой работе Xiao R.-P. и соавт. на модели изолированных кардиомиоцитов показали антагонизм катехоламинов и ОП на уровне аденилатциклазы *in vitro*, опосредуемый через G-белки [275, 276].

Таким образом, можно с достаточной долей уверенности считать, что пептидергическое уменьшение уровня цАМФ, подъем концентрации цГМФ и снижение коэффициента цАМФ/цГМФ в миокарде способствуют своеобразной десенситизации миокардиоцитов к адренергическим воздействиям, повышая тем самым толерантность сердца к адреналовым, стрессорным и, вероятно, ишемическим повреждениям, имеющим тесные патогенетические взаимосвязи.

#### ВЛИЯНИЕ ОПИОИДОВ НА УРОВЕНЬ МИНЕРАЛ- И ГЛЮКОКОРТИКОИДОВ ПРИ СТРЕССЕ

На настоящий момент в литературе существует множество данных, подтверждающих, что в основе повреждающего действия стресс-реакции лежит кардиотоксический эффект катехоламинов [76]. Между тем, нельзя полностью отрицать и другие механизмы возникновения стресс-индуцированных повреждений. На роль повреждающих агентов могут претендовать, в частности, минералкортикоиды. Так, Г.Селье наблюдал у 80% животных, получавших сочетанный курс минерал- и глюкокортикоидов развитие кардиомиопатии и сердечной недостаточности [243]. Этим же автором показано, что диффузный тип

повреждения миокарда, на практике получивший название “пятнистый кардиолизис”, с большой вероятностью может возникать при комбинации норадреналина и кортикоидов [244]. На основании этих данных можно предположить, что минерал- и глюкокортикоиды могут играть важную роль в формировании повреждения сердца при стрессе, так как их наибольший альтеративный эффект проявляется при наличии высокой концентрации катехоламинов, имеющей место в условиях стресса.

Поскольку активация системы эндогенных нейропептидов при стрессе является, по-видимому, частью общей реакции организм на чрезвычайные воздействия, не является неожиданностью параллелизм реакции АКТГ и эндорфинов при стрессе [94, 133, 164, 171, 168, 235, 266], сопряженность изменений содержания опиоидных олигопептидов и катехоламинов в хромоаффинной ткани адреналовых желез [11, 158]. Это представление подтверждается также преимущественной локализацией опиоидных рецепторов и их лигандов в эмоциогенных зонах [10, 128], в отделах ЦНС, ответственных за регуляцию боли [192, 251] и эндокринных функций [179, 231], в железах внутренней секреции, то есть в структурах, имеющих приоритет в формировании стресс-реакции.

Однако, среди исследователей нет единства в оценке характера влияний опиоидов на функции гипофиз-адреналовой системы. Так, одни авторы отмечают опиатергическую стимуляцию синтеза кортикостероидов [140], другие - снижение секреции надпочечниковых гормонов [7, 24, 154, 226, 233, 258] или отсутствие заметных изменений при повышении уровня лигандов опиоидных рецепторов [91]. Достоверно установлено модулирующее влияние опиоидов на секрецию соматотропного гормона и пролактина [104, 151, 194], играющих важную роль в реакциях стресса и экстренной адаптации.

В экспериментальных исследованиях показано, что введение экзогенного энкефалина снижало стресс-индуцированное увеличение количества иммунореактивного альдостерона в крови крыс [40, 41, 52, 55]. Подобные изменения являлись, несомненно, проявлениями стресс-лимитирующего действия опиоидных пептидов. Небезынтересны клинические данные, полученные проф.

Ю.Б.Лишмановым. Этим исследователем, на примере инфаркта миокарда и психогенной депрессии, было показано параллельные изменения у пациентов содержания  $\beta$ -эндорфина и альдостерона [53].

Таким образом, вовлечение эндогенных опиоидов в реакцию экстренной адаптации несомненно. Однако вопрос о функциональной роли опиоидной системы при экстремальных состояниях в настоящее время является дискуссионным. Так, имеются сведения об улучшении состояния животных при шоке на фоне блокады опиатных рецепторов налоксоном [141,173], о снижении общей смертности после острой коронароокклюзии у крыс на фоне введения налоксона [200]; в других сообщениях, напротив, отмечено увеличение сроков выживания кроликов при инъекции в шоковом периоде аналога энкефалинов и уменьшение продолжительности жизни животных после введения налоксона [123].

Наиболее вероятным, по-видимому, является предположение о способности опиоидных пептидов уменьшать проявления “патологического” стресса [154]. В пользу этого свидетельствуют литературные данные, большая часть которых получена в последние годы. Так, показано, что опиаты ускоряют заживление экспериментального инфаркта миокарда [5], стимулируют репарацию повреждений других тканей [26] и обладают противовоспалительным эффектом [240]. Имеются также работы о положительном влиянии энкефалинов на течение инфаркта миокарда у пациентов и экспериментальных животных, что выражается уменьшением степени метаболических нарушений [249].

#### ВКЛАД МЕТАБОЛИТОВ АРАХИДОНОВОЙ КИСЛОТЫ В ПАТОГЕНЕЗ СТРЕССОРНЫХ ПОВРЕЖДЕНИЙ МИОКАРДА И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ С ЛИГАНДАМИ ОР

Как было указано ранее, важнейшим следствием избытка внутриклеточного  $Ca^{2+}$  и запуска так называемой липидной триады при стрессе является активация перекисного окисления липидов. Интенсификация ПОЛ при действии экстремальных факторов обусловлена, по большей части, повышенным выбросом катехоламинов, так как было показано усиление процессов пероксидации при

введении экзогенного адреналина [30]. Катехоламины через цАМФ и кальмодулин активируют основные процессы обновления липидного бислоя мембран кардиомиоцитов, а именно липолиз, фосфолиполиз и перекисное окисление липидов [30, 76], как это было описано выше. Активация ПОЛ при избытке катехоламинов может реализоваться и другими путями: во-первых, активные формы кислорода образуются на одном из этапов биосинтеза катехоламинов, во-вторых, при окислении адреналина в адренохром возникает семихинон адреналина, который может отдавать электрон кислороду, генерируя при этом супероксидный радикал - важный индуктор ПОЛ.

На данный момент общепринятым является мнение о том, что происходящее при стрессе смещение баланса про- и антиоксидантных процессов в сторону образования продуктов ПОЛ [76, 145, 187, 259] является неотъемлемой частью патогенеза повреждений миокарда. Так, например, показано, что активация перекисного окисления липидов, вызванная 24 часовой иммобилизацией у свиней сопровождалась повреждением ультраструктуры митохондрий и уменьшением митохондриальной АТФ [145]. По данным Ф.З. Меерсона, антиоксидант ионол оказывал кардиопротекторный эффект при стрессе, что не оставляет сомнений в том, что процессы ПОЛ являются важным звеном патогенеза СПС [76, 81, 82].

Вторым по значимости следствием липидной триады является усиленное образование эйкозаноидов, биосинтез которых лимитируется доступностью исходного субстрата - арахидоновой кислоты, а она, в свою очередь, активно освобождается под влиянием липаз и фосфолипаз. Метаболиты арахидоновой кислоты обратили на себя внимание тем, что их содержание в плазме изменяется при ишемической болезни сердца [3, 206] и, прежде всего во время приступов стенокардии и при остром инфаркте миокарда [160, 255, 270]. Особый интерес вызвали тромбоксан  $A_2$  (с его метаболитом 6-кето- $PgF_{2a}$ ) и простаглицлин ( $PgI_2$ ). При остром инфаркте миокарда увеличивается количество тромбоксана, обладающего вазоконстрикторными свойствами, активирующего агрегацию тромбоцитов и общепризнанного как медиатор повреждения кардиомиоцитов при ОИМ [160, 255, 270]. Простаглицлин, напротив, является вазодилататором и обладает

кардиопротекторными свойствами [153]. Эти факты побудили исследователей к созданию антиишемических препаратов на основе энзиморезистентных аналогов простаглицлина и ингибиторов синтеза тромбосана. Как оказалось, антагонисты тромбосановых рецепторов (SQ-29,548) [138], а также ингибиторы тромбосансинтеза (CV-4151, дазмегрель) [178,150] способны защищать миокард от ишемических повреждений.

Простаглицлин, являющийся физиологическим антагонистом тромбосана, и его стабильные аналоги (илопрост, ВМУ-42) оказывают кардиопротекторный эффект при ишемии миокарда [153] и способны предупреждать постишемическую желудочковую фибрилляцию и внезапную сердечную смерть, повышая устойчивость миокардиальных мембран [183]. Следует особо отметить тот факт, что простаглицлин и его производное 7-оксо-PgI<sub>2</sub> могут предупреждать изадриновые повреждения миокарда [189]. На основании изложенных фактов можно предположить, что простаглицлин играет важную роль в защите миокарда при стрессе, ведь при введении адреналина мы, в какой-то мере, модулируем ситуацию, сходную со стрессовой. Однако данное предположение остается до сих пор лишь гипотезой, так как отсутствуют прямые доказательства кардиопротекторного действия простаглицлина при стрессе. Несмотря на многочисленные косвенные свидетельства возможной роли простаноидов в механизмах повреждения сердца, при стрессе они изучены недостаточно. Так, в литературе отсутствуют работы, убедительно доказывающие протекторное либо "кардиотоксическое" действие простаноидов или блокаторов их синтеза в условиях стресса. Полностью подтвердить или опровергнуть предположение о роли эйкозаноидов в формировании стресс-индуцированного повреждения, либо повышения устойчивости миокарда к стрессу смогут лишь данные об эффектах блокаторов тех или иных звеньев синтеза компонентов системы арахидоновой кислоты. Принимая во внимание вышеприведенные факты, можно лишь предположить, что система простаноидов может играть значительную роль в процессах стрессорного повреждения миокарда, однако вопрос об их участии в механизме формирования повреждений при стрессе и/или защите миокарда от действия экстремальных

факторов остается открытым. В связи с этим, значительная часть представленной работы посвящена изучению роли метаболитов арахидоновой кислоты в патогенезе стрессорного повреждения кардиомиоцитов.

В ряде проведенных ранее исследований были предприняты попытки связать кардиопротекторный эффект опиоидов и их влияние на образование и баланс продуктов метаболизма арахидоновой кислоты. Так, после инъекции даларгина было обнаружено значительное изменение соотношения простаглицлин/тромбоксан при стрессе [54, 57], сопровождающееся уменьшением степени повреждения миокарда. Другими исследователями [240] было показано, что гастропротекторный эффект опиоидов блокировался ингибитором циклооксигеназы индометацином. Эти факты позволили авторам предположить, что кардиопротекторное действие лигандов опиатных рецепторов может быть опосредовано через систему простаглицлинов. Однако, с полным правом утверждать, что эйкозаноиды опосредуют кардиотропные эффекты опиоидной системы лишь после экспериментов с блокаторами синтеза эйкозаноидов на фоне действия лигандов опиатных рецепторов. К сожалению, таких работ мы в литературе не встретили.

Кроме того, в исследованиях, проведенных ранее было показано, что агонист  $\mu$  и  $\delta$ -опиатных рецепторов даларгин предупреждает стресс-индуцированное увеличение образования продуктов перекисного окисления липидов и угнетение биосинтетических процессов в кардиомиоцитах [41, 43, 46, 51, 54]. Мы склонны расценивать эти данные, как дополнительный аргумент в пользу того, что опиоиды непосредственно принимают участие в патологических процессах, происходящих в миокарде при стрессе. Однако, к сожалению, в указанных работах практически не исследовалась рецепторная специфичность действия использованных лигандов ОР.

#### ПОНЯТИЕ ОБ АДАПТАЦИОННОЙ ЗАЩИТЕ СЕРДЦА И СТРЕСС-ЛИМИТИРУЮЩИХ СИСТЕМАХ

На наш взгляд, учитывая вышеизложенные факты, не остается сомнений в том, что стрессорное повреждение миокарда само по себе является серьезной патологией миокарда и может повлечь за собой фатальные осложнения таких распространенных



сердечно-сосудистых заболеваний как ишемическая болезнь сердца и др. Вопрос защиты миокарда от повреждающего действия стресса был и остается на сегодняшний день достаточно актуальным. Многие исследователи склоняются к мысли о том, что одним из наиболее оптимальных и физиологичных путей повышения резистентности сердца к экстремальным воздействиям является так называемая адаптационная защита сердца [75-79, 84-86, 88]. Под адаптационной защитой сердца понимается индуцированная адаптационным воздействием повышенная резистентность миокарда к повреждающему действию экстремальных факторов. Предполагается, что такая резистентность обусловлена активацией так называемых стресс-лимитирующих систем, ограничивающих стресс-реакцию при последующем стрессорном воздействии [75-79].

В нашей стране учение об адаптационной защите сердца получило развитие, благодаря работам профессора Ф.З.Меерсона, который постулировал существование так называемых стресс-лимитирующих систем. Он подразделил на две группы: центральные, к которым относятся ГАМК-ергическая, опиоидергическая, серотонинергическая; и периферические, в число которых входят системы антиоксидантов, простагландинов, адениннуклеотидов [75]. Повышение активности центральных СЛС тормозит формирование инертно-возбужденных центров, индуцирующих аритмии [75, 77, 79]. Аналогичным образом стимуляция периферических СЛС ограничивает аритмогенные эффекты стресса, действуя главным образом на уровне сердца [82, 84, 85]. Отсутствие фибрилляции желудочков у больных с острым инфарктом миокарда, по мнению Ф.З.Меерсона, связано с адекватным функционированием СЛС, а функциональная неполноценность СЛС может предопределять возникновение желудочковых аритмий.

Серотонинергическая система - относится к центральным СЛС и ограничивает активность адренергических центров головного мозга [75, 77]. Совместное введение в организм предшественника серотонина - триптофана, ингибитора окисления серотонина - фенелзина и блокатора синтеза этого нейротрансмиттера на периферии приводило к накоплению этого биологически активного амина в

головном мозге. Такое фармакологически детерминированное накопление серотонина в нервной ткани обеспечивало достоверное повышение порога ЖФ. К аналогичному эффекту приводило введение в организм синтетического энзиморезистентного аналога серотонина.

ГАМК-ергическая система. В недавних исследованиях, выполненных в лаборатории Ф.З.Меерсона, было показано, что уменьшение частоты возникновения аритмий и ферментемии, вызванной повреждением кардиомиоцитов при стрессе, может быть достигнуто путем активации ГАМК-ергической системы. В этих работах установлено, что адаптация к коротким иммобилизационным воздействиям сопровождалась достоверным повышением содержания ГАМК в полушариях головного мозга, активацией ключевого фермента биосинтеза ГАМК - глутаматдекарбоксилазы и при этом достоверно снижала частоту возникновения вентрикулярных аритмий и повышала порог ЖФ при ОИМ [86, 96]. Введение же метаболита ГАМК-ергической системы - ГОМК предупреждало стрессорные повреждения органов. Таким образом, от состояния центральных СЛС во многом зависит возникновение или предупреждение поражений миокарда при стрессе.

К сожалению, концепция Ф.З. Меерсона в некоторых своих разделах носит компилятивный или гипотетический характер, не имея прямых экспериментальных доказательств. В частности, при выдвигании на роль стресс-лимитирующей какой-либо эндогенной функциональной системы (например, ГАМК-ергической) системы не проводятся эксперименты с ее блокаторами, что не позволяет достоверно судить о ее роли в формировании повышенной устойчивости миокарда к повреждению.

Кроме того, имеющиеся данные пока не позволяют определенно сказать, какая из выше охарактеризованных систем играет ключевую роль и согласует работу всех СЛС. По нашему мнению, на роль такого координатора, может претендовать эндогенная опиоидергическая система. В подтверждение данного предположения можно привести следующие аргументы: во-первых, известно что уровень опиоидных пептидов увеличивается при стрессе и повышен у адаптированных животных [36, 37, 48, 50, 254]; во-вторых, некоторые опиоиды обладают антистрессорной и кардиопротекторной активностью [35, 40, 52, 53, 84, 88, 93];

в-третьих, лиганды опиатных рецепторов проявляют высокую кардиоваскулярную активность [136, 157, 165] и в-четвертых, ОП являются нейромодуляторами и регулируют секрецию практически всех нейротрансмиттеров и гормонов [4, 31, 39, 114, 258, 261, 262]. Поэтому, на наш взгляд, эндогенная опиоидная система является одним из наиболее вероятных претендентов на роль ведущей стресс-лимитирующей системы. Помимо уже изложенных данных, при выдвижении опиоидной системы на роль стресс-лимитирующей важно учитывать и результаты экспериментов с блокаторами ОР, показывающие, что предварительная блокада опиатных рецепторов различных типов в той или иной степени способна устранять такие кардиотропные эффекты адаптации как антиаритмический, антифибрилляторный и кардиопротекторный [37, 41, 42, 49, 50, 67]. На наш взгляд, эти факты являются неоспоримым доказательством ведущей роли опиоидной системы в формировании адаптационной устойчивости миокарда к действию экстремальных факторов.

Таким образом, кратко резюмируя вышеизложенное, мы можем констатировать, что лиганды опиатных рецепторов:

1. обладают антистрессорной и кардиопротекторной активностью;
2. способны влиять на различные звенья стресс-реакции и патогенеза стрессорного повреждения миокарда;

Однако, во-первых практически неизучена рецепторная специфичность данных эффектов; во-вторых - в литературе нам не встретилось работ, в которых авторы исследовали бы кардиотропные эффекты опиатов после предварительной фармакологической блокады вышеописанных стресс-лимитирующих либо стресс-реализующих систем. Поэтому, изучению рецепторной специфичности и механизмов кардиопротекторного влияния лигандов опиатных рецепторов посвящена настоящая работа.

## Глава 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

### 2.1. Препараты и животные.

Работа выполнена на 1023 крысах-самцах линии Вистар (Томск, питомник “Рассвет”). Животные содержались в стандартных условиях вивария, в условиях естественного светового режима, они получали стандартную лабораторную диету и воду *ad libitum*. При проведении экспериментов мы руководствовались рекомендациями, изложенными в Приказе N 755 МЗ СССР от 12 августа 1977 г. Умерщвление животных проводили декапитацией под легким эфирным наркозом. В таблице 1 приводится распределение животных по сериям экспериментов.

В таблице 2 указаны использованные в работе препараты. Все препараты, за исключением DuP734 перед введением растворяли в изотоническом растворе NaCl. Навеску DuP734 предварительно суспендировали в 0,5 мл Tween 80, затем добавляли 5 мл 0,9% NaCl. Все растворы готовили *ex tempore* в день эксперимента. Использованные в работе дозы препаратов указаны в тексте соответствующих разделов главы 3. При выборе доз лигандов опиатных рецепторов мы руководствовались ранее опубликованными данными о ранее обнаруженной антиаритмической, либо антиноцицептивной активности ниже перечисленных соединений [41, 44, 46, 47, 64, 66, 68, 129, 139, 198, 208, 209, 217, 237, 246, 248, 257, 268].

Таблица 1

## Распределение животных по сериям экспериментов

№№	СЕРИИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ	Количество животных
1	Группа интактных животных	196
2	Группа стресс-контроля	223
3	Изучение роли центральных и периферических $\mu$ -, $\delta$ -, $\sigma$ - и $\kappa$ -субтипов опиатных рецепторов в регуляции устойчивости миокарда к повреждающему воздействию стресса	203
	а) по поглощению $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата	70
	б) по порогу фибрилляции желудочков	
4	Изучение роли вегетативной нервной системы в реализации опиатергических влияний на устойчивость миокарда к стресс-индуцированным повреждениям	166
5	Исследование роли простаноидов в механизмах опиоидной защиты миокарда при стрессе	56
6	Выявление участия липоперекисей в механизмах опиатергической защиты миокарда при стрессе	34
7	Изучение возможной взаимосвязи кардиопротекторного действия опиоидов с процессами биосинтеза белка при стрессе	75

## Использованные в работе препараты

Название препарата	Формула	Производитель
1. Лиганды опиатных рецепторов		
Тетрапептид-амид	(Tyr-D-Ala-Phe-Phe-NH <sub>2</sub> ) селективный агонист $\mu$ -ОР [236]	предоставлен профессором P.W. Schiller, (Clin. Res. Institute of Montreal, Канада),
DAGO	([D-Ala <sup>2</sup> , N-Me-Phe <sup>4</sup> , Gly <sup>5</sup> -ol]-enkephalin) селективный агонист $\mu$ -ОР [190,248]	"Chiron Mimotopes Peptide Systems" (San-Diego, США),
DALDA	([D-Arg <sup>2</sup> , Lys <sup>4</sup> ]-dermorphin-(1-4)-amide) селективный агонист $\mu$ -ОР [237]	предоставлен профессором P.W. Schiller, (Clin. Res. Institute of Montreal, Канада),
PL017	(H-Tyr-Pro-Phe (N-Me) -D-Pro-NH <sub>2</sub> ) селективный агонист $\mu$ -ОР [143,148]	"Chiron Mimotopes Peptide Systems" (San-Diego, США),
DSLET	([D-Ser <sup>2</sup> , Leu <sup>5</sup> , Thr <sup>6</sup> ]-энкефалин, агонист $\delta$ -ОР [129,162]	"БиоПро" (Новосибирск);
СТАР	(H-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-Pen-Thr-NH <sub>2</sub> ) селективный блокатор $\mu$ -ОР [217,247]	"Chiron Mimotopes Peptide Systems" (San-Diego, США),
Налтрексон	блокатор $\mu$ -опиатных рецепторов [209]	«Sigma», St.Louis США
Налоксон	неселективный блокатор опиатных рецепторов [173]	«Sigma», St.Louis США
Налтрексон метилбромид	блокатор $\mu$ -опиатных рецепторов, не проникает через ГЭБ [139]	"Boeringer Ingelheim" (Ingelheim am Rhein, Германия).
ICI-174,864	ингибитор $\delta$ -рецепторов (N,N-dial-Alyl-Tyr-Aib-Aib-Phe-LeuOH), где Aib - alpha-aminoisobutyric acid, [152]	"Chiron Mimotopes Peptide Systems" (San-Diego, США),
(+)SKF-10,047	N-allylnormetazocine, агонист $\sigma$ -рецепторов [246,256]	предоставлен доктором W.K.Schmidt (Du Pont Merck Pharmaceutical Co., США),

DUP734	(1-(cyclo-propylmethyl) -4-(2`-(4``-fluorophenyl-2`-oxoethyl) piperidine HBr - селективный блокатор $\sigma$ -опиатных рецепторов [257]	DuP734 был предоставлен Dr.P.Gilligan (DuPont Merk Sharp, США)
U-50,488	Селективный агонист $\kappa$ -ОР ({trans-3,4-dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl) cyclohexyl]-benzeneacetamide}) [132,267,268]	предоставлен доктором P.F.VonVoigtlander (Upjohn Company, США),
(U-62066E) (спирадолин)	(5 $\alpha$ , 7 $\alpha$ , 8 $\beta$ ) - (+) -3,4-dichloro-N-methyl-N-(7-(1-pyrrolidinyl)-1-oxaspiro-(4,5)dec-8-yl) - benzeneacetamide селективный агонист $\kappa_1$ рецепторов [267,268]	предоставлен доктором Dr.P.F.VonVoigtlander (The Upjohn Company, США)
MR 2266	((-)-5,9 $\alpha$ -diethyl-2-(3-furylmethyl)-2'-hydroxy - 6,7-benzomorphan блокатор $\kappa$ -ОР [195]	Предоставлен компанией Boehringer Ingelheim KG (Германия).
Норбиналторфимин	селективный блокатор $\kappa$ -ОР	Предоставлен Research Triangle Institute, (Research Triangle Park, США)
2. Адреномодуляторы		
Гуанетидин	(1-[2-Guanidinoethyl] octahydroazocine) monosulfate блокатор синтеза катехоламинов [124]	«Sigma», St.Louis США
Бретилийум	[o-Bromobenzyl] ethyldimetylammonium -p-toluenesulphonate] ингибитор выброса катехоламинов [130]	«Sigma», St.Louis США
Изадрин	агонист $-\beta$ -адренорецепторов [73]	«Sigma», St.Louis США
Тирамин	препарат, усиливающий выброс КА из адренергических депо	Reanal
Клоргилин	ингибитор моноаминоксидазы [170]	«Sigma», St.Louis США
3. Блокаторы циклооксигеназы и биосинтеза белка		

Индометацин	1-[p-Clorobenzoyl]-5-methoxy-2-methylindole-3-acetic acid [73,118]	«Sigma», St.Louis, США
Циклопексимид	ингибитор биосинтеза белка [156]	"Sigma", St.Louis, США
4. Ингибиторы нейтральной эндопептидазы (энкефалиназы)		
Ацеторфан,	[ (RS) CH <sub>3</sub> -COS-CH <sub>2</sub> -CH (CH <sub>2</sub> ) <sub>9</sub> CONH-CH <sub>2</sub> -CO <sub>2</sub> CH <sub>29</sub> ] ингибитор нейтральной эндопептидазы 24.11 - энкефалиназы [197,230]	Предоставлен проф. J.-C. Schwarz (Centre Paul Broca de l'INSERM, Франция
RB101	ингибитор нейтральной эндопептидазы 24.11 - энкефалиназы [230]	Предоставлен проф. B.Roque l'INSERM, Франция

## 2.2. Моделирование стрессорного повреждения сердца

Методом стрессорного воздействия в нашем исследовании явилась длительная иммобилизация. Лишение животного возможности свободно передвигаться является для него сильным стрессирующим фактором [22]. В наших исследованиях животных находящиеся под легким эфирным наркозом фиксировали липкой лентой за конечности в положении на спине. Продолжительность воздействия составляла 24 часа с момента окончания действия эфирного наркоза.

## 2.3. Методика воспроизведения изадринового повреждения миокарда

Одним из основных факторов, повреждающих миокард при стрессе, является выброс избыточных количеств катехоламинов и их токсическое действие на кардиомиоциты. Мы моделировали данный компонент стресс-синдрома подкожным введением субтоксических доз (80 мг/кг) изопротеренола (изадрин), как наиболее активного синтетического катехоламина длительного действия [73].



## 2.4. Методы оценки повреждений сердца

Для оценки степени повреждения сердца использовали метод включения  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в ткань сердца и определение порога фибрилляции желудочков.

### 2.4.1. Оценка повреждений сердца по аккумуляции $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в ткани миокарда

Для количественной оценки повреждения сердца мы использовали определение степени интенсивности включения в миокард меченого радиоактивным технецием пирофосфата. Накопление  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в поврежденных кардиомиоцитах широко используется для диагностики диффузного повреждения кардиомиоцитов [210] поскольку в здоровую ткань миокарда  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ включается лишь в следовых количествах. Данным методом мы количественно исследовали как степень повреждения кардиомиоцитов, так и эффективность антистрессорного влияния препаратов в отношении защиты сердца [62].

Приготовление радиоизотопной метки  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ производили непосредственно перед исследованием. С этой целью использовали пертехнетат- $^{99m}\text{Tc}$ , получаемый из стерильного молибденового генератора  $^{99}\text{Mo}$  и лиофилизированный пирофосфат ("Пирфотех", компания "Изотоп", Россия). Приготовление метки осуществляли в соответствии с инструкцией фирмы-изготовителя.

Непосредственно после окончания стрессорного воздействия в бедренную вену животных вводили 25 мкКи препарата  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ на 100 г тела. По истечении 100 мин у крыс под эфирным наркозом извлекали миокард, который немедленно промывали через аорту 10 мл холодного физиологического раствора, осушали, взвешивали и радиометрировали. Радиометрию извлеченных образцов миокарда проводили на гамма-счетчике "Гамма-1" (Россия). Параллельно измеряли радиоактивность вводимой дозы для коррекции результатов на величину физического распада радионуклида. Расчет поглощенной дозы (ПДС) проводили по формуле:

$$ПДС = \frac{СРМ}{доза} \times \frac{m_{сердца}}{m_{тела}}$$

где СРМ - показатель счетчика (радиоактивность образца) за 1 минуту;

$m_{сердца}$  - масса миокарда;

$m_{тела}$  - масса тела животного до эвтаназии;

доза - радиоактивность вводимой одному животному дозы радиофармпрепарата.

#### 2.4.2. Способ определения порога желудочковой фибрилляции

Для определения порога фибрилляции желудочков сердце раздражали прямоугольными электрическими импульсами анодального тока длительностью 2 мс в уязвимую фазу сердечного цикла с помощью отечественного кардиостимулятора ЭС-50-1. За величину ПФЖ принимали минимальную силу тока при которой возникает фибрилляция желудочков. Порог желудочковой фибрилляции является косвенным показателем повреждения кардиомиоцитов и дает полуколичественную оценку кардиопротекторных свойств исследуемых препаратов [82, 107].

## 2.5. Методика интрацеребровентрикулярного введения препаратов

Для интрацеребровентрикулярного введения препаратов в боковой желудочек мозга крыс за 5-7 дней до эксперимента имплантировали полую канюлю из нержавеющей стали, которую фиксировали на поверхности черепа с помощью стоматологического цемент-фосфата. Операцию выполняли под барбитуровым наркозом (50 мг/кг внутривенно) с помощью стереотаксического аппарата СЭЖ-5 (НПО "Конструктор", Киев, Украина). При этом использовали следующие координаты: AP-1.5 мм, L+2.0 мм, V-3.5 мм относительно брегмы [215, 216]. Перед декапитацией всем животным для уточнения локализации канюли производили интрацеребровентрикулярное введение 5 мкл метиленового синего. Препараты вводили в объеме 20 мкл со скоростью 5 мкл/мин.

## 2.6. Биохимические методы исследования

### 2.6.1. Определение общей интенсивности биосинтеза белка с применением радиоизотопной метки

Меченый тритием лейцин-<sup>3</sup>H (Россия, "Изотоп") в дозе 500 мкКи/100 г массы вводили животным внутривенно за 1 ч до декапитации, как рекомендовано в литературе [119, 238]. Миокард извлекали, отмывали от крови и быстро замораживали в жидком азоте. Навески тканей гомогенизировали в 10% ТХУ, центрифугировали и повторно промывали в 5% ТХУ. Для удаления нуклеиновых кислот образцы прогревали на водяной бане при +90°C в течение 20 мин. Липиды удаляли промыванием смесью спирт этиловый : эфир (соотношение 1:1), затем эфиром. Пробы в объеме 0,2 мл наносили на микропоровые фильтры с диаметром пор 0,1-0,2 мкм (Томск, НИИЯФ), промывали 5 мл 5% ТХУ. Фильтры с белковым осадком помещали во флаконы сцинтилляционного счетчика. Радиоактивность миокардиальных белков измеряли на сцинтиляционном β-счетчике Mark-3 (США) с использованием стандартного диоксанового сцинтилляционного раствора ЖС-8. Интенсивность биосинтеза белка определяли по формуле:

$$X = \frac{CPM}{m \times t} \text{ (имп / мин / мг);}$$

где CPM - счет образца;

m - масса навески миокарда;

t - время счета.

#### 2.6.2. Определение продуктов перекисного окисления липидов

Для оценки интенсивности процессов перекисидации в ткани миокарда определяли уровень малонового диальдегида и содержание диеновых конъюгатов в плазме крови и ткани миокарда.

Определение содержания малонового диальдегида в плазме крови проводили методом Yagi K. [277] в модификации Коробейниковой Э.Н. [32] с применением фосфорно-вольфрамовой кислоты. Принцип метода: при нагревании в кислой среде часть продуктов ПОЛ, относящихся к классу эндоперекисей, разлагается с образованием малонового диальдегида, взаимодействие которого с двумя молекулами тиобарбитуровой кислоты приводит к формированию комплекса, окрашенного в розовый цвет [277]. К 0,25 мл плазмы крови добавляли 2,5 мл 20% фосфорно-вольфрамовой кислоты, пробирки закрывали пробками, перемешивали и оставляли на холоде на 15 минут до образования крупных хлопьев, затем пробирки центрифугировали с охлаждением при 4°C 15 минут при 2500 об/мин. Надосадочную жидкость сливали, к осадку приливали 1 мл дистиллированной воды и 0,5 мл 0,8% тиобарбитуровой кислоты, приготовленной ex tempore (80 мг тиобарбитуровой кислоты растворяли в 5 мл дистиллированной воды при нагревании, охлаждали и доводили объем до 10 мл ледяной уксусной кислотой), перемешивали, регистрировали pH, закрывали пробками и инкубировали 1 час на водяной бане при температуре 99 - 100°C. После окончания инкубации пробы охлаждали центрифугировали 10 минут при 6000 об./мин. В центрифугате с помощью спектрофотометра СФ-26 регистрировали оптическую плотность при длинах волн 535 и 580 нм против контроля, содержащего 1 мл дистиллированной воды и 0,5 мл

тиобарбитуровой кислоты. Концентрацию малонового диальдегида рассчитывали по формуле:

$$C = 0,21 + 26,5 \Delta D, \text{ где}$$

C - концентрация малонового диальдегида (нмоль/мл)

D - оптическая плотность центрифугата

$$\Delta D = D_{535} - D_{580}.$$

Определение содержания малонового диальдегида в ткани миокарда. Принцип метода тот же, что и для определения МДА в плазме крови. Навески ткани миокарда гомогенизировали в 1мл трис-буфера pH=7,4 (1,82 г трис-HCl растворяли в 0,5 л дистиллированной воды и добавляли 3,73 г KCl), гомогенат переносили в стеклянные пробирки, ступку ополаскивали 1 мл буфера, в пробирки добавляли по 2 мл 30% трихлоруксусной кислоты и 1 мл 0,75% тиобарбитуровой кислоты (приготовление аналогично предыдущему методу). Пробирки закрывали пробками и инкубировали 15 минут на водяной бане при температуре 99 - 100°C. После инкубации пробирки охлаждали и центрифугировали 15 минут при 3000 об./мин. В центрифугате регистрировали с помощью спектрофотометра СФ-26 оптическую плотность при длине волны 535 нм против контроля, содержащего 1 мл дистиллированной воды и 0,5 мл тиобарбитуровой кислоты. Расчет концентрации МДА производили с учетом коэффициента молярной экстинкции, равным  $1,56 \cdot 10^5$  ммоль<sup>-1</sup> см<sup>-1</sup> в нмоль /г ткани [32].

Определение содержания диеновых конъюгатов в плазме крови. Определение содержания диеновых конъюгатов осуществляли по методу J.L.Bollard & H.P.Koch в модификации В.Б.Гаврилова и М.И.Мишкорудной [17]. Принцип метода основан на интенсивном поглощении конъюгированных диеновых структур

гидроперекисей липидов в области 232 - 234 нм [135]. В стеклянные пробирки к 0,2 мл плазмы крови добавляли 4 мл смеси гексан : изопропанол в соотношении 3 : 2 (экстракция по методу Плацера [220,221]), пробирки закрывали пробками и встряхивали в течение 10 - 15 минут. Затем в пробирки добавляли по 1мл HCl (pH=2) и по 2 мл гексана, пробирки закрывали, встряхивали и выдерживали 20 - 30 минут. По прошествии этого времени верхний гексановый слой отбирали и измеряли его оптическую плотность при длине волны 233 нм с помощью спектрофотометра СФ-26 против контроля, содержащего вместо плазмы 0,2 мл дистиллированной воды и подвергнутого всем вышеперечисленным методам обработки.

Расчет содержания диеновых конъюгатов производили в относительных единицах по формуле:

$$\Delta D_{233} / 1ml = \frac{D_{233} \cdot V_e}{V_p} = 20 \cdot D_{233}, \text{ где}$$

$D_{233}$  - измеренное значение оптической плотности,

$V_e=4$  мл - конечный объем гексанового экстракта,

$V_p=0,2$  мл - объем взятой плазмы крови.

Определение содержания диеновых конъюгатов в ткани миокарда. Принцип метода аналогичен предыдущему определению. Навеску ткани гомогенизировали в 3 мл трис-буфера (pH=7,4). В стеклянные пробирки к 0,5 мл гомогената добавляли 4,5 мл смеси гексан : изопропанол в соотношении 3 : 2. Далее определение проводили так же, как и в плазме крови.

Расчет содержания диеновых конъюгатов в ткани миокарда производили в относительных единицах по формуле:

$$\Delta D_{233} / 1mg = \frac{D_{233} \cdot V_e}{m \div 6} = \frac{24 \cdot D_{233}}{m}, \text{ где}$$

$D_{233}$  - измеренное значение оптической плотности,

$V_e=4$  мл – конечный объем гексанового экстракта,

$m$  – масса навески в мг.

## 2.7. Радиоиммунные методы исследования

Определение уровня простагландинов и гормонов плазмы крови и тканях проведено методами радиоиммунного анализа.

Общей основой радиоиммунных исследований *in vitro* является конкуренция немеченых (“холодных”) молекул определяемого вещества и молекул этого же вещества, соединенных с радиоактивной меткой ( $^{125}\text{I}$ ,  $^3\text{H}$  и др.), за связывание со специфическими биндинг-системами. В качестве биндинг-систем могут выступать: иммунная сыворотка (РИА), специфические тканевые рецепторы (радиорецепторный анализ), белки различных тканей (метод конкурентно-белкового связывания) [112].

РИА-анализ подразумевает следующие основные этапы: 1) внесение в пробирку исследуемой пробы или раствора стандарта, меченного антигена, антисыворотки или другого специфически связывающего компонента в присутствии буфера; 2) инкубация проб в оптимальных для каждого набора условиях, что необходимо для установления динамического равновесия между процессами образования и распада иммунных комплексов; 3) сепарация связанной и свободной фракций меченного лиганда методами: фракционного осаждения полиэтиленгликолем, сульфатом аммония, этанолом, адсорбции на активированном угле, силикатах и др. с последующим центрифугированием и аспирацией или декантированием супернатанта; 4) радиометрия проб и математическая обработка результатов.

Методические детали проведения радиоконкурентного анализа описаны в инструкциях фирм-изготовителей для каждого РИА-комплекта. В своей работе мы использовали следующие наборы для проведения РИА-исследований:

✍ фирмы “Amersham” (Англия) - для определения 6-кето-простагландина-Ф1 альфа (RPA 515) и тромбоксана В2 (RPA 516);

✍ фирмы “Изотоп” (Россия) - для определения инсулина.

Радиоиммунному определению содержания простагландинов предшествовали процедуры экстракции анализируемого лиганда из опытного образца:

а) экстракция простагландинов из плазмы крови. В пробирки для забора крови с целью предотвращения ферментативного гидролиза простагландинов вносили натриевую соль этилендиамин-тетрауксусной кислоты (конечная концентрация 20 мкМ), которая в указанной концентрации не влияет на образование комплекса антиген-антитело и в то же время достаточно эффективно ингибирует протеолиз пептидных гормонов. Для предотвращения синтеза простагландинов *in vitro* в пробирку вносили 10 мкл спиртового раствора индометацина (конечная концентрация 50 мкМ). После забора крови пробирки центрифугировали в рефрижераторной центрифуге К-70 при 2000g в течение 15 мин при температуре +4°C. Немедленно после центрифугирования плазму разливали на аликвоты и хранили в низкотемпературном холодильнике при -20°C.

Экстракцию простагландинов из плазмы крови проводили модифицированным методом В.М. Jaffe и соавт [180]. Использованный нами метод отличался от оригинала тем, что петролейный эфир был заменен на пентан. К 0,5 мл плазмы добавляли 1,5 мл пентана для удаления нейтральных липидов. Тщательно перемешивали пробы. Верхнюю пентановую фазу отбрасывали, к образцам добавляли 1,5 мл смеси этилацетат : изопропанол : 0,2 М HCl в соотношении 3:3:1 соответственно. Встряхивали пробирки в течение 30 сек., добавляли 1 мл этилацетата и 1,5 мл воды. После перемешивания производили разделение фаз путем центрифугирования при 2500g в течение 10 минут. Верхнюю органическую фазу, содержащую простагландины переносили в чистые пробирки и высушивали вакуумом при + 55°C.

б) экстракция простагландинов из ткани миокарда. Экстракцию простагландинов из ткани миокарда также проводили по методу Jaffe и соавт. [180]. Навески миокарда, замороженные в жидком азоте, гомогенизировали в смеси из 1 мл 0,01 М фосфатного буфера, приготовленного на 0,15 М NaCl (pH 7,4) и 3 мл экстрагирующего раствора (этилацетат:изопропанол:0,2 М HCl в соотношении 3:3:1 по объему). После гомогенизации к образцам добавляли 2 мл этилацетата, 3 мл



воды, перемешивали. Дальнейшие процедуры проводили аналогично таковым для плазмы.

Содержание простациклина и тромбксана определяли по уровню их стабильных метаболитов 6-кето-простагландин  $F_{1\alpha}$  и тромбксана типа  $B_2$ .

## 2.8. Гистохимическое определение катехоламинов

Ранее показано, что уровень катехоламинов в нервных структурах является интегральным показателем процессов синтеза, высвобождения и обратного нейронального захвата медиатора адренергическими структурами [1]. Криостатные срезы левого желудочка сердца и надпочечников толщиной 15 или 25 мкм, изготавливали при температуре  $-15^{\circ}\text{C}$ . Катехоламины, преимущественно норадреналин, выявляли модифицированным глиоксильным методом [117]. После 10-минутной инкубации свежих срезов гистологических образцов в 2% растворе глиоксильной кислоты (рН 7,2-7,4) их подсушивали в течении 15-30 мин под вентилятором. Для окончания гистохимической реакции срезы выдерживали 10 минут при температуре  $85^{\circ}\text{C}$ . При этом, в результате конденсации КА ткани с глиоксильной кислотой образовывались изохинолины, которые способны люминесцировать в видимой части спектра при облучении ультрафиолетовым светом с длиной волны 390-410 нм [1]. После термической обработки готовые препараты заключали в нефлюоресцирующее вазелиновое масло и исследовали в люминесцентном микроскопе. Для контроля специфичности реакции в части случаев глиоксильную кислоту заменяли в инкубационной среде на  $\text{KH}_2\text{PO}_4$ .

Определение количественного содержания КА в адренергических клетках надпочечников выполняли на цитофотометре ЛЮМAM-ИЗ. Измерение уровня флуоресценции катехоламинов проводили в падающем ультрафиолетовом свете, проходящем через возбуждающие фильтры СЗС-24-4, ФС-1-2, СС-15-2 и запирающие фильтры ЖС-18 и ЖС-19, при длине волны 521 нм. Считываемые показания интенсивности флуоресценции с цифрового регистрирующего прибора выражали в условных единицах [34]. Перед каждым измерением прибор калибровали по контрольному стеклу, входящему в комплект микроскопа.

Оптическую плотность и интенсивность определяли не менее чем при 30-ти наложениях фотометрического зонда в каждом гистологическом препарате, что определяло необходимую достоверность результата.

Содержание КА в адренергических волокнах миокарда оценивали полуколичественным косвенным способом, исходя из того, что при изменении концентрации КА в нервных волокнах изменяется и количество видимых флюоресцирующих адренергических волокон на гистологическом срезе. Поэтому, проводили измерение относительной объемной плотности адренергических волокон наложением на срез тестовой сетки, имеющей 100 тестовых ячеек [2]. Измерения в каждом препарате осуществляли не менее, чем при 20 случайных наложениях сетки, подсчитывая точки, приходящиеся на исследуемые структуры. Полученные величины объемной плотности адренергических волокон выражали в объемных процентах [2, 108].

## 2.9. Методы статистической обработки результатов.

Статистическую обработку результатов проводили с использованием методов биологической статистики. Для каждого измеряемого параметра вычисляли среднее ( $\bar{X}$ ) и ошибку среднего ( $m$ ). Проверку гипотезы о равенстве групповых средних (достоверность различия между сравниваемыми величинами) проводили с использованием t-критерия Стьюдента.

Все математические расчеты и вычисления статистических показателей проводили на ЭВМ IBM PC 486 с использованием пакета прикладных программ Statistica 5.0 for Windows.

## Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

### 3.1. Основные субтипы опиатных рецепторов, лиганды которых модулируют устойчивость миокарда к повреждающему воздействию стресса

Уже в ранних сообщениях по проблеме опиоидных нейропептидов были отмечены факты увеличения уровня опиоидов в плазме крови, ЦНС и ликворе при стрессе [125, 126, 168, 207] и при введении изадрина [27]. Впоследствии данные об активации опиоидной системы при стрессе были неоднократно подтверждены [10, 11, 14, 111, 184, 262], но биологический смысл этого оставался неясным. Позднее было обнаружено, что в процессе адаптации к действию различных факторов, либо при применении адаптогенных препаратов увеличивается содержание опиоидов в плазме крови и центральной нервной системе, что сопровождается формированием повышенной устойчивости миокарда к повреждающему действию стресса [41], а неселективный агонист  $\mu$  и  $\delta$  ОР даларгин обладает антистрессорной активностью и предупреждает развитие стресс-индуцированного повреждения миокарда [35, 36, 38, 40, 41, 44, 50]. Сопоставление этих фактов позволяет нам предполагать, что опиоиды играют важную роль в повышении устойчивости миокарда к экстремальным воздействиям. Однако, оставался открытым вопрос о рецепторной природе эффектов даларгина при стрессе. В экспериментах данного раздела работы мы попытались выяснить, через какие типы рецепторов реализуется кардиопротекторное действие опиоидов при стрессе.

#### 3.1.1. Влияние лигандов опиатных рецепторов на уровень аккумуляции $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в кардиомиоцитах при иммобилизационном стрессе

Как показано в таблице 3, иммобилизационный стресс приводил к увеличению аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде экспериментальных животных в 1,5 раза, что указывает на наличие повреждений миокарда [62, 210], в данном случае, несомненно, стрессорной этиологии, так как другие повреждающие факторы были

исключены. Это убедило нас в адекватности избранной модели стресса, поскольку повышенное накопление указанного радиофармпрепарата в сердце при стрессорном повреждении обнаруживали и другие авторы [62, 210].

Как следует из таблицы 3, ни селективные агонисты  $\kappa$ -ОР (U-50,488H),  $\delta$ -ОР (DSLET) или  $\sigma$ -рецепторов ((+)SKF 10,047 (N-allylnormetazocine)), ни антагонисты этих рецепторов MR2266 и норбинаторфимин ( $\kappa$ -ОР), DUP734 ( $\sigma$ -ОР) и ICI-174,864 ( $\delta$ -ОР), не влияли на степень СПС в наших экспериментах, поскольку их системное введение не сопровождалось достоверными изменениями аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде при иммобилизационном стрессе. Следовательно, есть все основания предполагать, что  $\kappa$ -,  $\sigma$ -,  $\delta$ -рецепторы, а также их эндогенные агонисты не играют существенной роли в механизме развития СПС.

То, что изменения функциональной активности  $\delta$ -,  $\sigma$ - или  $\kappa$ -ОР не отражались на устойчивости сердца подопытных крыс к стрессорным повреждениям явилось для нас неожиданным (табл.3). Так, имеются литературные данные [263] об идентификации  $\delta$ - и  $\sigma$ -ОР непосредственно на мембранах кардиомиоцитов.

Таблица 3

Влияние лигандов  $\delta$ -,  $\sigma$ - и  $\kappa$ -опиатных рецепторов на степень повреждения сердца крыс при иммобилизационном стрессе ( $X \pm m$ )

N/ N	Серии экспериментов	n	Включение $^{99m}\text{Tc}$ - ПФ в миокард (% от общей дозы/г тканей $\times 10^{-2}$ )	Статистический показатель
1	Интактные животные	10	1,85 $\pm$ 0,26	
2	Иммобилизационный стресс (24 ч)	12	2,86 $\pm$ 0,31	$p_1 < 0,05$
3	Стресс + DSLET, 0,1 мг/кг	10	2,74 $\pm$ 0,15	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$
4	Стресс + ICI-174, 2,5 мг/кг	14	3,13 $\pm$ 0,35	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$
5	Стресс + (+)SKF- 10,047, 5 мг/кг	10	2,91 $\pm$ 0,19	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$
6	Стресс + DUP734, 10 мг/кг	9	2,50 $\pm$ 0,35	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$
7	Стресс + U-50,488, 8 мг/кг	10	3,09 $\pm$ 0,17	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$
8	Стресс + MR 2266, 5 мг/кг	10	2,65 $\pm$ 0,12	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$
9	Стресс + норбиналторфимин, 10 мг/кг	12	2,61 $\pm$ 0,25	$p_1 < 0,05$ ; $p_2 > 0,05$

Примечание: n - количество животных в группе,  $P_1$  - достоверность различий по сравнению с интактными крысами,  $P_2$  - достоверность различий по сравнению со стресс-контролем (t-критерий Стьюдента). Все препараты вводили внутрибрюшинно, двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия.

Активация этих рецепторов, по данным Lakkata с соавт. [264], у интактных животных приводила к изменению как входящего медленного  $Ca^{2+}$ -тока, так и выхода  $Ca^{2+}$  из СПР, а также к изменению рН саркоплазмы и сродства миофиламентов к  $Ca^{2+}$ . Такие проявления активации ОР данных типов должны были сопровождаться повышением резистентности мембран кардиомиоцитов к стресс-индуцированному повреждению [76,120]. Однако нам этого обнаружить не удалось.

В качестве объяснения данному факту мы можем предложить лишь гипотезу о срыве компенсаторных опиоид-зависимых процессов в миокарде в условиях неадекватно тяжелой и длительной стрессорной нагрузки. Почему в таком случае остаются «работоспособными» рецепторы морфинового типа можно объяснить лишь особенностями их локализации - на аксонах адренергических нейронов [149], а не на сарколемме, которая подвергается в условиях стресса наибольшим патологическим изменениям [76,145].

ЭКСПЕРИМЕНТЫ С АГОНИСТАМИ  $\mu$ -ОР. Иная картина наблюдалась при использовании лигандов  $\mu$ -ОР. Селективный агонист  $\mu$ -ОР тетрапептидамид (Тур-D-Ala-Phe-Phe-NH<sub>2</sub>) при внутрибрюшинном введении потенцировал СПС, что проявилось достоверным увеличением захвата кардиомиоцитами <sup>99m</sup>Tc-ПФ на 67% по сравнению со стресс-контролем (табл. 4). Другие же агонисты  $\mu$ -ОР DALDA и DAGO при периферическом введении, напротив, способствовали уменьшению аккумуляции <sup>99m</sup>Tc-ПФ на 45% и 27% соответственно. Ключом к пониманию неоднозначности эффектов данных препаратов может служить, по-видимому, тот факт, что, несмотря на сходную рецепторную специфичность, эти лиганды различаются по своей способности проникать через гемато-энцефалический барьер. Так, известно, что DALDA и DAGO в использованной нами дозе не проникают через ГЭБ [190, 237], а тетрапептидамид легко его преодолевает [236]. Мы предположили, что стимуляция периферических  $\mu$ -ОР имеет своим следствием повышение устойчивости сердца к стресс-индуцированному повреждению, в то время как активация центральных  $\mu$ -ОР потенцирует СПС.

Для выяснения роли центральных и периферических ОР в патогенезе СПС нами были выполнены эксперименты с интрацеребровентрикулярным введением агонистов  $\mu$ -ОР.

На рис.1 показано, что центральное введение DAGO и PL017 - селективных агонистов  $\mu$ -ОР - привело к значительному усугублению повреждающего действия стресса, на что указывает достоверное увеличение аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в ткани миокарда стрессированных крыс соответственно на 31% и 18%.

Нельзя не обратить внимание на тот факт, что увеличение стрессорного повреждения миокарда было неодинаковым при введении этих двух соединений. Так, удельное накопление использованного нами радиофармпрепарата в миокарде крыс, получавших PL017 было достоверно слабее, чем при введении DAGO. Данный факт можно объяснить тем, что PL017 имеет, по-видимому, несколько меньшее сродство к  $\mu$ -ОР, так как в литературе имеется указание на то, что DAGO оказывал более выраженный чем у PL017 эффект по отношению к другим  $\mu$ -рецепторзависимым процессам [247].

Таблица 4

Влияние периферического введения агонистов  $\mu$ -опиатных рецепторов на уровень аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе ( $X \pm m$ )

N/N	Серии экспериментов	n	Включение $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокард (% от общей дозы/г ткани $\times 10^{-2}$ )	Статистический показатель
1	Интактные	10	$1,85 \pm 0,26$	
2	Иммобилизационный стресс	12	$2,86 \pm 0,31$	$p_1 < 0,05$
3	Стресс + DAGO 0,1 мг/кг	10	$2,1 \pm 0,25$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
4	Стресс + DALDA 0,1 мг/кг	11	$1,59 \pm 0,22$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
5	Стресс + PL 0.17 0,1 мг/кг	12	$2,87 \pm 0,27$	$p_1 < 0,05$ $p_2 > 0,05$
6	Стресс + Tyr-D-Ala-Phe-Phe-NH <sub>2</sub> , 0,1 мг\кг	12	$3,77 \pm 0,23$	$p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$

Примечание: n - количество животных в группе,  $P_1$  - достоверность различий по сравнению с интактными крысами,  $P_2$  - по сравнению со стресс-контролем (t-критерий Стьюдента). Все препараты вводили внутривенно, двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия.



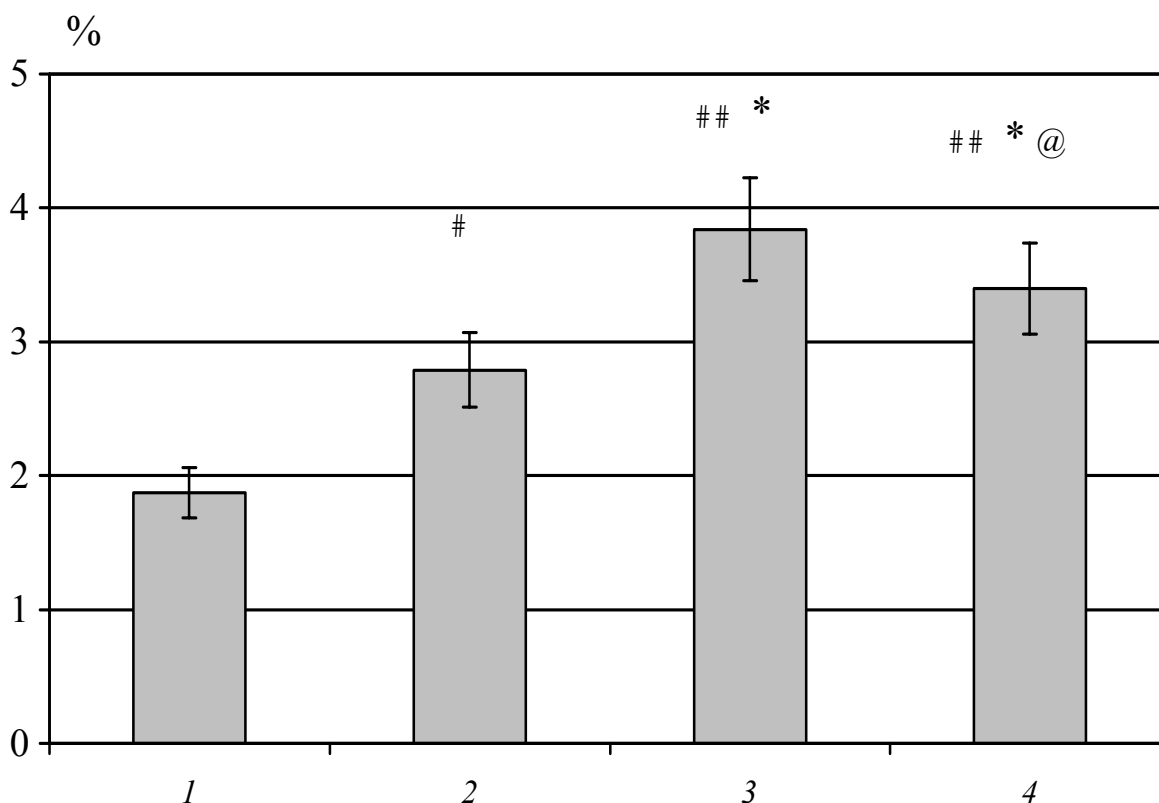


Рис. 1. Влияние интрацеребровентрикулярного введения агонистов  $\mu$ -опиатных рецепторов на уровень аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе (% от общей дозы/г ткани),

( $\bar{X} \pm m$ )

Серии эксперимента:

1. Ложнооперированные животные,  $n=12$ ;
2. Иммобилизационный стресс (24 ч),  $n=14$ ;
3. Иммобилизационный стресс + DAGO 10 мкг/крысу,  $n=10$ ;
4. Иммобилизационный стресс + PL 017 10 мкг/крысу,  $n=11$ .

Примечания: # $P<0,05$ ; ## $P<0,01$  - достоверное отличие по сравнению с группой ложнооперированных; \* $P<0,05$  - достоверные отличия по сравнению с стресс-контролем (t-критерий Стьюдента). @ $p<0,05$  - то же по сравнению с группой «Стресс+DAGO». Все препараты вводили двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия. Животным группы стресс-контроля интрацеребровентрикулярно вводили 20 мкл физиологического раствора.

Таким образом, нам удалось установить, что стимуляция центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов действительно имеет своим следствием снижение устойчивости миокарда к стресс-индуцированному повреждению.

Этот факт позволяет объяснить и обнаруженное нами существенное различие лигандов периферических опиатных рецепторов DAGO и DALDA по кардиопротекторной эффективности. В таблице 4 показано, что кардиопротекторный эффект DAGO был слабее, чем у DALDA. Такое различие в эффектах можно объяснить, если подробнее рассмотреть способность этих лигандов проникать через гематоэнцефалический барьер. Так, имеются данные о том, что DAGO в дозе 0,3 мг/кг способен проникать через ГЭБ [129]. Используемая авторами доза несколько выше, чем та, которую мы применяли в наших экспериментах, однако необходимо принять во внимание данные, указывающие на увеличение проницаемости ГЭБ при стрессе [19, 131, 134]. В то же время, известно, что другой пептид DALDA не проникает через ГЭБ даже при использовании его в дозе 30 мг/кг [237]. Суммируя вышесказанное, можно предположить, что меньшая выраженность кардиопротекторных свойств у DAGO может быть обусловлена, частичным проникновением этого пептида через гематоэнцефалический барьер и способностью к активации центральных  $\mu$ -ОР.

Каковы же механизмы обнаруженных нами эффектов агонистов опиатных рецепторов? Многие исследователи склоняются к мысли, что стрессорная кардиомиопатия обязана своим происхождением неадекватной гиперфункции симпатoadренальной системы в экстремальных условиях [144, 181, 244, 245]. С другой стороны, имеются данные о том, что активация пресинаптических ОР на периферии приводит к ограничению освобождения норадреналина из нервных терминалей, иннервирующих сердце и сосуды [140, 142, 143]. Сопоставление этих фактов позволило нам предположить, что стимуляция периферических  $\mu$ -ОР, ограничивая выброс норадреналина из терминалей способна предупреждать СПС. Действительно, данные полученные ранее говорят о том, что в механизме действия опиоидов важную роль играют их антиадренергические эффекты. Так, агонист

периферических  $\mu$ - и  $\delta$ -ОР далаггин уменьшал степень изадринового повреждения сердца [41, 43, 57], а также ингибировал изопротеренол-индуцированный синтез цАМФ в миокарде [41,43,65], что подтверждает выдвинутую нами гипотезу. Однако данное предположение требует, на наш взгляд, дополнительных доказательств. В связи, с этим нами были выполнены исследования, посвященные изучению роли вегетативной нервной системы в эффектах активации периферических  $\mu$ -ОР. Результаты этих исследований представлены в главе 3.2.3.

Вместе с тем, оставалось непонятным, почему активация центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов вызывает в отношении устойчивости миокарда к стрессорному повреждению эффекты, прямо противоположные таковым при фармакологической стимуляции рецепторов этого субтипа на периферии? Однако, несмотря на некоторую противоречивость, полученные нами результаты согласуются с данными литературы. Так, работами VanLoon G.R. с соавт. показано, что стимуляция центральных ОР способствует повышению тонуса симпатического звена вегетативной нервной системы [127, 174, 175, 191, 203, 261,262] и увеличивает содержание катехоламинов в крови крыс как в состоянии покоя, так и при стрессе. Таким образом, стимуляция центральных  $\mu$ -ОР способна через дополнительную активацию симпатического звена вегетативной нервной системы потенцировать адренергическое влияние на миокард и, тем самым, усиливать стрессорные повреждения сердца.

В качестве возможного объяснения вышесказанного можно предположить, что стимуляция центральных рецепторов морфинового типа при стрессе способствует еще большему повышению активности симпато-адреналовой системы за счет «выключения» тормозных ГАМК-ергических влияний, как это показано в работах Sander с соавт. [234] и Pollard с соавт.[223]. Тем самым потенцируется «кардиотоксический» эффект высоких концентраций катехоламинов, поскольку известна стресс-лимитирующая и антиадренергическая активность ГАМК-ергической системы [96]. В противоположность этому, повышение функциональной активности периферических  $\mu$ -рецепторов также тормозит выброс медиатора из нервных терминалей, однако в этой ситуации таковыми оказываются

аксоны не ГАМК-ергических, а симпатических нейронов. Так, в работе Caffrey с соавт. [142,143] было показано, что активация  $\mu$ -опиатных рецепторов приводит к ингибированию высвобождения катехоламинов из симпатических нервных терминалей.

Помимо симпатического звена вегетативной нервной системы в патогенезе СПС могут участвовать и другие факторы. Важную роль в развитии повреждения миокарда при стрессе играет изменение баланса простаноидов, увеличение интенсивности процессов перекисного окисления липидов, изменение биосинтетической активности кардиомиоцитов [78,79,97]. Поскольку ранее было показано, что неселективный лиганд  $\mu$ - и  $\delta$ -ОР даларгин способен корректировать стресс-индуцированное изменение уровня простагландинов, снижать интенсивность ПОЛ и увеличивать интенсивность синтеза РНК и белков в миокарде [51,54,57,70], нельзя не согласиться с мнением член-корр. РАМН Ю.Б.Лишманова [41,43] о том, что все эти системы также могут опосредовать кардиопротекторные эффекты лигандов  $\mu$ -ОР. Однако, неопровержимых доказательств вышесказанному до сих пор не было получено. На наш взгляд, важным является изучение роли простагландинов, биосинтеза белка и процессов ПОЛ в механизмах действия лигандов опиатных рецепторов. Эти исследования были нами проведены и их результаты описаны ниже в главах 3.3. и 3.4.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ С ВВЕДЕНИЕМ ИНГИБИТОРОВ ЭНКЕФАЛИНАЗ. Используемые нами препараты - ацеторфан и RB 101 - являются селективными блокаторами нейтральной эндопептидазы 24.11. ("энкефалиназы") - фермента, преимущественно расщепляющего эндогенные энкефалины. Ранее было показано [197,230], что эти препараты могут проникать через гематоэнцефалический барьер и увеличивать уровень энкефалинов в головном мозге.

Предварительное системное введение как ацеторфана, так и RB101 увеличивало накопление  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в ткани миокарда стрессированных животных (табл. 5). По данным B.Roques с соавт. и C.Schwarz с соавт., данные препараты являются высокоселективными антагонистами нейтральной эндопептидазы 24.11 (энкефалиназы) и увеличивают в головном мозге содержание

природных агонистов  $\mu$  и  $\delta$ -ОР мет- и лей-энкефалина [197,230]. Поскольку ранее нами было показано, что лиганды  $\delta$ -ОР не оказывают влияния на степень повреждения миокарда при стрессе (табл. 3), эти эксперименты можно рассматривать как дополнительное подтверждение предположения о том, что активация центральных ОР типа  $\mu$  приводит к усилению повреждения миокарда в условиях стресса. Неспецифичность действия ацеторфана и RB101 можно в данном случае исключить, так как эти соединения имеют разную химическую природу и относятся к разным классам блокаторов энкефалин-разрушающих ферментов [230], но несмотря на это оказывают практически идентичный эффект на данной модели.

Таблица 5

Влияние блокаторов энкефалиназ на степень повреждения сердца крыс при иммобилизационном стрессе ( $X \pm m$ )

N/N	Серии экспериментов	n	Включение $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокард (% от общей дозы/г ткани $\times 10^{-2}$ )	Статистический показатель
1	Интактные животные	10	$1,85 \pm 0,26$	
2	Иммобилизационный стресс (24 ч)	12	$2,86 \pm 0,31$	$p_1 < 0,05$
3	Стресс + ацеторфан, 10 мг/кг	8	$3,65 \pm 0,10$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,01$
4	Стресс + RB 101, 10 мг/кг	11	$3,57 \pm 0,15$	$p_1 < 0,001$ $p_2 < 0,05$

Примечание: n - количество животных в группе;  $P_1$  - достоверность различий по сравнению с интактными крысами,  $P_2$  - достоверность различий по сравнению со стресс-контролем. Все препараты вводили внутривенно двукратно: за 30 мин до стресса и спустя 12 ч после начала стрессорного воздействия.

ЭКСПЕРИМЕНТЫ С БЛОКАТОРАМИ  $\mu$ -ОР. Заключая данный раздел диссертационной работы следует отметить, что представленные выше результаты (табл. 3 и 4, рис. 1) описывают эффекты экзогенных энкефалинов, то есть результат воздействия искусственно усиленной активации ОР. Однако, эти данные не отражают реальный вклад эндогенной опиоидной системы в патогенез стрессорного повреждения сердца. В то же время, результаты наших экспериментов с блокаторами энкефалиназ (табл. 5), когда изменение устойчивости миокарда к стрессорному повреждению модулировалось эндогенными энкефалинами, содержание которых было искусственно увеличено, позволяют нам предположить, что эндогенная опиоидная система может играть значительную роль в формировании или предупреждении "кардиотоксического" эффекта стресса. Однако, на наш взгляд, судить о функциональном предназначении той или иной системы и ее роли в патогенезе тех или иных нарушений в организме можно по результатам экспериментов с блокадой данной системы. Такие опыты в отношении опиоидной системы были нами проведены.

После предварительного введения крысам налтрексона - препарата, проникающего через ГЭБ, который блокирует центральные и периферические  $\mu$ -ОР - нам не удалось вызвать стрессорного повреждения миокарда в эксперименте с иммобилизационным стрессом (таблица 6). Схожие по направленности результаты мы получили при использовании налоксона - препарата аналогичной рецепторной специфичности. Однако, налоксон оказывал несколько менее выраженное влияние на показатель накопления  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ, что может быть связано с более коротким временем действия данного вещества [173]. В экспериментах с центральным введением, предварительные интрацеребровентрикулярные инъекции СТАР - селективного блокатора  $\mu$ -ОР - также предотвращали избыточное накопление  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в сердце при стрессе (рис.2). Данные этих исследований свидетельствуют о том, что эндогенные опиоиды в ЦНС в условиях стресса способствуют возникновению повреждения миокарда, поскольку их селективное «выключение» предупреждает развитие исследуемой патологии. Таким образом, обнаруженное ранее увеличение уровня лей- и мет-энкефалина в головном мозге при стрессорных воздействиях

[10,50] не является защитной, компенсаторной реакцией организма на экстремальные ситуации, а играет роль важного звена патогенеза СПС.

В экспериментах с блокадой периферических  $\mu$ -ОР мы получили противоположные результаты. Так, налтрексон-метилбромид - селективный блокатор  $\mu$ -ОР, не способный проникать через ГЭБ - усугублял проявления СПС, о чем можно судить по увеличению аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ (табл.6).

Результаты этих экспериментов позволяют констатировать, что как центральные, так и периферические эндогенные энкефалины являются важным фактором тонической регуляции миокардиальной устойчивости к стресс-индуцированному повреждению, но однако, ОР различной (центральной или периферической) локализации играют прямо противоположную роль в патогенезе СПС.

Таблица 6

Влияние периферического введения антагонистов  $\mu$ -опиатных рецепторов на уровень аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе ( $\bar{X} \pm m$ )

N/N	Серии экспериментов	n	Включение $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокард (% от общей дозы/г ткани $\times 10^{-2}$ )	Статистический показатель
1	Интактные	10	$1,85 \pm 0,26$	
2	Иммобилизационный стресс (24 ч)	12	$2,86 \pm 0,31$	$p_1 < 0,05$
3	Иммобилизационный стресс + налоксон 2 мг/кг	9	$2,10 \pm 0,19$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
4	Иммобилизационный стресс + налтрексон 0,5 мг/кг	11	$1,26 \pm 0,13$	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
5	Иммобилизационный стресс + налтрексон метилбромид 5 мг/кг	12	$3,42 \pm 0,21$	$p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,05$

Примечания: n - количество животных в группе,  $P_1$  - достоверность различий по сравнению с интактными крысами,  $P_2$  - достоверность различий по сравнению со стресс-контролем (t-критерий Стьюдента). Все препараты вводили внутривенно, двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия.



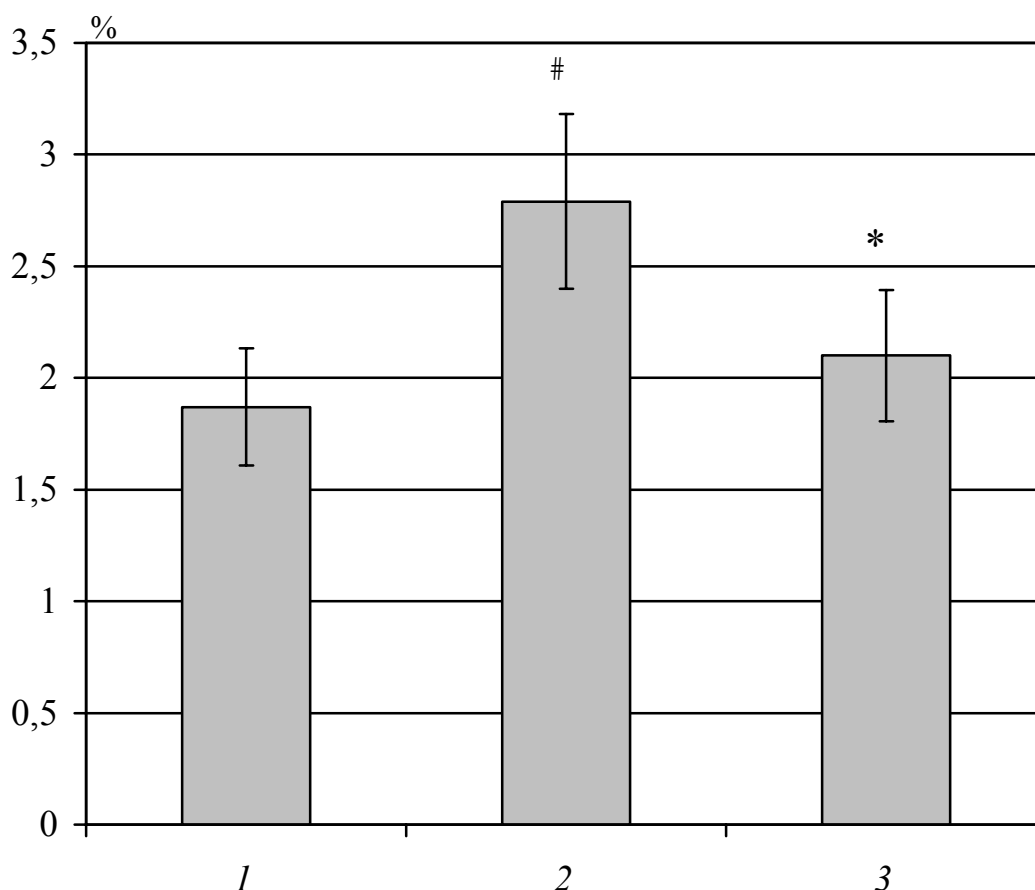


Рис. 2. Влияние интрацеребровентрикулярного введения лиганда  $\mu$ -опиатных рецепторов СТАР на уровень аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе (% от общей дозы/г ткани) ( $\bar{X} \pm m$ ).

Серии эксперимента:

1. Ложнооперированные животные,  $n=12$ ;
2. Иммобилизационный стресс (24 ч),  $n=14$ ;
3. Иммобилизационный стресс + СТАР 10 мкг/крысу,  $n=11$

Примечания: # $P < 0,05$  - достоверное отличие по сравнению с группой ложнооперированных; \* $P < 0,05$  - достоверные отличия по сравнению с стресс-контролем (t-критерий Стьюдента). СТАР вводили двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия. Животным группы стресс-контроля интрацеребровентрикулярно вводили 20 мкл физиологического раствора.

### 3.1.2. Опиатергическая модуляция стресс-индуцированного снижения порога желудочковой фибрилляции

По мнению некоторых авторов [62, 210], метод аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата является наиболее информативным количественным методом для оценки состояния мембран кардиомиоцитов. Однако эта методика дает не много информации для оценки стресс-индуцированного повреждения клеток проводящей системы и, что не менее важно, - не позволяет оценить протекторные эффекты препаратов в отношении электрической стабильности сердца при стрессе. Для исследования этих параметров мы использовали метод определения порога фибрилляции желудочков.

Результаты наших экспериментов (рис. 3) подтвердили имеющиеся в литературе данные о том, что при стрессе происходит значительное снижение порога фибрилляции желудочков [8, 9, 99, 107]. Так, миокард крыс после 24 часовой иммобилизации фибриллировал при воздействии током, силой  $9,40 \pm 0,65$  мА, в то время как у большинства интактных животных это показатель был более 16,60 мА ( $P < 0,01$ ). Такое снижение устойчивости миокарда к фибрилляторному воздействию свидетельствует о нарушении электрической стабильности сердца в результате стресс-индуцированного повреждения клеток миокарда [199, 265].

Предварительное периферическое введение агониста  $\mu\text{-OP}$  DAGO предупреждало возникновение стресс-индуцированного снижения ПФЖ. Аналогичный результат мы наблюдали и при введении пептида DALDA (рис. 3). Важно отметить, что эффект DALDA в данном случае был сильнее, чем у DAGO. Как показано нами ранее (табл.4), похожая ситуация наблюдалась и в отношении кардиопротекторного эффекта этих препаратов. Такое различие интенсивности влияний у соединений сходной рецепторной специфичности можно объяснить лишь различной проницаемостью ГЭБ для этих пептидов в условиях стресса. Как было объяснено выше (гл.3.1.), небольшое количество DAGO, по-видимому, способно проникать ГЭБ, в то время как для DALDA этот барьер практически не проницаем.

При попытке объяснить наблюдаемые антифибрилляторные эффекты  $\mu$ -агонистов нельзя не обратить внимание на мнение проф. Л.Н.Маслова [66] о том, что антиаритмические эффекты лигандов  $\mu$ -ОР на модели адrenaловых аритмий обусловлены прямым влиянием на миокард и не опосредуются вегетативной нервной системой. В связи с этим, можно предположить, что предупреждение нарушений электрической стабильности при введении лигандов ОР на фоне стресса также опосредуется через прямую модуляцию активности ионных каналов миокарда. Аргументами в пользу этого утверждения могут служить следующие факты:

- С одной стороны известно, что при стрессе возникает избыток  $\text{Ca}^{2+}$ ,  $\text{Na}^+$  и дефицит  $\text{K}^+$  в саркоплазме кардиомиоцитов [120]. Это происходит, преимущественно, вследствие нарушения работы  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФаз СРР и сарколеммы и  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, а также увеличения проницаемости для  $\text{Ca}^{2+}$  поврежденных мембран саркоплазматического ретикулула. Данный эффект играет важную роль в генезе стресс-индуцированных повреждений кардиомиоцитов [87, 120, 228].

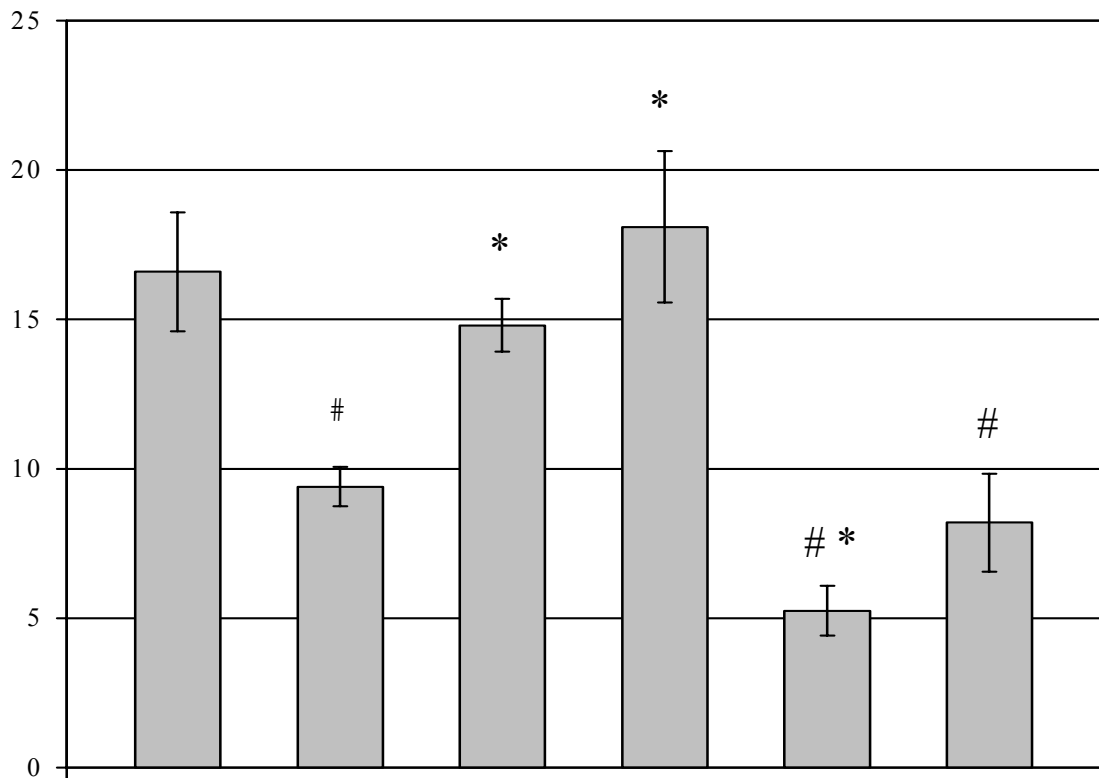


Рис. 3. Влияние лигандов опиатных рецепторов на ПФЖ у

животных со стрессорным повреждением миокарда. (Введение препаратов в течении стресса) ( $X \pm m$ )

Серии эксперимента:

1. Интактные  $n=11$ ;
2. Иммобилизационный стресс, 24 ч,  $n=18$ ;
3. Стресс + DAGO, 0,1 мг/кг,  $n=10$ ;
4. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг  $n=12$ ;
5. Стресс + тетрапептидамид Tyr-D-Ala-Phe-Phe-NH<sub>2</sub> 0,1 мг/кг,  $n=9$ ;
6. Стресс + налтрексон, 0,5 мг/кг,  $n=10$ ;

Примечания: # $p < 0,01$  - достоверные различия по сравнению с группой интактных животных; \* $p < 0,05$  - то же по сравнению с группой стресс-контроля без введения препаратов (t-тест Стьюдента).  $n$  - количество животных в группе. Все препараты вводили два раза внутривентриально, за 30 мин до стресса и через 12 час после начала иммобилизации.

- С другой стороны, по мнению J.A.Ruth и соавт. [232], активация опиатных-рецепторов сопряжена с блокадой медленных Ca<sup>2+</sup>-каналов. Данное действие препарата может иметь своим следствием снижение содержания внутриклеточного Ca<sup>2+</sup><sub>i</sub>, уменьшение стрессорного повреждения клеток проводящей системы и как результат - увеличение порога фибрилляции желудочков, поскольку Ca<sup>2+</sup><sub>i</sub> играет важную роль в возникновении электрической нестабильности миокарда [76].

Однако, мы не можем полностью исключить роль симпатического звена вегетативной нервной системы в антифибрилляторных эффектах DALDA, так как работами Caffrey J.L. [142, 143] и других авторов [140, 154, 272] показано снижение выброса норадреналина из синаптических нервных окончаний в ответ на активацию периферических опиатных рецепторов, что может обуславливать коррекцию опиоидами электрической нестабильности миокарда при стрессорной гиперактивации симпатoadреналовой системы.

Предварительное периферическое введение тетрапептидамида -  $\mu$ -агониста, проникающего через ГЭБ - напротив еще более снизило порог фибрилляции желудочков при иммобилизационном стрессе (рис. 3). Данный эффект можно объяснить лишь усилением выброса норадреналина из симпатических нервных терминалей в ответ на активацию центральных  $\mu$ -ОР, показанную VanLoon

[174, 175, 191, 203, 261], что в условиях стресса потенцирует повреждения ткани миокарда [76, 244]. Таким образом, есть основания предполагать, что модуляция синтетическими энкефалинами степени снижения ПФЖ при иммобилизационном стрессе может зависеть от двух механизмов - прямого влияния на миокард и опосредованного влияния через изменение активности САС.

Предварительное периферическое введение блокатора  $\mu$ -ОР налтрексона не предотвращало стресс-индуцированное снижение порога фибрилляции желудочков (рис.2). Повидимому, эндогенные агонисты опиатных рецепторов морфинового типа не играют существенной роли в генезе стрессорной электрической нестабильности.

Вышеописанные результаты показали, что активация периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов способствует увеличению ПФЖ у стрессированных животных, в то время как стимуляция центральных рецепторов этого типа потенцирует формирование стрессорной электрической нестабильности сердца.

Однако оставалось неясным, могут ли опиоиды устранять уже сформировавшиеся нарушения электрической стабильности сердца. Целью дальнейшей работы явилась оценка принципиальной возможности использования лигандов опиатных рецепторов для коррекции уже сформировавшейся электрической нестабильности сердца в эксперименте.

Из представленной таблицы 7 следует, что введение агониста  $\mu$ -ОР DALDA после окончания иммобилизационного стресса сопровождалось достоверным повышением ПФЖ на 30% по сравнению с животными группы стресс-контроля. На наш взгляд, в качестве основного механизма антифибрилляторной активности стимулятора  $\mu$ -ОР DALDA можно рассматривать уменьшение входа кальция в клетку, поскольку, как уже упоминалось, по мнению J.A.Ruth, и соавт. [232] активация  $\mu$ -рецепторов сопряжена с блокадой медленных  $\text{Ca}^{2+}$ -каналов, которые играют важную роль в формировании нарушений электрической нестабильности сердца [212, 214]. Согласно данным группы E.G.Lakatta [275, 276], смешанный агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -рецепторов лей-энкефалин ингибирует аденилатциклазу кардиомиоцитов, что ведет к снижению входа  $\text{Ca}^{2+}$  по медленным  $\text{Ca}^{2+}$ -каналам, что в нашем случае должно способствовать увеличению порога фибрилляции желудочков.

Аналогичный эффект в отношении ПФЖ оказывала, судя по нашим данным, стимуляция κ-ОР спирадолином, вслед за инъекцией которого следовала полная нормализация ПФЖ у стрессированных крыс (табл.7). Представленный эффект спирадолина, по-видимому, также связан с замедлением входа  $Ca^{2+}$  в кардиомиоциты. Основанием для такого предположения могут служить результаты опытов М.К.Pugsley с соавт. [224], показавших возможность ингибирования медленных  $Ca^{2+}$ -каналов с помощью агонистов κ-рецепторов. Вместе с тем, нельзя исключить и возможность влияния агонистов κ-рецепторов на другие ионные каналы [218], что так же может приводить к увеличению ПФЖ.

Повышение электрической стабильности сердца было также отмечено нами и в условиях блокады σ-рецепторов. Так, введение антагониста σ-рецепторов DuP734 сопровождалось достоверным увеличением ПФЖ у стрессированных особей почти в 2 раза (табл.7). Это позволяет нам выдвинуть гипотезу о патогенетической роли тонической стимуляции σ-рецепторов в формировании электрической нестабильности миокарда при его стрессорном повреждении. В свою очередь, обнаруженные нами антиаритмические эффекты блокатора σ-рецепторов DuP734, по всей видимости, реализуются за счет ограничения проницаемости мембран кардиомиоцитов для  $Ca^{2+}$ , так как в литературе имеются данные о способности агонистов этих рецепторов активировать транспорт ионов кальция через сарколемму [213].

Таблица 7

Использование DALDA, DuP734 и спирадолина (U-062066E) для коррекции электрической нестабильности миокарда у крыс, подвергнутых иммобилизационному стрессу ( $X \pm m$ )

n/n	Серии экспериментов	n	Порог фибрилляции желудочков (мА)
1	Интактные	11	16,6 + 2,1
2	Стресс	21	7,43 + 0,45 ##
3	Стресс + DALDA 0,1 мг/кг	11	10,23 + 0,69 *#
4	Стресс + DuP 734, 1мг/кг	10	13,8 + 1,6 *
5	Стресс + спирадолин (U-62066E), 8 мг/кг	8	14,4 + 1,6 *

Примечания: # $p < 0.05$ , ## $p < 0.01$  достоверные различия по сравнению с группой интактных животных; \* $P < 0,01$  то же по сравнению с группой стресс-контроля без введения препаратов (t-тест Стьюдента). n - количество животных в группе. Все препараты вводили внутривенно, за 15 мин до определения ПФЖ.

Анализ литературных данных позволяет нам предполагать, что вегетативная нервная система не включается в реализацию “краткосрочных” антиаритмических эффектов лигандов  $\mu$ -,  $\kappa$ - и  $\sigma$ -опиатных рецепторов [64,66], что отличает последние от неселективного лиганда  $\epsilon$ -OP -  $\beta$ -эндорфина, антифибрилляторное действие которого опосредуется, по мнению С.Д. Михайловой и соавт. [92] через изменение тонуса *n.vagus*. В связи с этим, в качестве основного звена в фармакодинамике опиатергического повышения электрической стабильности сердца мы склонны рассматривать влияние изученных нами соединений на состояние ионных (преимущественно  $Ca^{2+}$ ) каналов кардиомиоцитов. Аргументами в пользу этой точки зрения могут служить как уже приводимые выше данные литературы о влиянии лигандов опиатных рецепторов на активность ионных каналов миокарда

[213, 218, 224, 232], так и результаты опытов Л.Н.Маслова и сотр. [47, 64, 66], в которых DALDA, спирадолин и DuP734 оказывали антиаритмический эффект на модели адреналовых и  $\text{CaCl}_2$ -индуцированных аритмий, основным звеном патогенеза которых является усиленный вход  $\text{Ca}^{2+}$  в кардиомиоциты.

Резюмируя обсуждаемые механизмы кардиопротекторного и антифибрилляторного действия лигандов ОР, мы склонны предполагать, что кардиопротекторные эффекты лигандов ОР опосредуются преимущественно через изменение тонуса симпатического звена ВНС, в то время как антиаритмические, антифибрилляторные - преимущественно через прямое изменение проницаемости ионных каналов. Однако, нельзя не отметить, что во-первых, эти два механизма могут быть взаимоопосредованы [228], а, во-вторых, до настоящего времени не было получено прямых доказательств участия ВНС в кардиотропных влияниях опиоидной системы при стрессе. Изучению роли симпатического звена ВНС в реализации эффектов лигандов опиатных рецепторов посвящена следующая часть настоящей работы (раздел 3.2).

#### КРАТКОЕ РЕЗЮМЕ ГЛАВЫ 3.1.:

- Активация периферических  $\mu$ -ОР сопровождается повышением устойчивости сердца к повреждению и увеличением электрической стабильности миокарда при иммобилизационном стрессе.
- Возбуждение центральных  $\mu$ -ОР является патогенетическим звеном повреждения мембран кардиомиоцитов и снижения электрической стабильности миокарда при длительном иммобилизационном стрессе.
- Опиатные рецепторы  $\delta$ -,  $\sigma$ -, и  $\kappa$ - типов и их эндогенные лиганды не играют значительной роли в патогенезе стрессорного повреждения миокарда.



### 3.2. Опиатные рецепторы и адреналовый компонент стрессорного повреждения сердца\*

По мнению многих исследователей [16, 28, 76, 144, 147, 169, 227, 245], повреждение сердца при длительном тяжелом стрессе имеет адренергическую природу, то есть развивается в результате “кардиотоксического” действия эндогенных катехоламинов, массивный выброс которых сопровождает стрессорную гиперактивацию симпато-адреналовой системы. Парадоксальным является то, что прямого экспериментального подтверждения этой гипотезы до настоящего времени не получено. В связи с этим, недостаточно изученными оказались и физиологические механизмы, способные лимитировать "кардиопатогенные" эффекты КА.

В разделе 3.1. нами было показано, что лиганды  $\mu$ -опиатных рецепторов способны модулировать степень стрессорного повреждения сердца. С другой стороны, в литературе имеются данные об участии опиоидов в процессах ингибирования или, напротив, стимуляции выброса катехоламинов из симпатических нервных терминалей [140, 142, 143, 219]. Следовательно, есть основания полагать, что влияние опиоидов на устойчивость мембран миокарда к стрессорной альтерации может быть связано с изменением секреции эндогенных КА. Однако до настоящего времени прямых доказательств этому предположению получено не было. В связи с этим, не приходится говорить и о серьезных работах в области исследования рецепторной специфичности опиатергической модуляции адренергического компонента стрессорного повреждения сердца.

Учитывая сказанное, мы посвятили настоящий раздел работы исследованию вклада симпато-адреналовой системы в реализацию опиатергических воздействий на устойчивость миокарда к стресс-индуцированным повреждениям.

#### 3.2.1. Влияние лигандов опиатных рецепторов на уровень катехоламинов в миокарде и надпочечниках стрессированных крыс

---

\* Эксперименты выполнены совместно с Ю.Г.Ревинской

В одном из предыдущих разделов мы приводили собственные данные о том, что при иммобилизационном стрессе происходит усиление аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс (табл. 4), свидетельствующее о развитии стресс-индуцированного повреждения мембран кардиомиоцитов [62, 210]. Одновременно с этим, мы наблюдали двукратное ослабление адреналовой флюоресценции в хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников и такое же снижение плотности адренергических волокон в миокарде по сравнению с интактными животными (таблица 8). Эти результаты согласуются с данными других исследователей [8, 59, 71, 147], квалифицирующих подобные изменения как показатель стресс-индуцированного выброса КА из адренергических терминалей, определяющего, по мнению авторов, повреждение кардиомиоцитов [59, 71, 76].

Таблица 8

После активации периферических  $\mu$ -ОР путем системного введения селективного агониста DAGO содержание КА в надпочечниках и сердце увеличилось относительно стресс-контроля, соответственно, на 16% и 13%. Специфичность обнаруженных эффектов, в определенной степени, подтверждается тем, что введение другого агониста  $\mu$ -опиатных рецепторов DALDA сопровождалось сходными изменениями флюоресценции адренохромных соединений в сердце и супраренальных железах (таблица 8).

Полученные данные свидетельствуют о том, что стимуляция периферических  $\mu$ -ОР при стрессорном воздействии способствует сохранению КА в надпочечниках и адренергических терминалях сердца. Вероятнее всего, это связано с проявлением известной способности опиоидных пептидов к ингибированию выброса катехоламинов из адренергических терминалей [142,143,163,176,177]. Здесь вполне уместно вспомнить, что в аналогичных условиях эксперимента мы наблюдали опиатергическое повышение резистентности мембран кардиомиоцитов к стрессорному повреждению, детектируемое по уменьшению аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в ткани миокарда (табл. 4).

Активация центральных  $\mu$ -ОР, достигаемая внутримозговой инъекцией DAGO, наоборот, способствовала снижению плотности адренергических терминалей в миокарде на 18% по отношению к стресс-контролю (таблица 8). Аналогичный результат мы наблюдали и при периферическом введении тетрапептидамида (табл.8), способного проникать через ГЭБ и, за счет этого, воздействовать на церебральные  $\mu$ -рецепторы [236]. Так, уже уменьшенное по отношению к интактным животным содержание катехоламинов в адренергических структурах миокарда и надпочечников стрессированных крыс под влиянием данного препарата еще более снизилось, соответственно, на 22% и 7%.

Отметим, что указанное высвобождение КА из симпатических нервных терминалей происходило параллельно с усилением стрессорного повреждения сердца (раздел 3.1.1., рис. 1).

Наши исследования показали, что более высокому уровню катехоламинов в адренергических терминалях сердца и хромаффинных клетках мозгового вещества

надпочечников соответствует менее выраженная степень стрессорного повреждения миокарда, а адреналовому "обеднению" этих структур - усиление миокардиальных повреждений при стрессе. Таким образом, "адреносберегающий" эффект, наблюдаемый при активации периферических  $\mu$ -ОР, сопровождается повышением резистентности миокарда к повреждающему действию стресса, тогда как опиатергическое высвобождение адреномедиаторов при центральном воздействии  $\mu$ -агонистов - напротив, соответствует усилению стрессорного повреждения сердца.

Руководствуясь вышесказанным, логично предположить, что именно взаимодействие опиоидной и симпато-адреналовой систем определяет, в конечном итоге, степень устойчивости сердца к повреждающему действию тяжелого стресса, а центральным "действующим лицом" в данных взаимодействиях выступают  $\mu$ -опиатные рецепторы.

Однако аргументированно ответить на этот вопрос можно лишь после проведения экспериментов с использованием лигандов  $\mu$ -ОР на фоне измененной реактивности САС.

### 3.2.2. Роль периферического звена симпатической нервной системы в опосредовании $\mu$ -опиатергических влияний на устойчивость сердца к стрессорному повреждению

Для решения задачи, сформулированной в заголовке настоящего раздела работы, мы исследовали влияние агонистов  $\mu$ -ОР на устойчивость миокарда к стрессорному повреждению на фоне измененных процессов синаптического выброса, обратного захвата и метаболизма адреномедиатора.

После курсового (в течение 3 дней) введения гуанетидина, который, как известно, нарушает процессы синтеза и депонирования КА в симпатических терминалях, мы наблюдали практически полное исчезновение адреноспецифической флюоресценции на срезах коры надпочечников и миокарда (табл.9). Эти результаты согласуются с данными литературы [31, 124] и свидетельствуют об истощении запасов адренергических веществ в синапсах.

В процессе дальнейших опытов мы смогли убедиться в невозможности моделирования стрессорного повреждения сердца после такого фармакологического истощения депо КА в периферических симпатических терминалях. Об этом свидетельствовало отсутствие стресс-индуцированного усиления аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата при 24-часовой иммобилизации крыс этой серии (рис. 4).

Полученные данные позволяют прийти к заключению о том, что отсутствие катехоламинов в адренергических терминалях прерывает патогенетическую цепь стрессорного повреждения сердца.

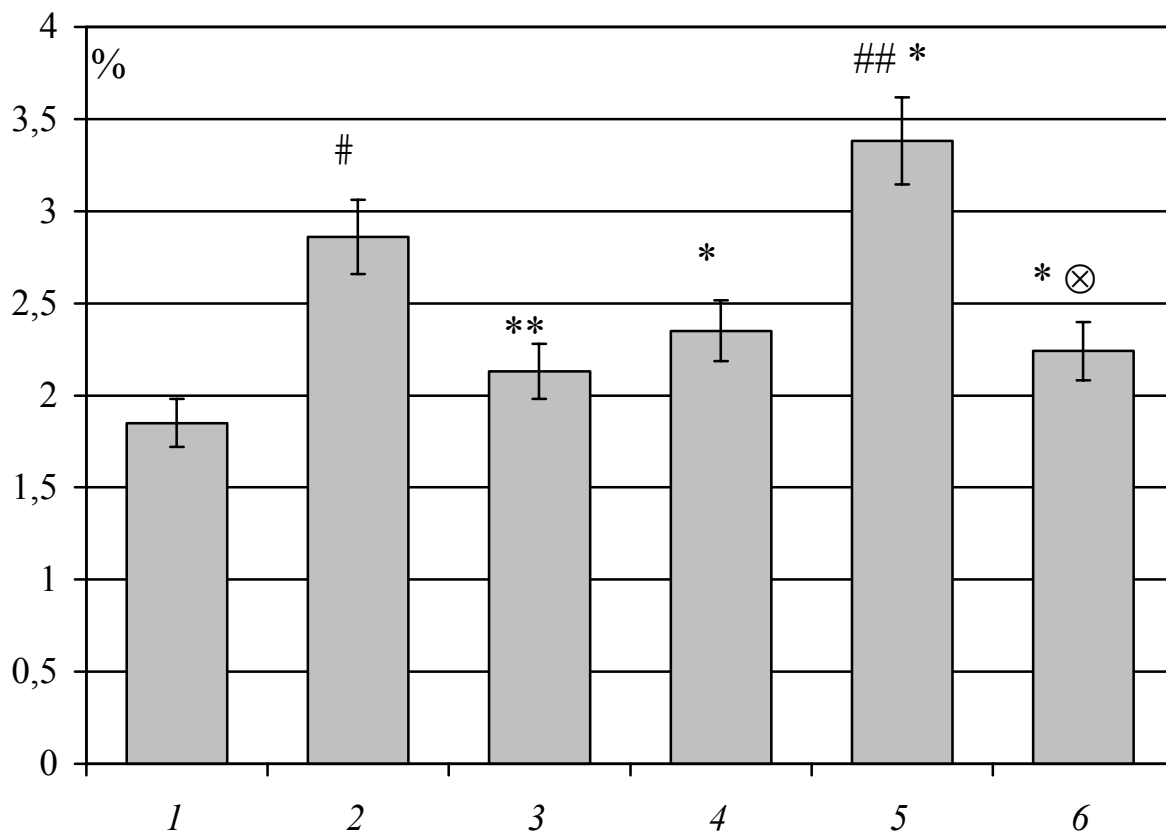


Рис. 4. Влияние адреномодуляторов на интенсивность аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в сердце крыс (% введенной дозы/г ткани  $\times 10^{-2}$ ) при иммобилизационном стрессе ( $X \pm m$ )

Условные обозначения:

1. Интактные крысы (n=10)
2. Иммобилизационный стресс, 24 ч (n=12)
3. Стресс + бретилиум, 10 мг/кг (n=12)
4. Стресс + гуанетидин, 50 мг/кг (n=12)
5. Стресс + DAGO 20 мкг на крысу, i.c.v. (n=12)
6. Стресс + гуанетидин 50 мг/кг + DAGO 20 мкг/крысу, (n=12)

Примечание: # $p < 0,05$ , достоверные различия по отношению к интактным животным, \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  - то же по отношению к стресс-контролю; ⊗ -  $p < 0,01$  - по отношению к группе стресс + DAGO (внутри мозговое введение) (t-тест Стьюдента). n - количество животных в группе. DAGO вводили интрацеребровентрикулярно, за 30 мин до стресса и через 12 час после начала иммобилизации. Бретилиум вводили внутривентрикулярно за 30 мин до стресса и через 12 час после начала иммобилизации. Гуанетидин вводили в течении трех суток до иммобилизации (исключая день эксперимента) один раз в день.





Таблица 9.

Влияние адrenomодуляторов на гистохимические показатели содержания катехоламинов в надпочечниках и сердце крыс при иммобилизационном стрессе (24 ч) ( $X \pm m$ )

n/ n	Серии эксперимента	n	Интенсивность флюоресценции катехоламинов в хромаффинных клетках мозгового вещества надпочечников (усл. ед.)	Плотность адренергических волокон в миокарде (% об.)
1	Интактные крысы	10	$6,1 \pm 0,3$	$2,2 \pm 0,1$
2	Стресс-контроль	11	$3,1 \pm 0,1$ $p_1 < 0,01$	$1,1 \pm 0,1$ $p_1 < 0,01$
3	Стресс + бретилиум 10 мг/кг	12	$4,2 \pm 0,4$ $p_1 < 0,05$ $p_2 < 0,05$	$1,65 \pm 0,1$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
4	Гуанетидин, 50 мг/кг	10	$1,3 \pm 0,01$ $p_1 < 0,01$	$0,0 \pm 0,09$ $p_1 < 0,01$
5	Стресс + гуанетидин, 50 мг/кг	8	$1,2 \pm 0,02$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$	$0,0$ $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$

Примечание:  $p_1$  - достоверные различия по отношению к интактным животным,  $p_2$  - то же по отношению к стресс-контролю (t-тест Стьюдента). n - количество животных в группе. DAGO вводили интрацеребровентрикулярно, за 30 мин до стресса и через 12 час после начала иммобилизации. Бретилиум вводили внутривентрикулярно за 30 мин до стресса и через 12 час после начала иммобилизации. Гуанетидин вводили в течении трех суток до иммобилизации (исключая день эксперимента) один раз в день.

У животных, дважды получавших во время иммобилизации бретилийум (10 мг/кг), который в этой дозировке ингибирует выброс КА из адренергических структур [130], степень стрессорного повреждения сердца была на 25% ниже, чем в группе стресс-контроля. Гистохимический анализ показал, что содержание катехоламинов в миокарде и коре надпочечников при этом оказалось увеличенным, соответственно на 54% и 35% по сравнению со стресс-контролем.

Результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что предотвращение выброса норадреналина, также как и обеднение запасов медиатора в терминалях, практически полностью предупреждает повреждение сердца при последующем стрессе. Мы также расцениваем это в качестве прямого доказательства адренергической природы стресс-индуцированного повреждения кардиомиоцитов.

Если исходить из того, что избыточная секреция катехоламинов в условиях стресса предопределяет возникновение повреждений кардиомиоцитов в условиях стресса, то можно предположить, что "кардиотоксическое" действие агонистов  $\mu$ -опиатных рецепторов при их центральном введении стрессированным крысам может быть связано с повышением активности симпатической нервной системы. В пользу этого свидетельствует и обнаруженный G.R.VanLoon [174, 175, 191, 203, 261] факт повышения тонуса симпатического звена вегетативной нервной системы при стимуляции центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов.

Наши данные о том, что интрацеребровентрикулярное введение DAGO способствует ослаблению флюоресценции катехоламинов в миокарде стрессированных крыс, говорит о потенцирующем эффекте данного  $\mu$ -агониста в отношении мобилизации эндогенных КА. Этот факт также подтверждает нашу гипотезу о том, что "кардиотоксический" эффект стимуляции центральных опиатных рецепторов, скорее всего, связан с изменением секреции катехоламинов.

Аргументом в пользу адренергической природы усиления стрессорного повреждения миокарда на фоне активации центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов можно считать и данные наших экспериментов с центральным введением DAGO при иммобилизации крыс с истощенными депо КА в нервных терминалях. Так,

после предварительного 3-дневного курса гуанетидина накопление  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде под влиянием внутримозгового введения DAGO происходило на 73% достоверно менее интенсивно, чем в группе “стресс + внутримозговое введение DAGO” и на 22% слабее, чем в стресс-контроле (рис. 4). Полученные в ходе этих опытов результаты показывают, что не происходит усугубления стрессорного повреждения сердца при введении DAGO животным с истощенными депо КА. Более того, величина аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в этой экспериментальной группе была даже ниже, чем в стресс-контроле и достоверно не отличалась от уровня интактных животных.

Таким образом, нам удалось выяснить, что эффекты активации центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов опосредуются через изменение активности симпатической нервной системы и модуляцию выброса адреномедиатора из нервных терминалей. Косвенным подтверждением тому служит и преимущественная локализация кардиальных  $\mu$ -опиатных рецепторов на аксонах адренергических нейронов, тогда как на мембранах кардиомиоцитов опиатные рецепторы данного типа радиолигандными методами не обнаруживаются [149, 263] или выявляются лишь в следовых количествах [101, 201].

Результаты экспериментов, представленные в главе 3.1.1, убедили нас в том, что стимуляция периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов с помощью системного введения DAGO или DALDA способствует значительному снижению миокардиальной аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата (а, следовательно, и уменьшению мембранных повреждений в сердце [210]) при иммобилизационном стрессе (табл.4). Высокий уровень КА в ткани миокарда и надпочечников этих животных (табл. 8), скорее всего, является результатом «адреносберегающего» действия опиоидов [142,143,163,176,177] и позволяет говорить о том, что подобный эффект агонистов  $\mu$ -ОР при периферическом введении может быть основой их кардиопротекторного эффекта. Излишне говорить о том, что аналогичная закономерность будет справедлива и вообще для активации периферических  $\mu$ -ОР.

Для доказательства данного предположения мы провели эксперименты, в которых исследовали кардиопротекторный эффект системного введения агониста  $\mu$ -ОР DALDA при изадриновой и индуцированной ингибитором MAO модели повреждения миокарда, то есть в тех ситуациях, когда влияние других, кроме КА, патогенетических факторов минимизировано.

В ходе этих опытов мы обнаружили, что через 24 ч после введения изадрина аккумуляция  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс происходила в 3,2 раза более интенсивно, чем у интактных особей (рис.5). Предварительное периферическое введение  $\mu$ -агониста DALDA сопровождалось достоверным снижением этого показателя на 21% (рис.5). На основании этих данных мы можем предположить, что активация периферических опиатных рецепторов  $\mu$ -типа способствует уменьшению интенсивности адреналового повреждения кардиомиоцитов, вероятнее всего, за счет снижения чувствительности постсинаптических мембран к прямому воздействию КА.

Накопление избыточного количества медиатора в синаптической щели адренергических синапсов, достигаемое сочетанным применением ингибитора моноаминоксидазы клоргиллина [170] и либератора эндогенных КА тирамина приводило к усиленному накоплению  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде интактных животных (рис.6). Этот факт говорит в пользу того, что эндогенные катехоламины, которые выбрасываются под действием тирамина и не разрушаются моноаминоксидазой, способны повреждать практически здоровый миокард крыс без дополнительного стрессорного или любого иного воздействия. Предварительная активация  $\mu$ -ОР с помощью системного введения DALDA, в значительной степени, нивелировала «кардио-токсическое» действие избытка эндогенных катехоламинов, судя по тому, что накопление  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде крыс этой экспериментальной группы происходило на 28% менее интенсивно, чем у животных предыдущей (контрольной) серии (рис.6).

Весьма сходные результаты оценки повреждающего действия иммобилизационного стресса, а также высоких доз изадрина или избытка эндогенных КА на миокард наводят на мысль о патогенетической общности

указанных воздействий. Попытки отождествить природу стрессорных и адреналовых повреждений миокарда предпринимались и ранее.

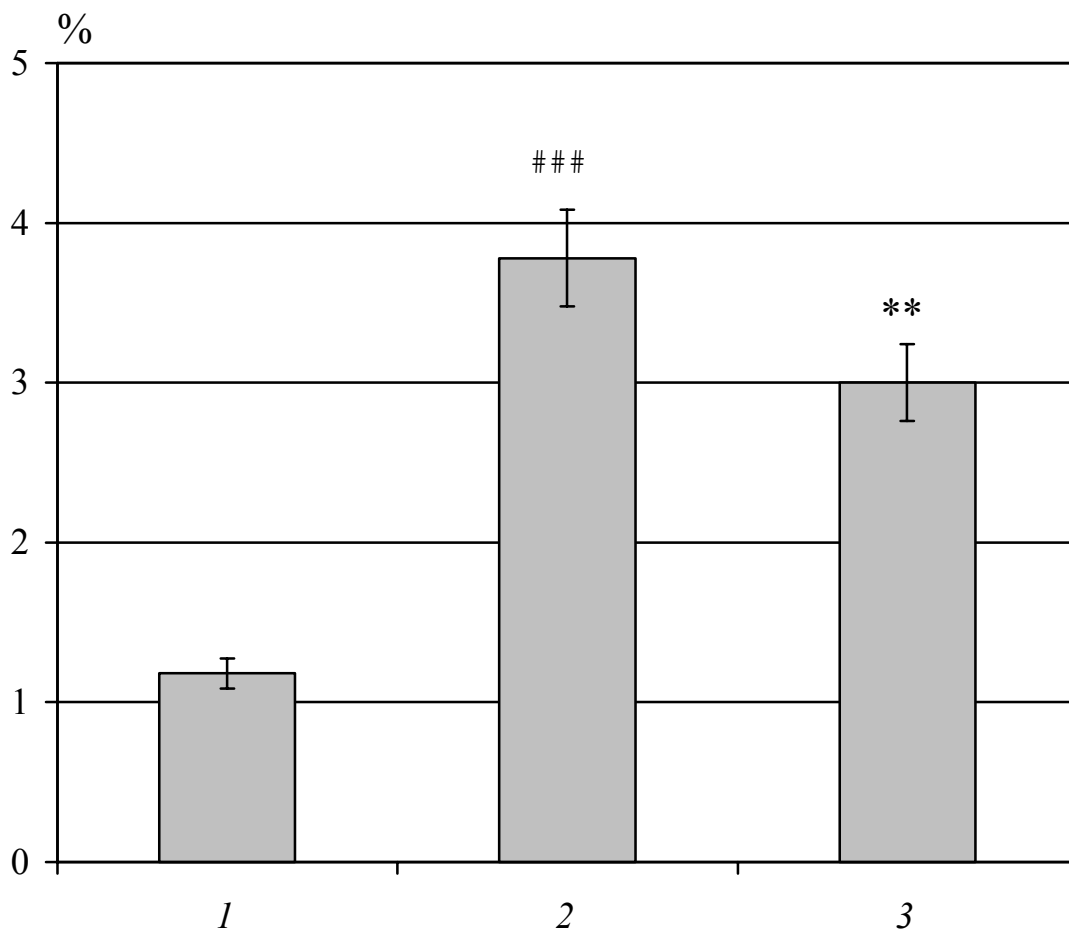


Рис. 5. Влияние лиганда  $\mu$ -ОР DALDA на аккумуляцию  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ при введении изадрина (% от общей дозы/г ткани  $\times 10^{-2}$ ), ( $\bar{X} \pm m$ ).

Серии эксперимента:

- 1 - Интактные,  $n=12$ ;
- 2 - Изадрин, 40 мг/кг,  $n=12$ ;
- 3 - Изадрин, 40 мг/кг + DALDA, 0,1 мг/кг,  $n=12$ .

Примечания: ### =  $p < 0,001$  - достоверные различия по отношению к интактным животным, (t-критерий Стьюдента); \*\* =  $p < 0,01$  - то же по отношению к изадрину. Изадрин вводили однократно, за 24 ч до введения  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ. DALDA вводили двукратно за 30 мин до и через 12 часов после введения изадрина.

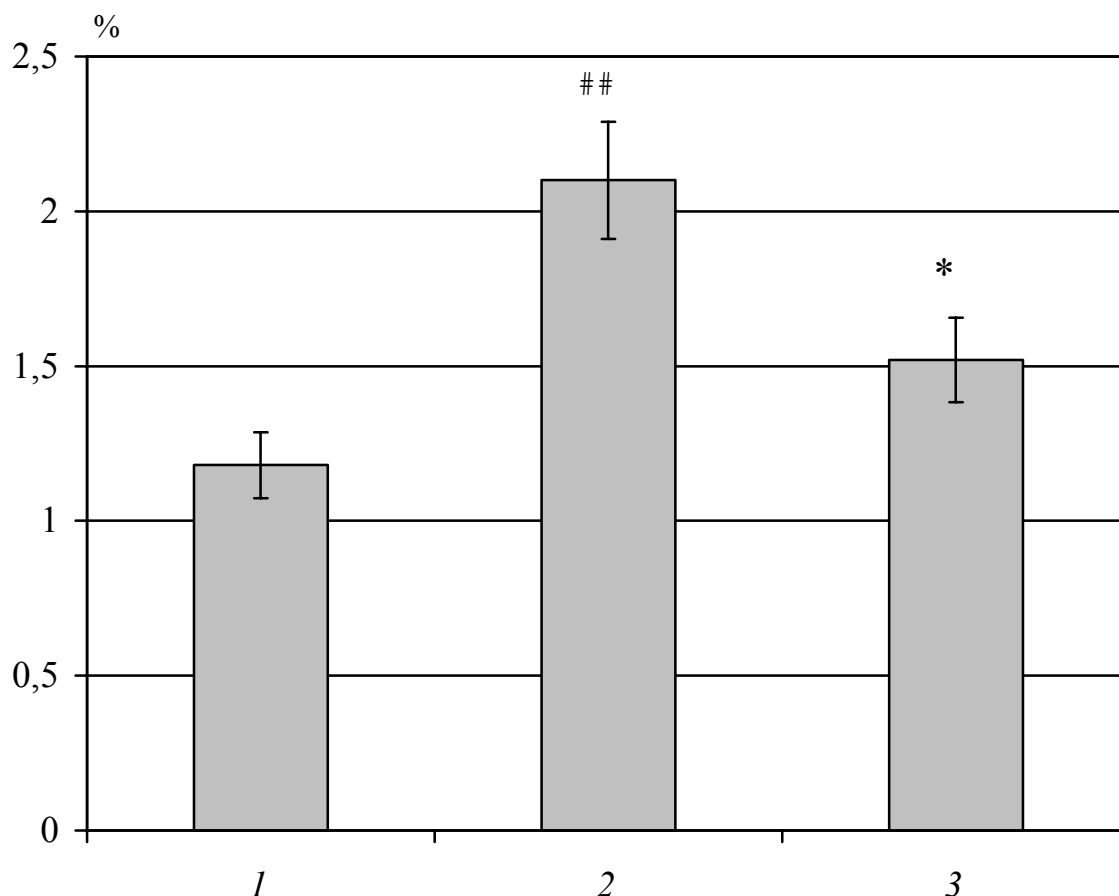


Рис. 6. Влияние агониста  $\mu$ -ОР DALDA на аккумуляцию  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ при повреждении миокарда, индуцированном введением клоргилина и тирамина. (% от общей дозы/г ткани  $\times 10^{-2}$ ), ( $\bar{X} \pm m$ ).

Серии эксперимента:

- 1 - Интактные, n=14;
- 2 - Клоргилин, 2 мг/кг + тирамин, 10 мг/кг, n=12;
- 3 - Клоргилин, 2 мг/кг + тирамин, 10 мг/кг + DALDA, 0,1 мг/кг, n=12.

Примечания: ## =  $p < 0,01$  - достоверные различия по отношению к интактным животным, (t-критерий Стьюдента); \* =  $p < 0,05$  - то же по отношению к группе клоргилин + тирамин. Клоргилин и тирамин вводили внутривенно двукратно в течении суток. DALDA вводили внутривенно, двукратно: за 30 мин до и через 12 часов после первого введения адреномодуляторов.

Ряд авторов [76, 169, 229, 245], ориентируясь на морфологическую картину этих двух типов повреждения, полагают, что в основе альтерации кардиомиоцитов при стрессе лежит избыточный выброс катехоламинов. Результаты наших экспериментов с использованием изадрина и модуляторов синаптического обмена моноаминов можно считать прямым подтверждением этой гипотезы.

Вместе с тем, оставалось неясным, в какой степени способность опиоидов к модуляции симпато-адреналовой активности определяет механизм их кардиопротекторного действия?

Согласно представленным выше результатам наших исследований по накоплению  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде (табл.4; рис.5-6), активация периферических  $\mu$ -ОР способствовала уменьшению альтерации кардиомиоцитов, вызванной любой из трех использованных моделей повреждения. Следует подчеркнуть, что основное патогенетическое звено повреждения сердца при всех этих воздействиях имеет «адреналовую окраску», так как стресс непременно сопровождается гиперсимпатикотонией [8, 59, 71, 76, 147], а при введении изадрина или модуляторов синаптического обмена КА мы можем практически полностью исключить другие повреждающие факторы.

Аналогичные результаты на моделях стрессорного и изадринового повреждения были получены в нашей лаборатории при использовании неселективного агониста  $\mu$ - и  $\delta$ -рецепторов даларгина [41]. Эти данные, а также известные литературные сведения о физиологическом антагонизме между опиоидами и катехоламинами [142, 143, 275, 276], убеждают нас в том, что кардиопротекторный эффект активации периферических  $\mu$ -рецепторов при стрессе опосредуются именно через адренергические механизмы.

Применительно к нашему случаю, целесообразно рассмотреть два возможных механизма адреномодулирующего действия  $\mu$ -агонистов:

- опиатергическое торможение выброса норадреналина из периферических симпатических терминалей миокарда на пресинаптическом уровне [140, 142, 143, 219];

- снижение чувствительности постсинаптического мембрано-рецепторного комплекса к КА за счет функционального антагонизма между опиоидными пептидами и адреномедиаторами на уровне аденилатциклазы [275].

Тот факт, что активация периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов сопровождается повышением устойчивости сердца к повреждению, вызываемому как экзогенным введением изадрина, так и фармакологически-индуцированным повышением уровня эндогенных катехоламинов в синапсах, позволяет предполагать, названные эффекты опосредуются через торможение адренергических реакций на постсинаптическом уровне.

Однако эта гипотеза противоречит данным о локализации кардиальных  $\mu$ -опиатных рецепторов, преимущественно, на аксонах адренергических нейронов [149]. При этом на сарколемме кардиомиоцитов обнаружить данные рецепторы пока не удалось [263, 264]. Кроме того, в экспериментах на изолированных кардиомиоцитах было показано, что агонисты  $\mu$ -ОР при добавлении в инкубационную среду не оказывают «прямого» действия на миокард [264, 276]. Следовательно, основная опосредующая роль в опиатергической защите миокарда при стрессе принадлежит, по-видимому, пресинаптическим структурам.

Такая гипотеза позволяет практически однозначно объяснить механизм кардиопротекторного эффекта агонистов периферических  $\mu$ -ОР при стресс-индуцированном повреждении миокарда. Можно предположить, что активация  $\mu$ -ОР, расположенных на пресинаптических мембранах адренергических нервных терминалей миокарда [149], влечет за собой торможение стимулированного при стрессе выброса норадреналина в синаптическую щель [142, 143]. Это, в свою очередь, уменьшает степень адренергического воздействия на сарколемму кардиомиоцита, что сопровождается ослаблением аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в ткани сердца до фоновых значений.

Высказанное предположение косвенно подтверждается и обнаруженным нами “адреносберегающим” эффектом агонистов  $\mu$ -ОР DAGO и DALDA (табл. 8).

Несколько более сложным, но принципиально таким же, представляется нам механизм  $\mu$ -опиатергической защиты сердца при изадриновом некрозе. Дело в том,



что на постсинаптической мембране нервно-мышечных соединений опиатные рецепторы морфинового типа до настоящего времени не идентифицированы [263, 264]. Следовательно, агонисты  $\mu$ -ОР могут реализовать свое кардиопротекторное действие при изадринном повреждении опять-таки только через пресинаптическую модуляцию выброса КА. При этом важно отметить, что повреждение кардиомиоцитов при введении высоких дозировок изадрина происходит не только за счет прямого влияния экзогенного моноамина на их мембраны, но и в результате стимулированного им освобождения КА из симпатических нервных терминалей [25]. Более того, по некоторым данным [25], именно этот “вторичный выброс” эндогенных КА играет главную роль в патогенезе изадринного повреждения сердца.

Сходные процессы происходят, по-видимому, и при опиатергической модуляции адреналовых повреждений, вызванных введением либератора эндогенных КА тирамина и ингибитора моноаминоксидазы клоргиллина.

Таким образом, в результате проведенных экспериментов мы получили достаточно убедительные доказательства важной роли периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов в механизмах повышения устойчивости сердца к повреждениям, патогенетически связанным с гиперсимпатикотонией.

#### КРАТКОЕ РЕЗЮМЕ ГЛАВЫ 3.2:

- неадекватно высокая активность симпато-адреналовой системы является основным патогенетическим звеном стрессорных повреждений миокарда;
- стимуляция центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов потенцирует освобождение КА из нервных терминалей миокарда и надпочечников, что влечет за собой снижение резистентности миокарда к повреждающему действию стресса;
- активация периферических рецепторов морфинового типа сопровождается снижением выброса КА из симпатических нервных терминалей миокарда и надпочечников, что способствует уменьшению степени стрессорного повреждения сердца.

### 3.3. Роль системы эйкозаноидов в реализации опиатергических влияний на устойчивость миокарда к стресс-индуцированным повреждениям

Ряд современных исследователей считают, что важную роль в процессах формирования и предупреждения стресс-индуцированных повреждений кардиомиоцитов играет не только симпато-адреналовая система, но и так называемые периферические "стресс-лимитирующие системы" [41, 76, 97]. К их числу относят, в частности, и систему метаболитов арахидоновой кислоты - простагландины, а так же систему антиоксидантов. В качестве аргументов для доказательства этого положения можно привести данные о кардиопротекторных эффектах антиоксидантов [82, 107], простагландинов [63, 97], в том числе - простаглицлина и его стабильных аналогов [189].

Из литературных данных известно, что неселективный агонист  $\mu$ - и  $\delta$ -опиатных рецепторов даларгин способен модулировать процессы пероксидации липидов и биосинтеза простагнандинов в миокарде в условиях стресса и адренергического повреждения сердца [54, 57]. В определенной мере, эти данные согласуются с результатами наблюдений G.M.Scoto и соавт. [240], доказавших существование взаимосвязи гастропротекторного эффекта опиоидов с активацией биосинтеза простагнандинов у стрессированных животных. В свете сказанного логичной будет выглядеть гипотеза о том, что эндогенные опиоидные пептиды, модулируя уровень простагнандинов и липоперекисей, могут предопределять возникновение или отсутствие стрессорных повреждений сердца. Вместе с тем, вопросы о роли различных субпопуляций опиатных рецепторов в регуляции уровня простагнандинов и продуктов липопероксидации при стрессе остаются открытыми. Более того, остается неясным, является ли способность лигандов опиатных рецепторов изменять баланс простагнандинов и интенсивность перекисного окисления липидов компонентом их кардиопротекторного действия при стрессе. Эти предпосылки и послужили поводом к проведению нижеследующих исследований.

#### 3.3.1. Роль простагнандинов в механизмах опиоидергической защиты миокарда при стрессе

### 3.3.1.1. Изменение уровня простагландинов в плазме крови и миокарде стрессированных крыс на фоне предварительного введения лигандов опиатных рецепторов

После 24 ч иммобилизационного стресса мы наблюдали повышение уровня тромбосана В<sub>2</sub> в плазме крови и миокарде крыс, соответственно, на 52% и 20% (Табл. 10) по отношению к группе интактных животных. Содержание простаглицлина в миокарде при этом снижалось на 36%, а в плазме крови - на 37%. Индекс "простаглицлин/тромбосан" после стрессировующего воздействия снизился, таким образом, в 2,2 раза для плазмы крови и в 1,9 раза для миокарда, что является характерным для стресс-реакции [54, 90]. Дисбаланс системы простаглицлинов может возникать в данном случае вследствие повышенного при стрессе уровня катехоламинов в плазме крови, поскольку в литературе встречаются сообщения о том, что экзогенное введение адреналина сопровождается увеличением выброса тромбосана А<sub>2</sub> [196].

После стимуляции периферических  $\mu$ -рецепторов (DALDA, 0,1 мг/кг, внутрибрюшинно) у стрессированных крыс отмечалось достоверное увеличение уровня простаглицлина на 43% в плазме крови, а также снижение тромбосана в сердце на 40% и в плазме крови на 15% по сравнению со стресс-контролем (табл.10). В результате индекс "простаглицлин/тромбосан" увеличился в 1,7 (плазма крови) и 1,4 раза (миокард). Аналогичные, но несколько менее выраженные изменения содержания простаглицлинов мы наблюдали при системном введении другого лиганда периферических  $\mu$ -ОР DAGO. Содержание тромбосана в ткани миокарда снизилось на 21% ( $p < 0,05$ ), в плазме крови на 12%; количество его физиологического антагониста простаглицлина в ткани миокарда по сравнению с аналогичными показателями у животных стресс-контроля достоверно не изменилось.

После одновременной блокады центральных и периферических  $\mu$ -рецепторов налтрексоном наблюдалось достоверное снижение содержания тромбосана в плазме крови на 20%, а уровень простаглицлина увеличился в 1,6 раза. Таким образом, индекс "простаглицлин/тромбосан" для плазмы оказался выше, чем в

стресс-контроле, в 1,25 раза. Однако в ткани миокарда достоверных изменений уровня простаноидов после введения данного препарата нами обнаружено не было.

На основании проведенных экспериментов мы предположили, что немаловажная роль в патогенезе стрессорного повреждения сердца принадлежит простаноидам. Так, помимо наших данных, ясно показывающих изменение соотношения простагландинов при стрессорном воздействии и коррекцию этих сдвигов агонистами  $\mu$ -ОР, известно, что простациклин и его стабильные аналоги способны предупреждать изадриновое повреждение миокарда [189] и ингибировать освобождение норадреналина из симпатических терминалей в миокарде [271]. С другой стороны, известна способность стабильных аналогов простациклина предотвращать активацию перекисного окисления липидов в кардиомиоцитах [172]. Опубликованные ранее данные [40, 54, 240] и результаты настоящих экспериментов свидетельствуют о том, что в условиях стресса уровень эндогенных простаноидов подвержен опиатергической модуляции. Эти факты позволяют выдвинуть простаноиды на одно из первых мест в ряду потенциальных систем, через активацию которых реализуется кардиопротекторный эффект опиоидов. Подтверждением этой мысли могут служить результаты наших экспериментов с индометацином.

### 3.3.1.2. Влияние ингибитора циклооксигеназы индометацина на проявления кардиотропных эффектов опиоидов при стрессе

В настоящем исследовании мы попытались выяснить, какую роль в возникновении стрессорного повреждения миокарда играют простагландины и опосредуются ли через изменение их уровня кардиопротекторные эффекты опиоидов при иммобилизационном стрессе.

Наши исследования показали, что инъекция индометацина (ингибитор циклооксигеназы) на фоне стресса способствовала достоверному снижению степени стрессорного повреждения сердца по отношению к стресс-контролю, на что указывало уменьшение аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата на 44% (рис. 7).

Полученный результат можно трактовать как доказательство важной роли простагландинов в возникновении стрессорного повреждения миокарда. Однако, на первый взгляд, представляется парадоксальным, что блокада синтеза всех простаноидов (и тромбксана, и простациклина) предупреждает развитие стрессорных повреждений. Эти два соединения являются физиологическими антагонистами и было бы логичным предположение о том, что блокада циклооксигеназы, фермента, отвечающего за образование обеих изучаемых нами компонентов системы простаноидов сохраняет их баланс и, следовательно не может влиять на степень повреждения миокарда при стрессе. Данные результаты можно объяснить, если встать на точку зрения о том, что в основе кардиопротекторного эффекта индометацина лежит в первую очередь уменьшение содержания тромбксана, являющегося, как известно, важным патогенетическим фактором повреждения сердечной мышцы [270]. По-видимому, снижение содержания простациклина в данном случае играло не столь важную роль, поскольку основная его функция в норме и при развитии патологических нарушений в миокарде - противодействие эффектам тромбксана [270], синтез которого мы уже ингибировали путем введения индометацина. Подтверждением данному предположению может отчасти служить тот факт, что другие ингибиторы циклооксигеназы - аспирин, также обладают кардиопротекторными свойствами [166], а так же то, что индометацин коррегировал стресс-индуцированные нарушения сократимости сердца при стрессе [118].

В наших экспериментах ингибитор циклооксигеназы индометацин в значительной степени нивелировал кардиопротекторный эффект активации периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов (рис. 7), аккумуляция  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата при этом увеличилась на 26% по отношению к группе крыс «Стресс+DALDA», но продолжала достоверно отличаться от уровня данного показателя у животных стресс-контроля.

То, что предварительная инъекция индометацина существенно ослабляла защитный эффект DALDA, на первый взгляд, противоречит логике, так как блокада синтеза простаноидов без последующей активации периферических опиатных

рецепторов, сама по себе, способствовала защите сердца от стрессорного повреждения (рис. 7).

Видимо, данные результаты можно объяснить тем, что под действием индометацина происходило снижение биосинтеза всех простаноидов, в том числе и тромбксана, играющего, как известно, патогенетическую роль в повреждении сердечной мышцы [270]. Именно этим мы и склонны объяснить защитный эффект индометацина при иммобилизационном стрессе. Вместе с тем, индометацин ингибирует и синтез простаглицина, с модуляцией биосинтеза которого мы, отчасти, склонны связывать кардиопротекторный эффект активатора периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов DALDA, поскольку вышеназванный пептид значительно увеличивал содержание 6-кето-простаглицина- $F_{2\alpha}$  в плазме крови стрессированных крыс (табл. 10). Рассуждая подобным образом, можно логически достичь понимания того, почему на фоне блокады циклооксигеназы происходит ослабление кардиопротекторного эффекта DALDA при стрессе. Таким образом, мы пришли к заключению, что увеличение выброса простаглицина является важным компонентом кардиопротекторного эффекта активации  $\mu$ -опиатных рецепторов.

На наш взгляд, можно рассматривать, по крайней мере, три основных момента влияния простаглицина на устойчивость миокарда к стрессу.

1. Способность простаглицинов модулировать адренергические влияния на миокард. В последние годы опубликовано несколько работ, посвященных взаимодействию простаноидов с медиаторами симпатического звена вегетативной нервной системы. Показано, например, что простаглицин может блокировать действие норадреналина на миокард путем модуляции симпатической нейротрансмиссии [271]. Другими исследователями показана способность илопроста (стабильного аналога простаглицина) предотвращать выброс норадреналина из нервных окончаний миокарда при ишемии и реперфузии, а также при электрической стимуляции симпатических нервных волокон [239]. С другой стороны имеются данные о том, что простаглицины способны снижать внутриклеточный ответ кардиомиоцита на адреностимуляцию. Так, показано [189, 274], что при введении простаноидов угнетается адреналин-

индуцированный синтез цАМФ в клетках сердца. Эта способность простагландинов модулировать адренергические влияния на миокард наводит на мысль о присутствии кардиопротекторных эффектов этих веществ при стрессе.

2. Обнаружена связь между системой простагландинов и перекисным окислением липидов. Так, простагландин способен ослаблять ПОЛ в мембранах кардиомиоцитов, активированное введением адреналина [172].

3. Обладая вазоактивными свойствами [206], простагоиды способны увеличивать коронарный кровоток, что может быть немаловажным фактором развития либо предупреждения стрессорных повреждений.

Нельзя не отметить, что ингибирование синтеза эйкозаноидов лишь частично устраняло положительное кардиотропное влияние опиоидов, а кардиопротекторный эффект DALDA был сильнее, чем аналогичное действие индометацина. Эти факты наводят на мысль о том, что в реализации защитного действия  $\mu$ -агонистов, связанного с активацией кардиальных рецепторов, наряду с простагоидами принимают участие и другие представители системы эйкозаноидов.

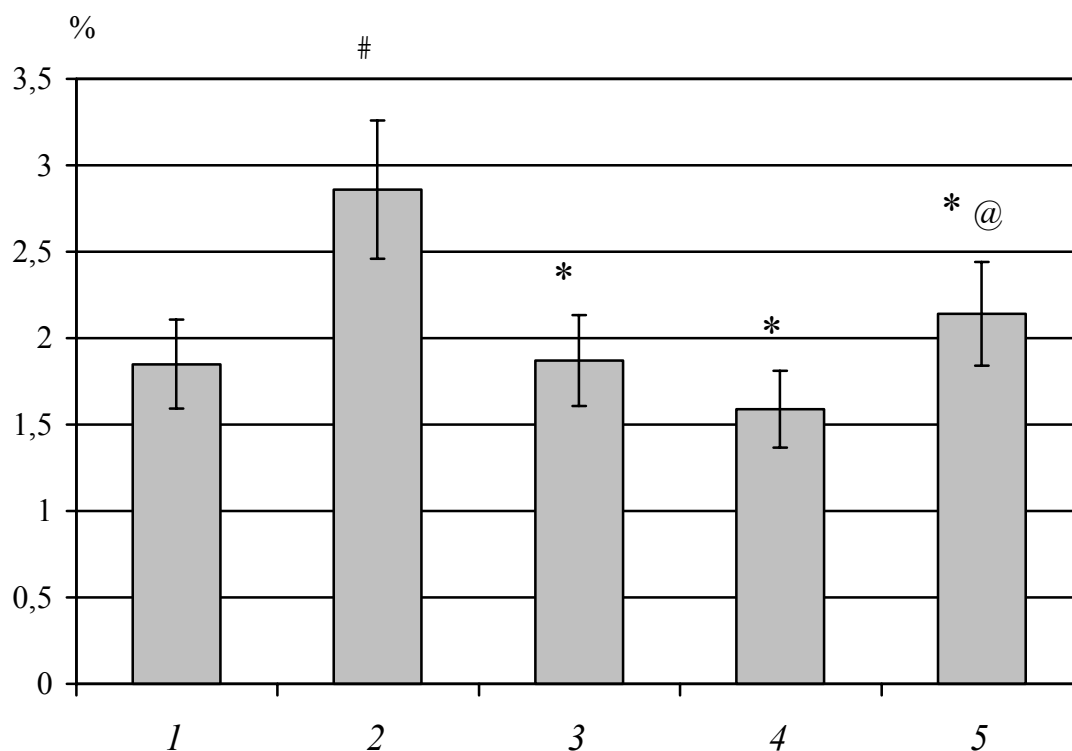


Рис. 7. Влияние DALDA и индометацина на степень повреждения сердца крыс при иммобилизационном стрессе (Аккумуляция  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ; % от дозы/г ткани  $\times 10^{-2}$ ), ( $\bar{X} \pm m$ ).

Серии экспериментов:

1. Интактные животные,  $n=10$
2. Иммобилизационный стресс (24 ч),  $n=14$
3. Стресс + индометацин, 5 мг/кг  $n=11$
4. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг  $n=10$
5. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг + индометацин, 5 мг/кг  $n=9$

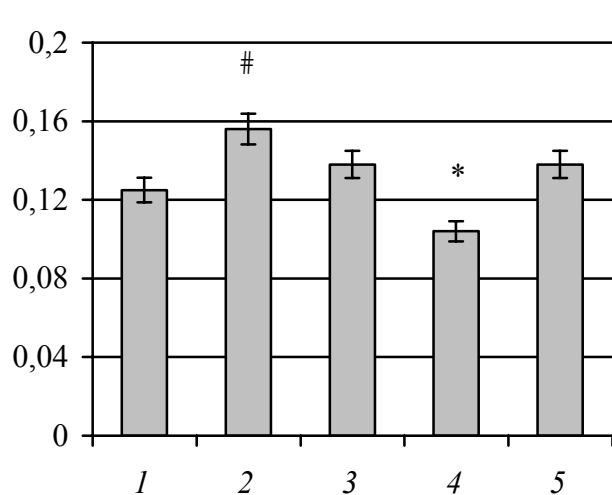
Примечания: # $p < 0,05$ , достоверные различия по отношению к интактным животным, \* $p < 0,05$ , - то же по отношению к стресс-контролю; @  $p < 0,05$  - то же по сравнению с группой животных "Стресс+DALDA" (t-тест Стьюдента).  $n$  - количество животных в группе. Все препараты вводили внутривенно, за 30 мин до стресса и через 12 ч после начала иммобилизации.



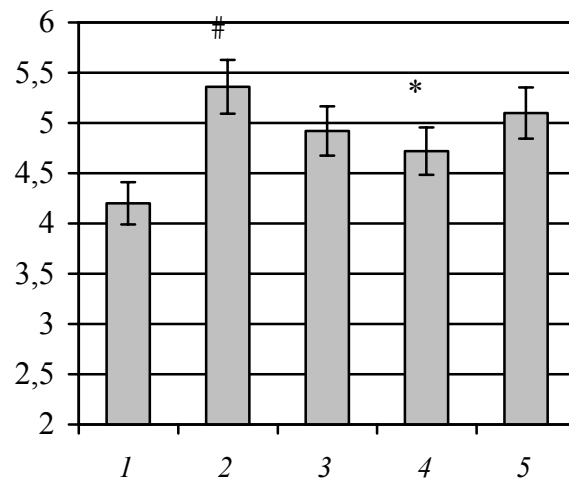
### 3.3.2. Роль липоперекисей в механизмах опиатергической защиты миокарда при стрессе

Известно, что активация перекисного окисления липидов является важным патогенетическим звеном стрессорного повреждения миокарда [20, 79, 82, 145]. В выполненных ранее работах нашей лаборатории было показано, что энкефалины способны ингибировать активацию процессов перекисного окисления липидов в изолированном перфузируемом сердце [51], а так же *in vivo* при эмоционально-болевым стрессе [54].

В наших исследованиях нам удалось воспроизвести стресс-индуцированное увеличение содержания продуктов перекисного окисления липидов в миокарде крыс при иммобилизации (рис.8). Так, содержание малонового диальдегида в ткани миокарда возросло при стрессе на 25%, а диеновых конъюгатов - на 28%. Предварительное введение DALDA привело к снижению МДА на 33%, а ДК на 12% по сравнению со стресс-контролем. Результаты настоящей работы, в которой показано снижение уровня малонового диальдегида после предварительного введения DALDA (рис.8), согласуются с нашими данными о стресс-индуцированном усилении аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде при иммобилизационном стрессе (табл. 4). Следовательно, способность опиоидных пептидов влиять на активность процессов липидной пероксидации может играть определенную роль в защите миокарда при стрессе. При этом следует обратить внимание на тот факт, что активация свободно-радикального окисления липидов с помощью аскорбата железа *in vitro* способствует увеличению в миокарде синтеза тромбксана при одновременном снижении продукции простациклина [51].



МАЛОНОВЫЙ ДИАЛЬДЕГИД  
(нмоль/мг ткани)



ДИЕНОВЫЕ КОНЬЮГАТЫ  
(нмоль/мг ткани)

Рис. 8. Влияние периферического введения лигандов опиатных рецепторов на содержание продуктов перекисного окисления липидов в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе ( $\bar{X} \pm m$ ).

Серии эксперимента:

1. Интактные крысы n=14
2. Иммобилизационный стресс, 24 ч, n=14
3. Стресс + DAGO, 0,1 мг/кг, n=12
4. Стресс + DALDA 0,1 мг/кг, n=10
5. Стресс + налтрексон, 0,5 мг/кг, n=12

Примечание: <sup>#</sup>p<0,05 - достоверность по отношению к интактным животным; <sup>\*</sup>p<0,05 - достоверность по отношению к стресс-контролю (t-тест Стьюдента). n - количество животных в группе. Все препараты вводили за 30 мин до и через 12ч после начала стрессорного воздействия.

Всё вышесказанное позволяет увязать эти процессы в единую патогенетическую цепь стрессорного повреждения миокарда, на функционировании которой может отражаться стимуляция или блокада периферических  $\mu$ -рецепторов.

К сожалению, полученные нами данные о влиянии энкефалинов на содержание продуктов ПОЛ и простаноидов не позволяют нам ответить на вопрос о механизме усиления повреждающего действия стресса при активации центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов. Однозначно мы можем констатировать только то, что простаноиды и продукты перекисного окисления липидов не принимают участия в реализации этого эффекта. Так, сочетанная блокада периферических и центральных опиатных рецепторов с помощью налтрексона способствовала снижению степени стрессорных повреждений сердца, однако не оказывала эффекта на уровень липоперекисей и практически не влияла на содержание простагландинов в ткани миокарда (рис. 8, табл. 10). Таким образом, мы можем полностью исключить стрессорные изменения простаноидов и липоперекисей из числа предполагаемых механизмов, опосредующих центральные опиатергические влияния на устойчивость сердца к повреждениям в экстремальных ситуациях.

#### КРАТКОЕ РЕЗЮМЕ ГЛАВЫ 3.3.:

- Активация периферических  $\mu$ -ОР, в значительной мере, корригирует стресс-зависимые изменения индекса простагландинов и увеличение продуктов ПОЛ в ткани миокарда и плазме крови крыс.
- Блокада синтеза простаноидов индометацином снижает выраженность кардиопротекторного эффекта активации  $\mu$ -ОР.
- Активация  $\mu$ -ОР снижает стресс-индуцированное увеличение интенсивности ПОЛ в мембранах кардиомиоцитов.

### 3.4. Взаимосвязь кардиотропного действия опиоидов с интенсивностью процессов биосинтеза белка у крыс при иммобилизационном стрессе

Исследованиями, проведенными ранее, было показано, что неселективный лиганд  $\mu$ - и  $\delta$ - опиатных рецепторов даларгин предупреждает стресс-индуцированное снижение интенсивности процессов биосинтеза белка и нуклеиновых кислот в сердечной мышце [70], предупреждая при этом стрессорное повреждение сердца. Мы склонны рассматривать модулирующее влияние лигандов опиатных рецепторов на баланс анаболических и катаболических процессов в сердечной мышце в качестве одного из механизмов кардиопротекторного действия опиоидов, охарактеризованного в предыдущих главах нашей работы. Важно подчеркнуть, что в известных из литературы исследованиях не анализировалась рецепторная специфичность обнаруженных феноменов. Таким образом, нам представляется актуальным сопоставить кардиопатогенные и кардиопротекторные эффекты лигандов опиатных рецепторов с их влиянием на процессы биосинтеза белка в миокарде.

#### 3.4.1. Воздействие лигандов опиатных рецепторов на интенсивность биосинтеза белка в миокарде при иммобилизационном стрессе

Известно, что одним из факторов стрессорного повреждения органов и тканей является преобладание процессов распада белков над скоростью их ресинтеза, обусловленное изменением баланса "анаболических" и "катаболических" гормонов [21, 76, 83, 245]. Поэтому мы провели изучение влияния лигандов опиатных рецепторов на протеосинтетическую активность миокарда при стрессе.

В наших исследованиях нам удалось подтвердить известный факт стрессорного снижения скорости образования белка в кардиомиоцитах. Удельная радиоактивность белка, обусловленная включением  $^3\text{H}$ -лейцина в его состав и являющаяся косвенным показателем интенсивности протеосинтеза, после 24 ч иммобилизации снизилась на 25% (табл. 11). Такое стресс-индуцированное снижение биосинтеза белка является типичным как для стресс-реакции [6, 70], так и

для многих других функциональных и патологических состояний [238]. Изменение биосинтетической активности кардиомиоцитов при стрессе может быть обусловлено, как предполагают [182, 211], увеличением активности аденилатциклазы вследствие избыточной рецепции катехоламинов мембранами кардиомиоцитов и относительного дефицита макроэргических соединений, необходимых для восстановления пластических ресурсов сердечной мышцы в экстремальных условиях.

Предварительное системное введение лигандов  $\mu$ -OP DALDA или DAGO полностью предотвращало стрессорное угнетение протеосинтеза, о чем можно судить по тому, что показатели удельной радиоактивности белка после инъекции  $^3\text{H}$ -лейцина в этой экспериментальной группе не отличались от интактных (табл. 11). Такой эффект активации  $\mu$ -опиатных рецепторов мог быть связан с подавлением  $\mu$ -агонистами активации симпато-адреналовой системы и соответствующим уменьшением количества цАМФ в клетке (аналогичный эффект показан для неселективного лиганда  $\mu$ - и  $\delta$ -OP даларгина) [40, 60, 275]. При этом следует учесть, что избыток цАМФ способен тормозить биосинтез белка [122, 211]. Кроме того, в параллельном исследовании после инъекции DALDA или DAGO на фоне иммобилизационного стресса мы наблюдали увеличение уровня инсулина, играющего важную роль в поддержании на высоком уровне транспорт глюкозы, количества макроэргов и уровень биосинтеза белка в кардиомиоцитах [97, 253]. Так, нами было обнаружено, что по окончании 24-часовой иммобилизации происходит снижение содержания инсулина в 3,72 раза (с  $6,51 \pm 0,71$  МкЕд/мл у интактных животных до  $1,75 \pm 0,29$  МкЕд/мл в стресс-контроле,  $p < 0,01$ ). Введение агониста  $\mu$ -OP DALDA вызывало достоверное увеличение содержания инсулина (в 2,27 раза) по отношению к стресс-контролю и достигало  $4,50 \pm 0,15$  МкЕд/мл с коэффициентом достоверности  $p < 0,01$ .

Таким образом, нам удалось установить, что экзогенная стимуляция периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов в условиях иммобилизационного стресса предотвращает стресс-индуцированное снижение протеосинтеза в миокарде крыс. Однако, оставалось неясным, играют ли эндогенные опиоидные пептиды какую

либо роль в сохранении высокой протеосинтетической способности кардиомиоцитов в экстремальных условиях. Для этого нами были проведены эксперименты с селективным блокатором  $\mu$ -рецепторов налтрексоном. В таблице 11 показано, что предварительное системное введение этого непептидного антагониста  $\mu$ -ОР приводило к достоверному увеличению включения  $^3\text{H}$ -лейцина в белки миокарда по отношению к аналогичному показателю группы стресс-контроля. Как уже упоминалось ранее, данный препарат способен проникать через гематоэнцефалический барьер и активировать и центральные и периферические опиатные рецепторы. В связи с тем, что опиатергическое влияние на устойчивость миокардиальных мембран к стрессорному повреждению мы склонны объяснять взаимодействием опиоидов с центральным звеном симпатической нервной системы, логично было бы предположить, что и свое влияние на биосинтез белка в кардиомиоцитах эндогенные опиоидные пептиды оказывают через данный механизм.

Таблица 11

Влияние системного введения лигандов опиатных рецепторов на интенсивность биосинтеза белка в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе ( $X \pm m$ )

n/n	Серии экспериментов	n	Удельная радиоактивность белка (СРМ/мг)	Статистический показатель
1	Интактные крысы	12	102,75 $\pm$ 6,86	
2	Иммобилизационный стресс, 24 ч	12	76,06 $\pm$ 8,59	$p_1 < 0,05$
3	Стресс + DAGO, 0,1 мг/кг	12	105,56 $\pm$ 7,43	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
4	Стресс + DALDA 0,1 мг/кг	11	107,67 $\pm$ 8,99	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,05$
5	Стресс + налтрексон, 0,5 мг/кг	11	113,42 $\pm$ 8,89	$p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$

Примечание:  $p_1$  – достоверность по отношению к интактным животным;  $p_2$  – достоверность по отношению к стресс-контролю (t-критерий Стьюдента).  $n$  – количество животных в группе.

### 3.4.2. Влияние блокатора биосинтеза белка циклогексимида на проявление кардиопротекторных свойств агонистов опиатных рецепторов при иммобилизационном стрессе

Для того, чтобы окончательно убедиться в правильности нашего предположения о важной роли процессов протеосинтеза в реализации кардиопротекторных эффектов лигандов  $\mu$ -ОР, мы провели эксперименты с блокатором биосинтеза белка циклогексимидом. Этот препарат в использованной нами дозе снижает интенсивность биосинтеза белка на 20% [156]. Если следовать нашему предположению о важной роли процессов протеосинтеза в регуляции устойчивости миокардиальных мембран к повреждению при стрессе, снижение скорости биосинтеза белка должно потенцировать стрессорное повреждение сердца. Действительно, в наших экспериментах предварительное периферическое ведение циклогексимида животным, подвергшимся в последствии иммобилизации, усиливало стрессорное повреждение миокарда, о чем мы судили по увеличению накопления  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде в 1,9 раза (рис.9). Это можно объяснить тем, что циклогексимид блокирует, наряду с другими белками, синтез ферментов репарации [156], без которых невозможно быстрое восстановление поврежденных при стрессе структур клетки, а также ресинтез белковых компонентов транспортных систем мембран. Результаты этих экспериментов позволяют нам утверждать, что поддержание скорости биосинтеза белка на высоком уровне играет важную роль в сохранении целостности миокардиальных мембран при стрессе. Следует отметить, что блокада циклогексимидом биосинтеза белка у интактных животных также приводила к увеличению накопления  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде на 16% по отношению к интактным крысам, но в данном случае значительно менее выраженное, чем у стрессированных животных.

Нельзя не отметить, что применение циклогексимида с последующем стрессировании приводило к значительному увеличению смертности животных, в то время как у интактных особей данный препарат не оказывал подобного эффекта (табл.12). Это обстоятельство позволяет дополнительно подчеркнуть важность высокой интенсивности биосинтеза белка в механизме устойчивости миокарда к стрессорному повреждению.



Таблица 12

Процент гибели животных в экспериментах с введением циклогексимида при иммобилизационном стрессе

n/ n	Серии экспериментов	Процент гибели животных
1	Иммобилизационный стресс, 24 ч, n=20	5
2	Циклогексимид, 0,3 мг/кг, n=25	0
3	Стресс + циклогексимид, 0,3 мг/кг, n=25	25

Примечание: циклогексимид вводили внутривенно, двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй – через 12 ч после начала стрессорного воздействия. n – количество животных в группе.

Итак, мы констатировали факт, что блокада биосинтеза белка, в значительной мере, ослабляла кардиопротекторный эффект активации  $\mu$ -ОР. Однако нельзя не заметить, что циклогексимид далеко не полностью устранял позитивные эффекты DALDA и уровень аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в сердце оставался достоверно более низким, чем у крыс группы стресс-контроля. Как показано на рис. 9, при совместном введении DALDA и циклогексимида поглощение миокардом  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата было на 32% ниже, чем у животных, получавших DALDA без блокады протеосинтеза. Таким образом, мы в очередной раз подтверждаем наше предположение о том, что механизм реализации эффектов активации  $\mu$ -ОР не является унитарным, а задействует несколько связанных между собой процессов.

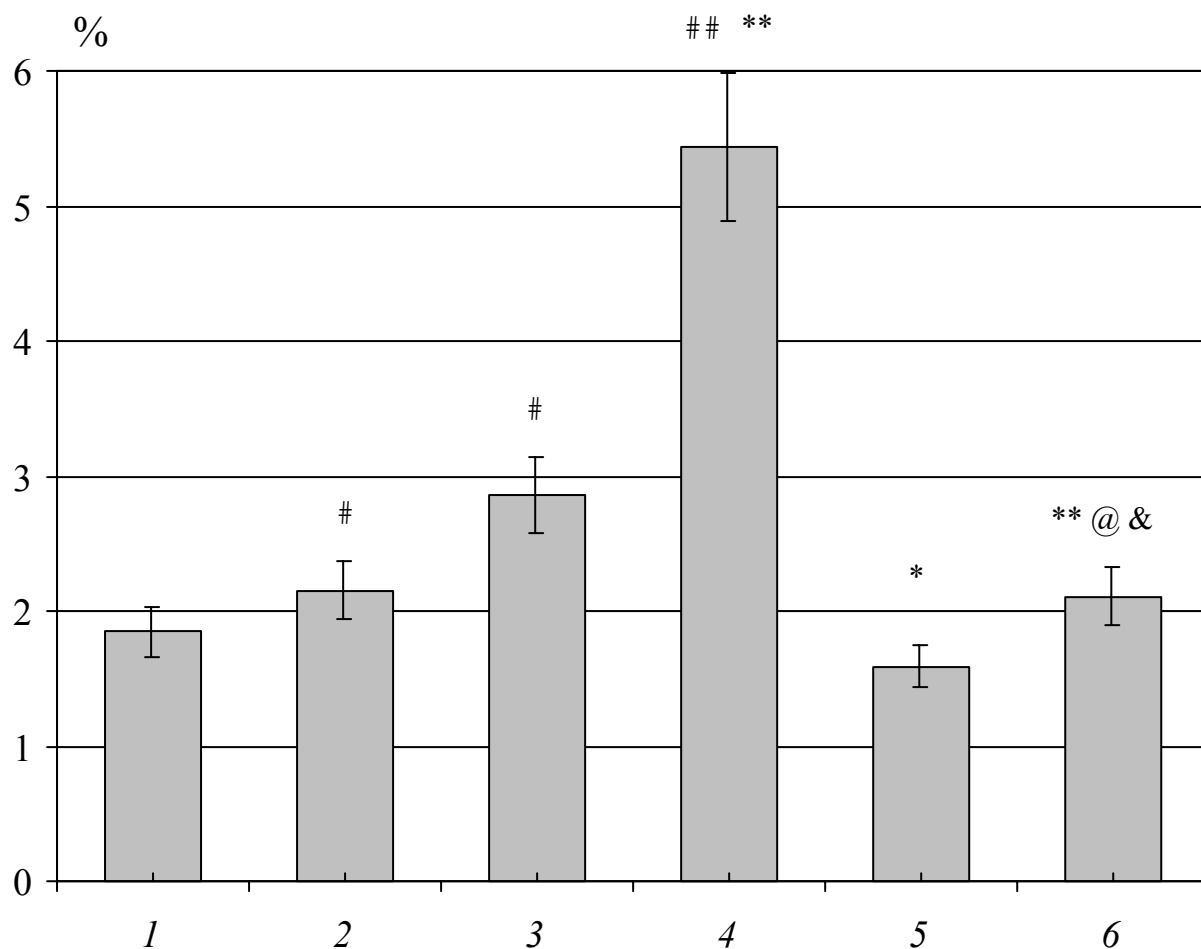


Рис. 9. Влияние блокатора биосинтеза белка циклогексимида на кардиопротекторные эффекты агонистов опиатных рецепторов при 24 часовой иммобилизации ( $X \pm m$ ), (Поглощение  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ; % от общей дозы/г ткани  $\times 10^{-2}$ ).

Серии экспериментов:

1. Интактные животные n=10
2. Циклогексимид, n=11
3. Стресс (24 ч) n=14
4. Стресс + циклогексимид, 0,3 мг/кг, n=11
5. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг, n=10
6. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг + циклогексимид, 0,3 мг/кг, n=9.

Примечания: #p<0,05, ##p<0,01 - достоверные различия по сравнению с группой интактных животных; \*P<0,05, \*\*p<0,01 - то же по сравнению с группой стресс-контроля без введения препаратов; @p<0,05 - то же по сравнению с группой животных "Стресс+DALDA" (t-тест Стьюдента); &p<0,01 - то же по сравнению с группой животных "Стресс+циклогексимид". Все препараты вводили внутривенно, двукратно: первый раз за

30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия. n - количество животных в группе.

Интересно отметить, что в группе животных, получавших оба соединения (и циклогексимид и DALDA), поглощение миокардом  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата было в 2,5 раза ниже, чем у крыс, получавших ингибитор биосинтеза белка без  $\mu$ -агониста (рис. 9). Мы видим, что DALDA предотвращает не только «кардиотоксические эффекты» стресса, но и повреждение мембран кардиомиоцитов, вызванное снижением скорости репарации при блокаде биосинтеза белка. Объяснением данному факту могут служить следующие данные: при введении циклогексимида аккумуляция  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата у интактных животных увеличилась всего на 16% (по сравнению с 90% у стрессированных крыс)(рис. 9), то есть циклогексимид-индуцированное нарушение морфо-функционального состояния мембран без дополнительного стрессирования оказывается весьма незначительным. На это указывает и отсутствие смертности среди животных данной группы (табл.12). По-видимому, точка приложения основного эффекта DALDA приходится на начальные стадии развития патогенетических нарушений, приводящих к возникновению стрессорных повреждений клетки; активация  $\mu$ -ОР предупреждает разрушение клеточных структур, для репарации которых требуются соответствующие ферменты. Вероятно, кардиопротекторная эффективность агонистов  $\mu$ -рецепторов настолько высока, что функциональное состояние клеток миокарда крыс, стрессированных на фоне активации этого типа ОР, фактически не отличается от состояния клеток интактных животных. Поэтому, блокада биосинтеза белка в случаях активации  $\mu$ -ОР на фоне иммобилизационного стресса приводит к значительно меньшим повреждениям клеток сердца крыс, чем это происходит у животных с базальной активностью опиоидной системы.

Это рассуждение в свою очередь наводит на мысль о чрезвычайно высокой протекторной активности активации периферических  $\mu$ -ОР и позволяет предположить, что агонисты этого типа рецепторов представляют перспективную группу веществ для целенаправленного поиска новых кардиопротекторных препаратов.

### КРАТКОЕ РЕЗЮМЕ ГЛАВЫ 3.4.:

- Скорость биосинтеза белка играет важную роль для сохранения целостности мембран клеток сердца при иммобилизационном стрессе.
- Сохранение высокой интенсивности биосинтетических процессов в кардиомиоцитах является одним из механизмов кардиопротекторного эффекта активации  $\mu$ -ОР.

#### 3.4. Взаимосвязь кардиотропного действия опиоидов с интенсивностью процессов биосинтеза белка у крыс при иммобилизационном стрессе

Исследованиями, проведенными ранее, было показано, что неселективный лиганд  $\mu$ - и  $\delta$ - опиатных рецепторов далаггин предупреждает стресс-индуцированное снижение интенсивности процессов биосинтеза белка и нуклеиновых кислот в сердечной мышце [70], предупреждая при этом стрессорное повреждение сердца. Мы склонны рассматривать модулирующее влияние лигандов опиатных рецепторов на баланс анаболических и катаболических процессов в сердечной мышце в качестве одного из механизмов кардиопротекторного действия опиоидов, охарактеризованного в предыдущих главах нашей работы. Важно подчеркнуть, что в известных из литературы исследованиях не анализировалась рецепторная специфичность обнаруженных феноменов. Таким образом, нам представляется актуальным сопоставить кардиопатогенные и кардиопротекторные эффекты лигандов опиатных рецепторов с их влиянием на процессы биосинтеза белка в миокарде.

##### 3.4.1. Воздействие лигандов опиатных рецепторов на интенсивность биосинтеза белка в миокарде при иммобилизационном стрессе

Известно, что одним из факторов стрессорного повреждения органов и тканей является преобладание процессов распада белков над скоростью их ресинтеза, обусловленное изменением баланса "анаболических" и "катаболических" гормонов [21, 76, 83, 245]. Поэтому мы провели изучение влияния лигандов опиатных рецепторов на протеосинтетическую активность миокарда при стрессе.

В наших исследованиях нам удалось подтвердить известный факт стрессорного снижения скорости образования белка в кардиомиоцитах. Удельная радиоактивность белка, обусловленная включением  $^3\text{H}$ -лейцина в его состав и являющаяся косвенным показателем интенсивности протеосинтеза, после 24 ч иммобилизации снизилась на 25% (табл. 11). Такое стресс-индуцированное снижение биосинтеза белка является типичным как для стресс-реакции [6, 70], так и для многих других функциональных и патологических состояний [238]. Изменение биосинтетической активности кардиомиоцитов при стрессе может быть обусловлено, как предполагают [182, 211], увеличением активности аденилатциклазы вследствие избыточной рецепции катехоламинов мембранами кардиомиоцитов и относительного дефицита макроэргических соединений, необходимых для восстановления пластических ресурсов сердечной мышцы в экстремальных условиях.

Предварительное системное введение лигандов  $\mu$ -OP DALDA или DAGO полностью предотвращало стрессорное угнетение протеосинтеза, о чем можно судить по тому, что показатели удельной радиоактивности белка после инъекции  $^3\text{H}$ -лейцина в этой экспериментальной группе не отличались от интактных (табл. 11). Такой эффект активации  $\mu$ -опиатных рецепторов мог быть связан с подавлением  $\mu$ -агонистами активации симпато-адреналовой системы и соответствующим уменьшением количества цАМФ в клетке (аналогичный эффект показан для неселективного лиганда  $\mu$ - и  $\delta$ -OP даларгина) [40, 60, 275]. При этом следует учесть, что избыток цАМФ способен тормозить биосинтез белка [122, 211]. Кроме того, в параллельном исследовании после инъекции DALDA или DAGO на фоне иммобилизационного стресса мы наблюдали увеличение уровня инсулина, играющего важную роль в поддержании на высоком уровне транспорт глюкозы, количества макроэргов и уровень биосинтеза белка в кардиомиоцитах [97, 253]. Так, нами было обнаружено, что по окончании 24-часовой иммобилизации происходит снижение содержания инсулина в 3,72 раза (с  $6,51 \pm 0,71$  МкЕд/мл у интактных животных до  $1,75 \pm 0,29$  МкЕд/мл в стресс-контроле,  $p < 0,01$ ). Ведение агониста  $\mu$ -OP DALDA вызывало достоверное увеличение содержания инсулина (в

2,27 раза) по отношению к стресс-контролю и достигало  $4,50 \pm 0,15$  МкЕд/мл с коэффициентом достоверности  $p < 0,01$ .

Таким образом, нам удалось установить, что экзогенная стимуляция периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов в условиях иммобилизационного стресса предотвращает стресс-индуцированное снижение протеосинтеза в миокарде крыс. Однако, оставалось неясным, играют ли эндогенные опиоидные пептиды какую либо роль в сохранении высокой протеосинтетической способности кардиомиоцитов в экстремальных условиях. Для этого нами были проведены эксперименты с селективным блокатором  $\mu$ -рецепторов налтрексоном. В таблице 11 показано, что предварительное системное введение этого непептидного антагониста  $\mu$ -ОР приводило к достоверному увеличению включения  $^3\text{H}$ -лейцина в белки миокарда по отношению к аналогичному показателю группы стресс-контроля. Как уже упоминалось ранее, данный препарат способен проникать через гемато-энцефалический барьер и активировать и центральные и периферические опиатные рецепторы. В связи с тем, что опиатергическое влияние на устойчивость миокардиальных мембран к стрессорному повреждению мы склонны объяснять взаимодействием опиоидов с центральным звеном симпатической нервной системы, логично было бы предположить, что и свое влияние на биосинтез белка в кардиомиоцитах эндогенные опиоидные пептиды оказывают через данный механизм.

Таблица 11

Влияние системного введения лигандов опиатных рецепторов на интенсивность биосинтеза белка в миокарде крыс при иммобилизационном стрессе ( $X \pm m$ )

n/n	Серии экспериментов	n	Удельная радиоактивность белка (СРМ/мг)	Статистический показатель
1	Интактные крысы	12	$102,75 \pm 6,86$	

2	Иммобилизационный стресс, 24 ч	12	76,06 ± 8,59	p <sub>1</sub> <0,05
3	Стресс + DAGO, 0,1 мг/кг	12	105,56 ± 7,43	p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,05
4	Стресс + DALDA 0,1 мг/кг	11	107,67 ± 8,99	p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,05
5	Стресс + налтрексон, 0,5 мг/кг	11	113,42 ± 8,89	p <sub>1</sub> >0,05 p <sub>2</sub> <0,01

Примечание: p<sub>1</sub> – достоверность по отношению к интактным животным; p<sub>2</sub> – достоверность по отношению к стресс-контролю (t-критерий Стьюдента). n – количество животных в группе.

#### 3.4.2. Влияние блокатора биосинтеза белка циклогексимида на проявление кардиопротекторных свойств агонистов опиатных рецепторов при иммобилизационном стрессе

Для того, чтобы окончательно убедиться в правильности нашего предположения о важной роли процессов протеосинтеза в реализации кардиопротекторных эффектов лигандов  $\mu$ -ОР, мы провели эксперименты с блокатором биосинтеза белка циклогексимидом. Этот препарат в использованной нами дозе снижает интенсивность биосинтеза белка на 20% [156]. Если следовать нашему предположению о важной роли процессов протеосинтеза в регуляции устойчивости миокардиальных мембран к повреждению при стрессе, снижение скорости биосинтеза белка должно потенцировать стрессорное повреждение сердца. Действительно, в наших экспериментах предварительное периферическое введение циклогексимида животным, подвергшимся в последствии иммобилизации, усиливало стрессорное повреждение миокарда, о чем мы судили по увеличению накопления <sup>99m</sup>Tc-ПФ в миокарде в 1,9 раза (рис.9). Это можно объяснить тем, что циклогексимид блокирует, наряду с другими белками, синтез ферментов репарации [156], без которых невозможно быстрое восстановление поврежденных при стрессе структур клетки, а также ресинтез белковых компонентов транспортных систем мембран. Результаты этих экспериментов позволяют нам утверждать, что



поддержание скорости биосинтеза белка на высоком уровне играет важную роль в сохранении целостности миокардиальных мембран при стрессе. Следует отметить, что блокада циклогексимидом биосинтеза белка у интактных животных также приводила к увеличению накопления  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в миокарде на 16% по отношению к интактным крысам, но в данном случае значительно менее выраженное, чем у стрессированных животных.

Нельзя не отметить, что применение циклогексимида с последующим стрессированием приводило к значительному увеличению смертности животных, в то время как у интактных особей данный препарат не оказывал подобного эффекта (табл.12). Это обстоятельство позволяет дополнительно подчеркнуть важность высокой интенсивности биосинтеза белка в механизме устойчивости миокарда к стрессорному повреждению.

Таблица 12

Процент гибели животных в экспериментах с введением циклогексимида при иммобилизационном стрессе

n/ n	Серии экспериментов	Процент гибели животных
1	Иммобилизационный стресс, 24 ч, n=20	5
2	Циклогексимид, 0,3 мг/кг, n=25	0
3	Стресс + циклогексимид, 0,3 мг/кг, n=25	25

Примечание: циклогексимид вводили внутривенно, двукратно: первый раз за 30 мин до стресса, второй – через 12 ч после начала стрессорного воздействия. n – количество животных в группе.

Итак, мы констатировали факт, что блокада биосинтеза белка, в значительной мере, ослабляла кардиопротекторный эффект активации  $\mu$ -ОР. Однако нельзя не заметить, что циклогексимид далеко не полностью устранял позитивные эффекты DALDA и уровень аккумуляции  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата в сердце оставался достоверно более низким, чем у крыс группы стресс-контроля. Как показано на рис. 9, при совместном введении DALDA и циклогексимида поглощение миокардом  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата было на 32% ниже, чем у животных, получавших DALDA без блокады протеосинтеза. Таким образом, мы в очередной раз подтверждаем наше предположение о том, что механизм реализации эффектов активации  $\mu$ -ОР не является унитарным, а задействует несколько связанных между собой процессов.

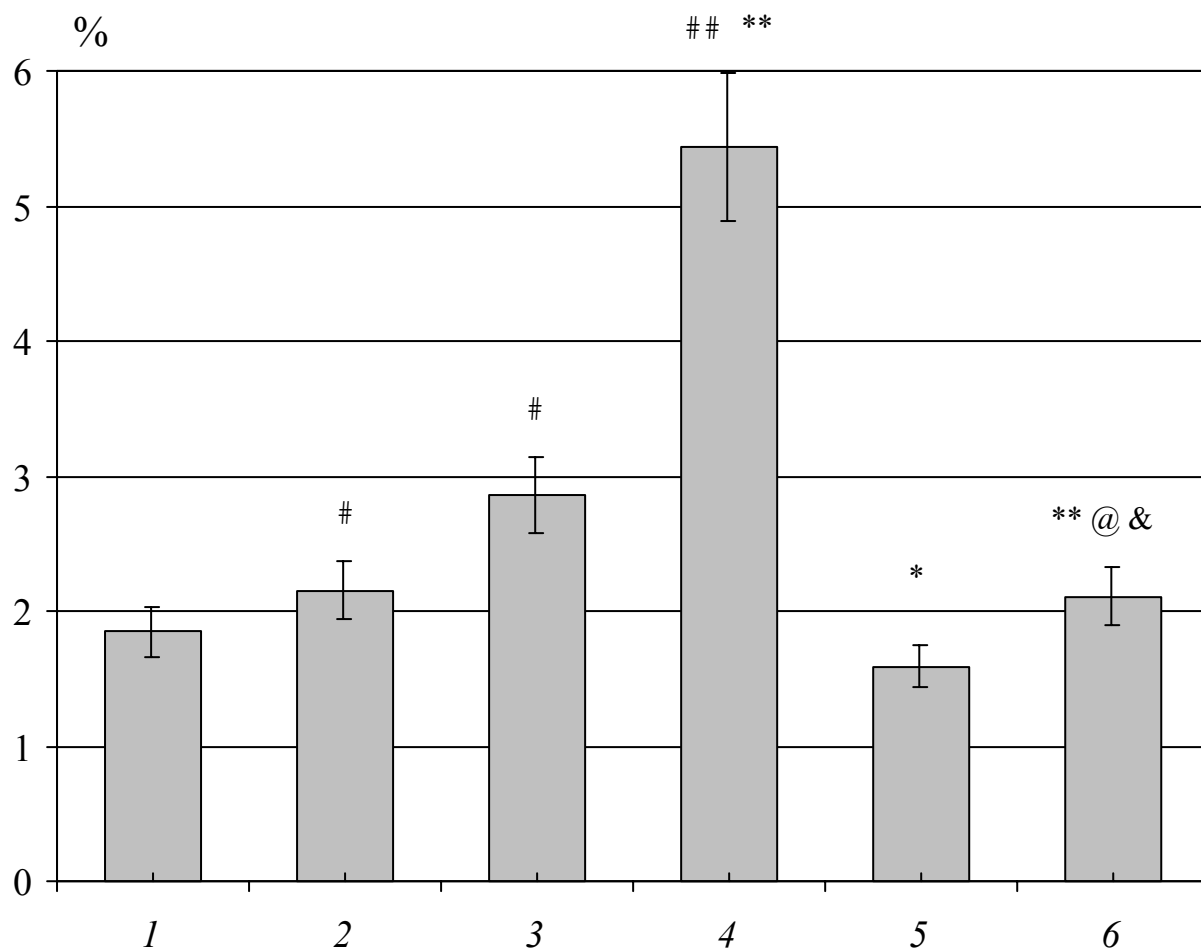


Рис. 9. Влияние блокатора биосинтеза белка циклогексимида на кардиопротекторные эффекты агонистов опиатных рецепторов при 24 часовой иммобилизации ( $X \pm m$ ), (Поглощение  $^{99m}\text{Tc}$ -ПФ; % от общей дозы/г ткани  $\times 10^{-2}$ ).

Серии экспериментов:

1. Интактные животные  $n=10$
2. Циклогексимид,  $n=11$
3. Стресс (24 ч)  $n=14$
4. Стресс + циклогексимид, 0,3 мг/кг,  $n=11$
5. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг,  $n=10$
6. Стресс + DALDA, 0,1 мг/кг + циклогексимид, 0,3 мг/кг,  $n=9$ .

Примечания: # $p < 0,05$ , ## $p < 0,01$  - достоверные различия по сравнению с группой интактных животных; \* $p < 0,05$ , \*\* $p < 0,01$  - то же по сравнению с группой стресс-контроля без введения препаратов; @ $p < 0,05$  - то же по сравнению с группой животных "Стресс+DALDA" (t-тест Стьюдента); & $p < 0,01$  - то же по сравнению с группой животных "Стресс+циклогексимид". Все препараты вводили внутривенно, двукратно: первый раз за

30 мин до стресса, второй - через 12 ч после начала стрессорного воздействия. n - количество животных в группе.

Интересно отметить, что в группе животных, получавших оба соединения (и циклогексимид и DALDA), поглощение миокардом  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата было в 2,5 раза ниже, чем у крыс, получавших ингибитор биосинтеза белка без  $\mu$ -агониста (рис. 9). Мы видим, что DALDA предотвращает не только «кардиотоксические эффекты» стресса, но и повреждение мембран кардиомиоцитов, вызванное снижением скорости репарации при блокаде биосинтеза белка. Объяснением данному факту могут служить следующие данные: при введении циклогексимида аккумуляция  $^{99m}\text{Tc}$ -пирофосфата у интактных животных увеличилась всего на 16% (по сравнению с 90% у стрессированных крыс)(рис. 9), то есть циклогексимид-индуцированное нарушение морфо-функционального состояния мембран без дополнительного стрессирования оказывается весьма незначительным. На это указывает и отсутствие смертности среди животных данной группы (табл.12). По-видимому, точка приложения основного эффекта DALDA приходится на начальные стадии развития патогенетических нарушений, приводящих к возникновению стрессорных повреждений клетки; активация  $\mu$ -ОР предупреждает разрушение клеточных структур, для репарации которых требуются соответствующие ферменты. Вероятно, кардиопротекторная эффективность агонистов  $\mu$ -рецепторов настолько высока, что функциональное состояние клеток миокарда крыс, стрессированных на фоне активации этого типа ОР, фактически не отличается от состояния клеток интактных животных. Поэтому, блокада биосинтеза белка в случаях активации  $\mu$ -ОР на фоне иммобилизационного стресса приводит к значительно меньшим повреждениям клеток сердца крыс, чем это происходит у животных с базальной активностью опиоидной системы.

Это рассуждение в свою очередь наводит на мысль о чрезвычайно высокой протекторной активности активации периферических  $\mu$ -ОР и позволяет предположить, что агонисты этого типа рецепторов представляют перспективную группу веществ для целенаправленного поиска новых кардиопротекторных препаратов.

КРАТКОЕ РЕЗЮМЕ ГЛАВЫ 3.4.:

- Скорость биосинтеза белка играет важную роль для сохранения целостности мембран клеток сердца при иммобилизационном стрессе.
- Сохранение высокой интенсивности биосинтетических процессов в кардиомиоцитах является одним из механизмов кардиопротекторного эффекта активации  $\mu$ -ОР.







## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проблема профилактики стресс-индуцированных повреждений миокарда и адаптационной защиты сердца в экстремальных ситуациях приобретает особую актуальность для современного индустриального общества с его урбанизацией, усложнением профессиональной деятельности человека, ускорением темпов жизни и возросшими психоэмоциональными нагрузками. Так, хроническое психоэмоциональное напряжение единодушно рассматривается в качестве одного из ведущих факторов риска ишемической болезни сердца, артериальной гипертензии и внезапной сердечной смерти [58, 103, 106, 110, 116]. Особого внимания исследователей заслуживают факты возникновения фибрилляции и внезапной сердечной смерти на фоне длительных или чрезвычайно сильных стрессорных воздействий у лиц без "кардиального анамнеза", [199, 265]. Между тем, единой концепции патогенетически обоснованной профилактики стрессорных нарушений электрической стабильности сердца и стресс-индуцированных повреждений его мембран до настоящего времени не существует.

Нельзя сказать, что исследователями не предпринимались попытки раскрыть механизмы подобного рода нарушений. Так, широко известны работы проф. Ф.З.Меерсона и его учеников [74-89, 96, 97, 107], посвященные процессам, приводящим к стрессорной альтерации миокарда. Однако, несмотря на большой интерес исследователей к проблеме стрессорного повреждения, исчерпывающего ответа на вопрос о патогенезе СПС до сих пор не найдено. Так, ни одно из веществ, применяемых с целью защиты миокарда при стрессе, не устраняло эти повреждения полностью [62], поэтому следует согласиться с мнением Н.Selye о "плюрикаузальной" (многофакторной) природе "стрессорной кардиомиопатии" [245].

Вместе с тем, исследователи не оставляют попыток найти "универсальное антистрессорное противоядие". В последнее время ряд авторов пришли к выводу о том, что одним из наиболее оптимальных и физиологичных путей повышения резистентности сердца к экстремальным воздействиям является так называемая адаптационная защита сердца. Согласно гипотезе Ф.З.Меерсона,

кардиопротекторный и антиаритмический эффекты адаптации обеспечиваются функционированием, так называемых, эндогенных стресс-лимитирующих систем (ГАМК-ергическая системы, простаноиды, антиоксиданты и др.).

Исследования, предпринятые проф. Ю.Б.Лишмановым и его учениками [35–57, 64–70, 72], привели к пониманию того, что ведущая роль в реализации механизмов адаптационной защиты сердца при стрессе принадлежит эндогенной опиоидной системе.

Действительно, при стрессе, как известно, повышается уровень энкефалинов и эндорфинов в крови и тканях [10, 11, 28, 41, 95, 102, 105], а блокада опиатных рецепторов приводит к нивелированию уже сформировавшейся в ходе предварительной адаптации повышенной устойчивости сердца к стрессорным и аритмогенным воздействиям [42, 48, 49, 50, 67, 72].

Проведенные нами исследования показали, что активация периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов приводит к повышению устойчивости сердца к стрессорным повреждениям, то время как фармакологическое “выключение” этого типа рецепторов напротив, усиливает повреждение миокарда при стрессе. Эти данные подтверждают концепцию о стресс-лимитирующей роли опиоидной системы.

Вместе с тем, некоторые из полученных нами фактов не укладываются в основные положения указанной гипотезы. Оказалось, например, что центральное введение синтетических аналогов энкефалинов или накопление эндогенных опиоидов в мозге, достигаемое путем блокады энкефалиназ, приводит к усугублению стрессорного повреждения сердца, а не к его уменьшению (гл.3.1., табл. 6, рис. 2). В том, что этот эффект имеет специфическую опиатергическую пророду нас убеждает факт предупреждения стрессорной альтерации кардиомиоцитов на фоне блокады центральных  $\mu$ -ОР.

Исходя из полученных данных, мы не можем однозначно расценивать наблюдаемое при чрезвычайных воздействиях повышение уровня опиоидов в головном мозге в качестве стресс-лимитирующего фактора. Так, нами были получены данные о том, что центральные ОР не принимают участия в формировании повышенной стресс-устойчивости миокарда, возникающей при

адаптации [45]. Более того, как мы показали выше, в определенных ситуациях эндогенные агонисты центральных опиатных рецепторов могут, наоборот, оказывать стресс-реализующее действие.

Следует подчеркнуть, что данное предположение мы относим только к центральному звену эндогенной опиоидной системы, поскольку блокада периферических ОР способствует снижению защитного действия адаптирующих тренировок [42, 48, 49, 50, 67, 72].

Таким образом, лишь активация периферических опиатных рецепторов проявляется при тяжелом стрессе кардиопротекторным эффектом, в то время как центральный отдел эндогенной опиоидной системы, напротив, является патогенетическим звеном повреждения сердца в подобных ситуациях.

Результаты настоящего исследования позволяют говорить о том, что изменения функциональной активности  $\delta$ -,  $\sigma$ - или  $\kappa$ -ОР не отражаются на устойчивости сердца подопытных крыс к стрессорным повреждениям (табл.3). В то же время, имеются литературные данные [263] об идентификации  $\delta$ - и  $\sigma$ -ОР непосредственно на мембранах кардиомиоцитов. По-видимому, физиологическое предназначение кардиальных ОР указанных типов определяется их участием в регуляции аритмогенеза [64–66, 68] или других, не связанных с мембранопротекторными свойствами, процессов.

Среди задач нашей работы отдельное внимание следует уделить тем, которые связаны с исследованием физиологических и биохимических путей реализации опиатергических влияний на устойчивость сердца к стрессорным повреждениям. Наиболее важными механизмами среди них являются, на наш взгляд, следующие:

- активность симпатического звена вегетативной нервной системы;
- баланс простагландинов;
- изменения интенсивности биосинтеза белка.

Результаты данного раздела работы схематично представлены на рис. 13, из которого следует, что активация периферических  $\mu$ -ОР способствует повышению устойчивости миокарда к повреждающему действию тяжелого стресса, в первую очередь, за счет модуляции функций симпато-адреналовой системы. Кроме того,

влияние агонистов опиатных рецепторов на выраженность СПС может быть реализовано путем прямого и/или опосредованного через ВНС изменения баланса простаноидов, снижения интенсивности липопероксидации и стимуляции анаболических процессов в кардиомиоцитах.

На рис. 13 показано также, что стимуляция  $\mu$ -ОР в ЦНС влечет за собой развитие процессов, потенцирующих альтерацию мембран кардиомиоцитов при тяжелом стрессе. Нами было показано, что основным механизмом снижения устойчивости миокарда к стрессорному повреждению в этом случае является опиатергическое усиление выброса КА из симпатических нервных терминалей миокарда и надпочечников, которое, скорее всего, предопределяется, повышением активности центрального звена САС в результате ослабления ГАМК-ергического тормозного контроля соответствующих вегетативных центров под влиянием агонистов  $\mu$ -ОР [223, 234]. Полученные результаты позволяют нам полагать, что система эйкозаноидов не принимает участия в опиоидном усилении патогенных влияний стресса на миокард при активации центральных  $\mu$ -ОР.

В заключение хотелось бы выразить надежду, что поскольку лиганды периферических  $\mu$ -ОР обладают наряду с кардиопротекторными, антиаритмическими и антифибрилляторными свойствами, обнаруженными на различных моделях как в настоящей работе, так и другими авторами [64–66, 68, 198, 205], этот класс соединений представляет перспективную группу веществ для поиска новых эффективных кардиотропных препаратов.

## ВЫВОДЫ

1. Функциональное состояние  $\mu$ -рецепторного звена опиоидной системы, в отличие от опиатных рецепторов  $\delta$ -,  $\sigma$ - и  $\kappa$ -типов, играет важную роль в механизмах регуляции естественной устойчивости сердца к стрессорному повреждению.
2. Активация периферических опиатных рецепторов морфинового типа ( $\mu$ -опиатных рецепторов) способствует повышению электрической стабильности миокарда и устойчивости сердца к стресс-индуцированному повреждению.
3. Возбуждение центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов потенцирует повреждение мембран кардиомиоцитов и снижение электрической стабильности миокарда при длительном иммобилизационном стрессе.
4. Одним из механизмов кардиопротекторного эффекта, связанного с активацией периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов, является пресинаптическое торможение выхода норадреналина из симпатических нервных терминалей миокарда и надпочечников.
5. Основной причиной снижения резистентности миокарда к повреждающему действию стресса при стимуляции центральных  $\mu$ -опиатных рецепторов следует считать усиление выброса катехоламинов из адренергических окончаний сердца и мозгового вещества надпочечников.
6. Тканевыми факторами, опосредующими опиатергическое увеличение резистентности миокарда к стрессорным повреждениям выступают изменение индекса простаглицлин/тромбоксан, снижение интенсивности процессов перекисного окисления липидов и сохранение высокой скорости

синтеза белка в кардиомиоцитах при активации периферических  $\mu$ -опиатных рецепторов.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авакян О.М. Симпато-адреналовая система. Методы исследования высвобождения, рецепции и захвата катехоламинов.- Л.: Наука, 1977.- 184с.
2. Автандилов Г.Г. Морфология и патология.- М.: Медицина, 1973.- 248с.
3. Агжихин И.С. Простагландины.- М.: Медицина, 1978.- 414с.
4. Алекминская Л.А., Лишманов Ю.Б., Слепушкин В.Д. Энкефалины и состояние симпатико-адреналовой системы при острой ишемии миокарда // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1985.- N 5.- С.535-537.
5. Афонская Н.И., Ильинский О.Б., Кондаленко В.Ф. Влияние опиоидного пептида на заживление экспериментального инфаркта миокарда // Бюлл. экспер. биологии и медицины.-1986.-N 12.-С.754-757.
6. Бережнова Н.И., Тимошин С.С. Активация процессов клеточного деления и синтеза нуклеиновых кислот в эпителии раговицы белых крыс при многократных стрессовых воздействиях // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1984.- N 12.- С.727-728.
7. Бобков А.И., Семенова В.В. Влияние даларгина на глюкокортикоидную активность надпочечников при стрессе // Бюлл. ВКНЦ.- 1986.- N 2.- С.59-60.
8. Бунятян А.М., Марьян К.Л., Каргина-Терентьева Р.А. Изменение сердечно-сосудистых функций и адренергической иннервации сердца при иммобилизационном стрессе у крыс // Физиол. журн. СССР им. Сеченова.- 1985.- Т.71.- N 5.- С.581-586.
9. Бунятян А.М. Электрическая нестабильность сердца у животных с различной устойчивостью к иммобилизационному стрессу // Физиол. журн. СССР им. Сеченова.- 1986.- Т.72.- N 6.- С.757-762.
10. Вакулина О.П., Тигранян Р.А., Бруссов О.С. Содержание опиоидных пептидов в мозге и крови крыс при иммобилизационном стрессе // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1984.- N 11.- С.537-539.

11. Вальдман А.В. Пептиды как модуляторы моноаминоергических процессов // Фармакология нейропептидов: Сб. трудов НИИ фармакологии АМН СССР.- М.,1982.-С.9-30.
12. Вальдман А.В. Модулирующее действие коротких пептидов на моноаминоергические процессы мозга как основа их психотропного эффекта // Вопр. мед. химии.- 1984.- N 3.- С.56-63.
13. Вальдман А.В. и др. Нейрохимический и поведенческий анализ эффекта пептидов в регуляции адаптивных процессов / Вальдман А.В., Козловская М.М., Алферов В.А. // Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии.- Томск, 1985.- С.36-37.
14. Вальдман А.В., Арефолов В.А., Дмитриев А.Д. Изменение содержания опиоидных пептидов в надпочечниках крыс при иммобилизационном стрессе // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1985.- N 4.- С.404-406.
15. Варфоломеев С.О. Опиатные рецепторы у крыс с различной адаптацией к эмоциональному стрессу // Клинические и орг. вопросы общей и судебной психиатрии.- М. , 1986.- С.76-80.
16. Волова А.М., Гриненко А.М. Катехоламиновые повреждения миокарда // Новые методы изучения нервной системы и микроциркуляции сердца и легких в норме и патологии.- Куйбышев, 1979.- С.105-108.
17. Гаврилов В.Б., Мишкорудная М.И. Спектрофотометрическое определение содержания гидроперекисей липидов в плазме крови // Лабораторное дело.- 1983.-N 3.- С.33-36.
18. Гомазков О.А., Ростовцев А.А., Комиссарова Н.В., Панфилов А.Д., Елистратова И.А., Фомин В.В. Активность энкефалин- и ангиотензин II - образующих пептидаз мозга и периферических тканей в условиях хронического стресса, вызванного гипергравитацией // Патол. Физиол. Экспер. терапия.-1988.- N 5.-С.52-57.



19. Горизонтова М.П. Микрогемодинамика и проницаемость микрососудов в условиях стресса // Вестн. АМН СССР.- 1988.- N 2.- С.44-50.
20. Гуляева Н.В., Левина И.П., Левина О.Л., Плеханова Л.Г. Корректирующие свойства антиоксиданта при хроническом эмоционально-болевым стрессе у крыс // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1984.- Т.98.- N 12.- С.645-647.
21. Дин Р. Процессы распада в клетке.- М.: 1981.- 120 с.
22. Добряков Ю.И. Скрининговый метод оценки антистрессорного действия препаратов // Стресс и адаптация: Тез. Всесоюз. симпоз. Кишинев, 1978. С.172.
23. Дорофеев Г.И., Кожемякин Л.А., Ивашкин В.Т. Циклические нуклеотиды и адаптация организма.- Л.: 1978.- 121 с.
24. Ельский В.Н., Сергеева Л.А., Самсоненко Р.А. Роль опиоидных пептидов в осуществлении функции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы в норме и при шоке // Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии.- Томск, 1985.- С.53-54.
25. Заводская И.С., Мореева Е.В., Новикова Н.А. Влияние нейротропных средств на нейрогенные повреждения сердца. М: Медицина.- 1977.- 192 с.
26. Ильинский О.Б., Козлова М.В., Кондрикова Е.С. и др. Действие опиоидных пептидов на процессы роста и регенерации нервной ткани крысы // Журн. эволюц. биохимии и физиол.- 1985.- Т.21.- N 5.- С.511-515.
27. Кереева Д.Н., Оразбаева Л.К., Шалахметова Т.М. Изменения содержания эндогенных энкефалинов в крови крыс в процессе развития изопротеренолового некроза миокарда // Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии.- Томск, 1985.- С.64-65.

28. Кияткин Е.А., Полынцев Ю.В., Кушлинский И.Б. АКТГ, кортикостерон и бета-эндорфин в плазме крови крыс в условиях длительного иммобилизационного стресса // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1985.-N 8.-С.147-160.
29. Коган В.Е., Азисова О.А., Клаан Н.К., Козлов Ю.П., Владимиров Ю.А. Взаимосвязь структурных и функциональных перестроек в мембранах саркоплазматического ретикулума при перекисном окислении липидов // Биофизика.- 1977.- Т.22.- N 4.- С.625-630.
30. Коган В.Е., Архипенко Ю.И., Писарев В.А. Повреждение мембран саркоплазматического ретикулума при перекисном окислении и его роль в развитии мышечной патологии // В кн.:Биофизика мембран.- М.: 1981.- С.88-95.
31. Кондратьев Б.Ю. Морфофункциональное состояние адренергических и холинергических структур при экспериментальном инфаркте миокарда в условиях введения энкефалинов.- Автореф. дисс. ... канд. мед. наук. - Томск, 1988.
32. Коробейникова Э.Н. Модификация определения продуктов перекисного окисления липидов в реакции с тиобарбитуровой кислотой // Лабораторное дело.- 1989.- N 7.- С.8-10.
33. Кундиев Ю.И., Навакатилян А.О., Томашевская Л.И. и др. Напряженная умственная деятельность и состояние регуляции сердечно-сосудистой системы // Физиология человека.- 1976.- N 3.- Т.2.- С.433-440.
34. Лапша В.И., Бочарова В.Н. Цитофотометрическое исследование катехоламинов и ацетилхолинэстеразы в нейронах интрамурального сплетения мочевого пузыря кошки в контроле и при некоторых экспериментальных воздействиях // Нейрофизиология.- 1985.- Т.17.- N 2.- С.263-270.

35. Лишманов Ю.Б. Использование энкефалинов для предупреждения стрессорных повреждений сердца в эксперименте // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1986.- N 9.- С.271-272.
36. Лишманов Ю.Б. Опиоидные пептиды, гормональная регуляция адаптивных процессов и профилактика стрессорных повреждений сердца // Бюл. ТНЦ АМН СССР.- 1989.- Вып.1.- С.15-26.
37. Лишманов Ю.Б. Участие опиоидных пептидов в адаптации к стрессу // Актуальные вопросы кардиологии.- Томск, 1989.- С.82-85.
38. Лишманов Ю.Б., Автеньева Н.Г. Об участии энкефалинов в изменении гомеостаза при острой ишемии миокарда в эксперименте // Бюлл. СО АМН СССР.- 1984.- N 4.- С.17-22.
39. Лишманов Ю.Б., Кондратьев Б.Ю. Взаимодействие опиоидной и симпатoadреналовой систем при ишемическом повреждении сердца // // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова.- 1995.- Т.81.- N 5.- С.77-85.
40. Лишманов Ю.Б., Ласукова Т.В., Алекминская Л.А. Энкефалины и гормонально-метаболические реакции при различных по тяжести видах стресса в эксперименте // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1985.- N 3.- С.269-271.
41. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца.- Томск, 1994.
42. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Крылатов Л.Н., Ускина Е.В. Роль эндогенных опиоидных пептидов в механизмах антиаритмического эффекта адаптации // Физиол. журн. им. И.М.Сеченова.- 1996.- Т.82.- N 5-6.
43. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Ласукова Т.В. Роль опиоидной системы в адаптации организма и защите сердца при стрессе // Успехи физиологических наук.- 1997.- Т.28.- N 1.- С.75-95.

44. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Маслова Л.В., Угдыжекова Д.С. Опиоидергическая регуляция электрической стабильности сердца при остром холодовом воздействии // Актуальные проблемы кардиологии в Сибири и на Крайнем Севере.- Тюмень, 1994.- С.104.
45. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В. Участвуют ли эндогенные опиоидные пептиды в реализации кардиопротекторного эффекта адаптации? // Патол. Физиол. и экспер. терапия.- 1997.-№ 3.- С.3-5.
46. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Реброва Т.Ю. Влияние энкефалинов на активность периферических стресс-лимитирующих систем в процессе развития аритмий, вызванных острой ишемией миокарда // Бюлл. ТНЦ АМН СССР.- 1991.- Вып.4.- С.3-14.
47. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Угдыжекова Д.С. Экспериментальное изучение фармакологической активности лигандов опиатных рецепторов на модели адреналовых аритмий // Экспериментальная и клиническая фармакология.- 1995. - № 4.- Т 58.- С.26-28.
48. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Филипов Э.А. Энкефалиновое звено адаптации сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии // Бюл. СО АМН СССР.- 1991.- № 2.- С.5-8.
49. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Халиулин И.Г. Роль энкефалинов в механизме антиаритмических эффектов адаптации при острой ишемии миокарда // Вестник РАМН.- 1992.- № 3.- С.5-8.
50. Лишманов Ю.Б., Маслова Л.В. Влияние адаптации к экстремальным воздействиям на активность эндогенной опиоидной системы и развитие стрессорных повреждений сердца крыс // Бюлл. СО АМН СССР.- 1988.- № 3.- С.40-43.
51. Лишманов Ю.Б., Реброва Т.Ю., Афанасьев С.А., Кравченко А.И. Влияние синтетических энкефалинов на синтез простагландинов и перекисное окисление липидов в изолированном сердце крыс при активации

- свободнорадикальных процессов //Бюлл. Экспер. Биол. и Мед. 1993.-N3.-с 127-130.
52. Лишманов Ю.Б., Слепушкин В.Д., Ельский В.Н. и др. О роли опиатного торможения функций гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы при стрессе // Ред. журн. "Бюл. эксперим. биологии и медицины". М., 1985. 10 с. Деп. в ВИНТИ 22.05.85, N 3472-85.
53. Лишманов Ю.Б., Слепушкин В.Д., Прум И.А. Влияние энкефалинов на активность ряда стрессовых гормонов при острой ишемии миокарда // Патол. физиол. и эксперим. терапия.- 1985.- N 3.- С.22-24.
54. Лишманов Ю.Б., Травков Ю.А., Федотова Т.В., Реброва Т.Ю. Влияние опиоидных нейропептидов на систему простагландинов и процессы перекисного окисления липидов в миокарде при его стрессорном повреждении // Бюлл.эксп.биологии и медицины.-1991.-N 6.-С.619-621.
55. Лишманов Ю.Б., Трифонова Ж.В., Цибин А.Н. Бета-эндорфин и стресс-гормоны плазмы крови при состояниях напряжения и адаптации // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1987.- N 4.- С.422-424.
56. Лишманов Ю.Б., Угдыжекова Д.С., Маслов Л.Н. Использование центрального введения агонистов  $\delta_1$ - и  $\delta_2$ -опиатных рецепторов для предупреждения адреналовых аритмий в эксперименте // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1997.- Т.124.- N 9.- С.286-288.
57. Лишманов Ю.Б., Федотова Т.В., Титов М.И. Воздействие энзимоустойчивого аналога лей-энкефалина на содержание простаноидов в миокарде при стрессорном и адреналовом повреждении // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1989.- N 6.- С.704-706.
58. Мазур Н.А. Внезапная смерть больных ишемической болезнью сердца.- М.:Медицина, 1985.-192 с.

59. Манухин Б.Н., Павлова В.И., Путинцева Т.Г. и др. Функциональное состояние симпато-адреналовой системы крыс при эмоционально-болевым стрессе // Физиол. журн. СССР им. Сеченова.- 1981.- Т.67.- № 8.- С.1182-1188.
60. Майзелис М.Я., Заблудовский А.Л., Шихов С.Н. Об участии циклических нуклеотидов в механизме действия энкефалинов // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1982.- № 3.- С.33-35.
61. Малышев В.В., Лифантьев В.И., Меерсон Ф.З. Функциональное состояние митохондрий сердца в динамике эмоционально-болевого стресса. // Кардиология.- 1982.- № 6.- С.118-120.
62. Малышев В.В., Трещук Л.И., Харитончик Е.Г. Накопление <sup>99m</sup>Tc-пирофосфата и структурные изменения в сердечной мышце при фармакологической коррекции стрессорных повреждений сердца // Архив патологии.- 1986.- № 6.- С.20-23.
63. Маркова Е.А., Мисула И.Р., Цяпа Ю.М. Влияние простагландина E<sub>2</sub> на развитие адреналиновой миокардиодистрофии // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1988.- № 11.- С.529-531.
64. Маслов Л.Н., А.В.Крылатов, Ю.Б.Лишманов. Антиаритмический эффект селективного антагониста σ-рецепторов DuP734 [1-(циклопропидметил)-4-(2'-(4''-флуорофенил)-2'-оксоэтил)пиперидин HBr] // Экспериментальная и клиническая фармакология.-1997.-т.60.- №2.- С.24-26.
65. Маслов Л.Н. Роль опиоидной системы в регуляции аритмогенеза и механизмов адаптационной защиты сердца при стрессе.- Автореф. дисс. ... докт. мед. наук. - Томск, 1996.
66. Маслов Л.Н., Крылатов А.В., Лишманов Ю.Б. Антиаритмическое действие агонистов мю-опиатных рецепторов при адреналовых аритмиях: роль вегетативной нервной системы // Бюллетень эксп. биологии и медицины.- 1996.- Т.122.- № 7.- С.25-27.

67. Маслов Л.Н., Крылатов А.В., Лишманов Ю.Б. Об участии эндогенных агонистов  $\mu$ - и  $\delta$ -опиатных рецепторов в механизмах антиаритмического эффекта адаптации // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1996.- № 1.- С.4-7.
68. Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б., Крылатов А.В., Угдыжекова Д.С. Об участии центральных и периферических  $\kappa$ -опиатных рецепторов в механизме антиаритмического действия производных бензенацетамида // Эксперим. и клинич. фармакология.- 1996.- Т.59.- № 6.- С.20-22.
69. Маслова Л.В., Лишманов Ю.Б. Зависимость степени стрессорных повреждений сердца от изменения уровня эндогенного бета-эндорфина в ходе предварительной адаптации // Бюлл. exper. биологии и медицины. -1989.- № 6.- С.662-665.
70. Маслова Л.В., Лишманов Ю.Б., Смагин Г.Н.. Участие опиоидных пептидов в регуляции биосинтеза миокардиального белка при стрессе и адаптации // Вопр. мед. химии.- 1991.- Т.37.- № 1.- С.63-65.
71. Матлина Э.А. Обмен катехоламинов в гормональном и медиаторном звеньях при стрессе // Успехи физиолог. наук.- 1972.- № 4.- С.92-130.
72. Маймескулова Л.А., Маслов Л.Н., Лишманов Ю.Б., Краснов Е.А. Об участии  $\mu$ ,  $\delta$ , и  $\kappa$ -опиоидных рецепторов в реализации антиаритмического эффекта родиолы розовой // Эксперим. и клинич. Фармакология 1997.- Т.60.-№1.- С. 38-39.
73. Машковский М.Д. Лекарственные средства (пособие для врачей). В двух частях.-М.: Медицина.-1993.-736 с.
74. Меерсон Ф.З. Пластическое обеспечение функций организма. М.: Наука, 1967.- 208 с.
75. Меерсон Ф.З. Адаптация, стресс и профилактика.- М.: Наука, 1981.- 278 с.
76. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.- М.: Медицина, 1984.- 272 с.

77. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и стресс-лимитирующие системы организма // Физиология адаптационных процессов: Руководство по физиологии. М.Наука, 1986.- С.521-631.
78. Меерсон Ф.З., Малышев И.Ю. Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца.- М.: Наука, 1993.- 158с.
79. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам.- М.: Медицина, 1988.- С.256.
80. Меерсон Ф.З., Архипенко Ю.В., Рожицкая И.И., Коган В.Е. Повреждение  $Ca^{2+}$ -транспортирующей системы саркоплазматического ретикулаума сердца при эмоционально-болевым стрессе // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1981.- № 4.- С.405-406.
81. Меерсон Ф.З., Белкина Л.М. Предупреждение ишемических и реоксигенационных аритмий и фибрилляции сердца с помощью антиоксиданта ионола // Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1986.- № 6.- С.662-664.
82. Меерсон Ф.З., Белкина Л.М., Дюсенов С.С. и др. Предупреждение фибрилляций сердца с помощью антиоксидантов и предварительной адаптации животных к стрессовым воздействиям. // Кардиология.-1985.-Т.25.- № 10.- С.29-31.
83. Меерсон Ф.З., Васильев В.К. Повреждение и репарация ДНК сердечной мышцы при эмоционально-болевым стрессе // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1981.- № 9.-С.297-299.
84. Меерсон Ф.З., Дмитриев А.Д., Заяц В.И. Предупреждение нарушений сократительной функции сердца при экспериментальном инфаркте миокарда с помощью предварительной адаптации к стрессорным воздействиям и опиоидным пептидам // Кардиология.- 1984.- Т.24.- № 9.-С.81-88.
85. Меерсон Ф.З., Каткова Л.С., Козлов Ю.П. и др. Предупреждение стрессорных нарушений сократительной функции миокарда путем применения щадящей



- адаптации к коротким стрессорным воздействиям // Бюлл. эксперим. биологии и мед.- 1985.- N 8.- С.142-144.
86. Меерсон Ф.З., Лифшиц Р.И., Павлова В.И. Динамика и физиологическое значение активации ГАМК-системы в головном мозге и сердечной мышце при эмоционально-болевым стрессе // Вопр. мед. химии.- 1989.- N 1.- С.35-40.
87. Меерсон Ф.З., Медведев Л.Н., Голубева Л.Ю., Устинова Е.Е. Влияние эмоционально-болевого стресса на активность Na,K-АТФазы в сердечной мышце // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1982.- N 8.- С.61-62 .
88. Меерсон Ф.З., Пшенникова М.Г., Белкина Л.М. Антиаритмическое действие стресс-лимитирующих факторов даларгина и феназепамы // Хим.-фарм. журн.- 1989.- Т.23.- N 9.- С.1034-1038.
89. Меерсон Ф.З., Ясинский И.Л., Козлов Ю.П., Болотов А.В. Влияние стресса на трансмембранный потенциал кардиомиоцитов работающего сердца и его восстановление после гипотермии // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1986.- Т.120.- N 12.- С.674-676.
90. Мест Х.-Дж., Ишгалейт В., Ферстер Б. Влияние стрессовых нагрузок на концентрацию простагландинов в плазме крови студентов // Фармакол. и токсикол.- 1982.- Т.45.- N 3.- С.110-112.
91. Мирзоян Р.А., Потапов А.А., Писецкая М.В. Бета-эндорфин и кортикотропин в крови у больных в остром периоде черепно-мозговой травмы // Вопр. мед. химии.- 1986.- N 3.- С.95-98.
92. Михайлова Г.И. Строжаков, Н.А. Бебякова, Т.М. Семушкина // Бюлл. экспер. биологии и мед.- 1997.- Т.123.- N 5.- С.509-512.
93. Оразбаева Л.К., Кереева Д.Н., Шалахметова Т.М. Влияние энкефалинов на секрецию и продукцию кортикостерона и катехоламинов у здоровых крыс-самцов // Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии.- Томск, 1985.- С.99-100.

94. Павленко В.С., Слепушкин В.Д., Золоев Г.К. Влияние энкефалинов на течение изадринового некроза миокарда у кроликов в эксперименте // Кардиология.- 1985.- N 12.- С.94-97.
95. Павленко В.С., Слепушкин В.Д., Лишманов Ю.Б. Биохимические аспекты участия энкефалинов в регуляции адренергических влияний на миокард // Вопр. мед. химии.- 1984.- Т.30.- N 6.- С.64-67.
96. Павлова В.И. Стрессорное повреждение организма и его предупреждение метаболитами стресс-лимитирующих систем.- Автореферат дисс. ... докт. биол. наук.- Томск.- 1990.
97. Панин Л.Е. Биохимические механизмы стресса.- Новосибирск, 1983.- 232 с.
98. Пшенникова М.Г. Защитная роль простагландинов при повреждающих воздействиях // Патол. Физиология и экспер. терапия.- 1991.- N 6.- С. 54-58.
99. Сауля А.И., Меерсон Ф.З. Постстрессорные нарушения функции миокарда.- Кишенев, 1990.- 113 с.
100. Селье Г. Стресс без дистресса.- М., 1979.- 124с.
101. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы физиологически активных веществ.- М.: Медицина, 1987.- 400 с.
102. Сикутери Ф., Ансельми Б., Курради Ц. и др. Морфиноподобные факторы в спинномозговой жидкости пациентов с головными болями // Эндорфины: Пер. с англ./Под рад. Э.Коста, М.Трабуки.-М.: Мир, 1981.- с.357-360.
103. Синг С.Н. Внезапная смерть и аритмии, осложняющие течение сердечной недостаточности. / Международное руководство по сердечной недостаточности.- М.: Медиа Сфера.- 1995.- С.57-64.
104. Славнов В.Н., Валуева Г.В., Лучитский Е.В. Влияние бета-эндорфина на некоторые эндокринные функции // Бюлл. экспер. биологии и медицины.- 1983.- N 12.-С.5-7.

105. Слепушкин В.Д., Золоев Г.К., Масенко В.П. и др. Содержание лей-энкефалина в крови у больных острым инфарктом миокарда // Кардиология.- 1985.- N 12.- С.105-106.
106. Соколов Е.И. и др. Эмоциональное напряжение и реакции сердечно-сосудистой системы.- М., 1980.- 210 с.
107. Стресс-лимитирующие системы организма и предупреждение фибрилляции сердца/ Ф.З.Меерсон, М.Г.Пшенникова, Е.В.Шабунина и др. // Вестн. АМН СССР.- 1987.- N 6.- С.47-54.
108. Стропус Р.А., Тамашаускас К.А., Якубаускайте Б.Б. Применение точечного метода для количественного изучения нервных структур // Общие закономерности морфогенеза и регенерации.- Каунас, 1976.- С.68-69.
109. Судаков К.В. Системные механизмы эмоционального стресса. М., 1981.- 266 с.
110. Судаков К.В. Экспериментальные подходы к профилактике внезапной сердечной смерти в условиях острых эмоциональных стрессов // Внезапная смерть. Материалы 3-го советско-американского симпозиума 28-30 июня, Каунас.- 1982.- С.318-332.
111. Тигранян Р.А., Вакулина О.П. Энкефалины и эндорфин в различных тканях крыс при стрессе // Система мозговых и внемозговых пептидов.- Л.: Наука, 1984.- С.93-94.
112. Ткачева Г.А., Балаболкин М.И., Ларичева И.П. Радиоиммунохимические методы исследования.- Изд-во М: Медицина, 1983.- 191 с.
113. Федоров Б.М. Эмоции и сердечная деятельность.- М., 1977.- 215 с.
114. Федотов В.П., Иваненко Т.И., Гудошников В.И. Влияние мет-энкефалина, лей-энкефалина и их ретро-аналогов на лактотропную функцию гипофиза у крыс // Пробл. эндокринологии.- 1983.- N 5.- С.48-54.

115. Хендерсон Г., Хагес Дж., Костерлитц Г. Модификация высвобождения катехоламинов наркотическими анальгезирующими препаратами и опиоидными пептидами // Освобождение катехоламинов из адренергических нейронов.- М.: Медицина, 1982.- С.207-217.
116. Чазов Е.И. Эмоциональные стрессы и сердечно-сосудистые заболевания // Вестник АМН СССР.- 1975.- N 8.- С.3-8.
117. Швалев В.Н., Жучкова Н.И. Простой способ выявления адренергических нервных структур в тканях человека и животных с применением раствора глиоксиловой кислоты // Арх. анат. гистол. и эмбриологии.- 1979.- Т.76.- N 6.- С.114-116.
118. Шимкович М.В., Пшенникова М.Г., Влияние предварительного введения Пг Е<sub>2</sub> и индометацина на нарушение сократительной функции сердца при стрессе // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1986.- Т.101.- N 5.-С.536-537.
119. Шитов Г.Д., Рапопорт Э.А., Казарян В.А. Метаболизм белков миокарда в различные периоды экспериментальной гипокинезии у крыс // Пат.физиол. и exper. терапия.- 1984.- N 4.- С.36-40.
120. Якушев В.С. и др. Активность Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-АТФ-азы и содержание калия, натрия, кальция в ткани миокарда и головного мозга крыс при эмоционально-болевым стрессе // Укр. физиологический журнал.- 1985.- Т.57.- N 3.- С.65-68.
121. Якушев В.С., Куприна В.И., Давыдов В.В., Миронова Е.В., Скурыгин В.П. Обмен кальция и содержание цАМФ в органах при ЭБС // Вопр. мед. химии.- 1986.- Т. 32.- N 6.- С.93-96.
122. Якушев В.С., Куприна В.И., Белоконь Л.Е., Миронова Е.В., Кирсанова Н.В., Давыдов В.В., Скурыгин В.П. Изменение концентрации соматотропина, циклических нуклеотидов и состояние белкового обмена в мозге и сердце крыс при стрессе, а так же некрозе миокарда, воспроизводимом после стресса // Вопр. мед. химии.- 1990.- Т.36.- N 1.- С.19-23.

123. Яснецов В.В., Мотин В.Г. Действие налоксона при травматическом шоке // Бюлл. exper. биологии и медицины.- 1983.- N 12.- С.50-52.
124. Abrams W.A., Moe R.A., Bates H., et al. Adrenergic mechanisms in the treatment of essential hypertension//Amer.J.Cardiol.- 1963.-Vol.12.-N5.- P.711-720.
125. Akil H., Madden R., Patrick L. Stress-induced increase in endogenous opiate peptides: Concurrent analgesia and its partial reversal by naloxone. In: Opiates and endogenous opioid peptides.- Amsterdam: North Holland, 1978.- P.63-70.
126. Amir S., Brown Z., Amit Z. The role of endorphins in stress // Neurosci. and Biobehav.- 1980.- Vol.4.- N 1.- P.77-86.
127. Appel N.M., Kiritsy-Roy J.A., Van Loon G.R. Mu receptors at discrete hypothalamic and brainstem sites mediate opioid peptide-induced increases in central sympathetic outflow // Brain res.- 1986.- Vol.378.- P.8-20.
128. Atweh S.F., Kubar M.S. Autoradiographic localisation of opiate receptor in rat brain // II The brain stem. Brain Res. -1977.- Vol.124.- N 1.- P.53-67.
129. Baamonde A, Dauge V, Gacel G. Systemic administration of (Tyr-D-Ser(O-Tert-Butyl)-Gly-Phe-Leu-Thr O-Tert-Butyl), a highly selective  $\delta$  opioid agonist, induces  $\mu$  receptor-mediated analgesia in mice // J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1991.- Vol.257.- N 2.- P.767-773.
130. Bacaner M.B. Quantitative comparison of bretylium with other antifibrillatory drugs // Amer. J. Cardiol.- 1968.- Vol.21.- P.504-512.
131. Belova T.I., Yunson Yu. Damage of blood brain barrier during immobilization stress // Bull. Exp. Biol. Med. (Russia).- 1983.- N 7.- P.3-5.

132. Benyhe S., Varga E., Borsodi A., Wollemann M. The occurrence of different kappa opioid receptors ( $K_1$  and  $K_2$ ) in frog (*Rana esculenta*) brain membranes // *Acta Physiol. Hung.*-1990.-Vol.76.- N 4.- P.291-294.
133. Berkehnbosch F., Vermes I., Binnekade R. Betaadrenergic stimulation induces an increase of the plasma levels of immunoreactive alpha-MSH, beta-endorphin, ACTH and corticosterone // *Life Sci.*- 1981.- Vol.29.- N 22.- P.2249-2256.
134. Bogdanova T.I., Kagan V.E., Kuliev I.V. Activation of lipid peroxidation in brain and appearance of antibody to brain antigens during stress // *Immunology (Russia).*- 1981.- N 2.- P.65-69.
135. Bollard J.L., Koch H.P. The course of antioxidant reaction in polyisoprenes and allied compounds. Part IX. The primary thermal oxidation product of ethyl linoleate // *J. Chem. Soc.*- 1945.- N 7.- P.445-447.
136. Bolme P., Fuxe K., Agnati L. Cardiovascular effects of morphine and opioid peptides following intracisternal administration in chloralose anesthetized rats // *Eur. J. Pharmacol.*- 1978.- Vol.48.- P.319-324.
137. Borasio P.G., Biondi C. Capuzzo A. Opiates modulation of cAMP levels and PgE-2 binding in mammalian sympathetic ganglia // *Neurosci. Lett.*- 1986.- Vol.66.- N 1.- P.7-12.
138. Brezinski M.E., Yanagisawa A., Lefer A.M. Cardioprotective actions of specific thrombo-xane receptor antagonist in acute myocardial ischemia // *J. Cardiovasc. Pharmacol.*-1987.-Vol.9.-N 1.- P.65-71.
139. Browen D.R., Robertson M.J., Goldberg L.I. Reversal of morphine-induced catalepsy in the rat by narcotic antagonists and their quaternary derivatives // *Neuropharmacology.*- 1983.- Vol.22.- N 3.- P. 317-321.
140. Brown M., Fisher L. Brain peptide regulation of adrenal epinephrine secretion // *Amer. J. Physiol.*- 1984.- Vol.247.- N 1.- Pt 1.- P.E41-E46.

141. Bruni J. Naloxone in shock // Lancet.- 1981.- N 8226.- P.942.
142. Caffrey J.L., Hodges D. Inhibition of the enzymatic degradation of met-enkephalin by catecholamines // Endocrinology.- 1982.- Vol.110.- N 1.- P.291-293.
143. Caffrey J.L. Enkephalin / catecholamine interactions in cardiac, skeletal, and intestinal muscle // J. Amer. Osteopath. Assoc.- 1984.- Vol.84.- N1. Suppl.- P.135-142.
144. Cebelin M.S., Hirsch C.S. Human stress cardiomyopathy. Myocardial lesions in victims of homicidal assaults without internal injuries // Hum. Path.- 1980.- Vol. 11.- P.123-132.
145. Ceremuzynski L., Barcikowski B., Lewicki Z. et al Stress-induced injury of pig myocardium is accompanied by increased lipid peroxidation and depletion of mitochondrial ATP // Exp. Pathol. (Germany).- 1991.- Vol.43.- N 3-4.- P. 213-220.
146. Cetel N., Quigley M., Gen S. Naloxone-induced prolactin secretion in women. Evidence against a direct prolactin stimulatory effect of endogenous opioids // J. Clin. Endocrinol. Metab.- 1985.- Vol.60.- N 1.- P.191-196.
147. Chang C., Su C. Affect of cold stress on the subcellular distribution of noradrenaline in the rat heart//J.Pharm.Pharmacol.-1967.-Vol.19.-N2.-P.73-7.
148. Chang K.-J., Wei E., Killian A., Chang J.-K. Potent morphiceptine analogs: Structure activity relationships and morphine-like activities // J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1983.- Vol.227.- P.403-408.
149. Cherubini E., North R. Mu- and kappa-opioids inhibit transmitter release by different mechanisms // Proc. Nat. Acad. Sci USA.- 1985.- Vol.82.- N 6.- P.1860-1863.

150. Coker S.J., Parratt J.R. Relationships between the severity of myocardial ischaemia, reperfusion-induced ventricular fibrillation, and the late administration of dazmegrel or nifedipine // J. Cardiovasc. Pharmacol.-1985.-Vol.7.-N 2.-P.327-334.
151. Collado-Escobar D., Rovati L.S., Gansetti J. et al. The  $\beta$ -endorphin induced secretion by growth hormone but not prolactin is inhibited by an endogenous opioid antagonist // Eur. J. Pharmacol.- 1986.- Vol.129.- N 3.- P. 385-387.
152. Cotton R., Giles M.G., Miller L. et al. ICI-174,864: a highly selective antagonist for the opioid  $\delta$  receptor // Eur. J. Pharmacol.- 1984.-Vol.97.- P.331-332.
153. Darius H., Osborne J.A., Reibel D.K., Lefer A.M. Protective actions of a stable prostacyclin analog in ischemia induced membrane damage in rat myocardium // J. Mol. Cell. Cardiol.- 1987.- Vol. 19.- N 3.- P.243-250.
154. degli-Uberti E.C., Petraglia F., Bondanelli M., Guo A.L., Valentini A., Salvadori S. Involvement of mu-opioid receptors in the modulation of pituitary-adrenal axis in normal and stressed rats // J. Endocrinol. Invest.- 1995.- Vol.18.- N 1.- P.1-7.
155. Demura R., Suda T., Wakabayashi I. Plasma pituitary hormone responses to the synthetic enkephalin analog (FK-33824) in normal subjects and patients with pituitary diseases // J. Clin. Endocrinol.- 1981.- Vol.52.- N 2.- P.263-266.
156. Farber J.L., Farmar R. Differential effects of cycloheximide on protein and RNA synthesis as a function of dose // Biochemical and biophysical research communication.-1973.-Vol.51.-N 3.-P.626-630.
157. Feuerstein G. The opioid system and central cardiovascular control: analysis controversions // Peptides.- 1985.- Vol.6.- Suppl. 2.- P. 51-56.



158. Fleminger G., Lahm H., Underfriend S. Changes in rat adrenal catecholamines and proenkephalin metabolism after denervation. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.- 1984.- Vol. 81.- N 11.- P.3587-3590.
159. Forsling M., Iversen L., Lightman S. Dopamin and enkephalin directly inhibit vasopressin release from the neurohypophysis // J. Physiol. (Gr. Brit.).- 1981.- Vol.1319.- P.66-69.
160. Frederich T., Lichey J., Nigam S., Priesnitz M., Wegschieder K. Follow-up of prostaglandin plasma levels after acute myocardial infarction // American Heart Journal.- 1985.- Vol.109.- N.2.-P.218-221.
161. Fuder H. Opioid receptor mechanisms in the peripheral regulation of noradrenaline release on the heart. // Regulatory roles of opioid peptides. Weinheim, New York: VCH 1988.- P. 205-217.
162. Gacel G., Fournie-Zaluski M.-C., Roques B.P. D-Tyr-Ser-Gly-Phe-Leu-Thr, a highly preferential ligand for  $\delta$ -opiate receptors // FEBS Lett.- 1980.- Vol.118.- N 2.- P.245-247.
163. Gaddis R.R., Dixon W.R. Modulation of peripheral adrenergic neurotransmission by methionine-enkephalin // J. Pharmacol. Exper. Ther.- 1982.- Vol.221.- P.282-288.
164. Giagnoni G., Santagostono A., Senini R. Cold stress in the rat induced parallel changes in plasma and pituitary levels of endorphin and ACTH // Pharmacol. Res. Commun.-1983.-Vol.15.-N 1.-P.15-21.
165. Giles T.D., Sander G.E. Comparative cardiovascular responses to intravenous capsaicin, phenyl-di-guanidine, veratrum alkaloids, and enkephalins in the conscious dog // J. Auton. Pharmacol.- 1985.- Vol.40.- P.711-714.
166. Gomol A.W., Ogletree M.L. Failure of aspirin to interfere with the cardioprotective effects of ifetroban. // Eur. J. Pharmacol.- 1994.- Vol.271.- P.471-479.

167. Gordon-Majszak W., Famulski K.S., Klos J., Herbaczynska-Cedro K. Stress-induced injury of pig myocardium is accompanied by increased lipid peroxidation and depletion of mitochondrial ATP // *Exp Pathol (Germany)*. - 1991. - Vol.43. - N 3-4. - P.213-220.
168. Guillemin R., Vargo T., Rossier J. et al. Beta-endorphin and adrenocorticotrophin are secreted comitantly by pituitary gland // *Science*. - 1977. - N 197. - P.1367-1369.
169. Haggendal J., Jonsson L., Johansson G. Catecholamine-induced free radicals in myocardial cell necrosis on experimental stress in pigs // *Acta Physiol. Scand.* - 1987. - Vol.131. - N 11. - P.447-450.
170. Hall B. Inhibition of monoamine oxidase by MTB 9320 (clorgyline). I. Substrate specificity in various mammalian species. *Biochem. Pharmacol.* 18:1447, 1969.
171. Hart S., Kitchen I. Potassium-stimulated depletion of enkephalin in rat hypothalamus and its alteration by adrenocorticotropin and corticosterone // *Brit. J. Pharmacol.* - 1980. - Vol.70. - P.79-80.
172. Herbaczynska-Cedro K., Gordon-Majszak W. Attenuation by prostacyclin of adrenaline-stimulated lipid peroxidation in the myocardium // *Pharmacol. Res. Commun.* - 1986. - Vol.18. - N 4. - P.321-332.
173. Holaday J.W., Faden A. Naloxone treatment in shock // *Lancet*. - 1981. - Vol. 2. - N 8239. - P.201.
174. Houdi A.A., Marson L., Davenport K.E., Van Loon G.R. Effects of  $\beta$ -FNA on sympathoadrenal, cardiovascular, and analgesic responses to DAMPGO at rest and during stress // *Pharmacology, Biochemistry & Behavior*. - 1996. - Vol.53. - N 4. - P.927-933.
175. Houdi A.A., Marson L., Davenport K.E., Van Loon G.R. Mu-opioid receptors modulate cardiovascular and sympathoadrenal function at rest and during stress // *Soc.Neurosci.Abstr.* - 1991. - Vol. 17. - P. 165.

176. Illes P., Bettermann R., Ramme D. Sympatho-inhibitory opioid receptors in the cardiovascular system // Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation.- New York: Raven Press, 1987.- Vol.4.- P.169-184.
177. Illes P., Ramme D., Starke K. Inhibition of neuroeffector transmission in the rabbit mesenteric artery by [Met5]-enkephalin // Eur. J. Pharmacol.- 1995.- Vol.107.- P.371-381.
178. Imamoto T., Terashita Z., Tanabe M., Nishikawa K., Hirata M. Protective effect of a novel thromboxane synthetase inhibitor, CV-4151, on myocardial damage due to coronary occlusion and reperfusion in the hearts of anesthetized dogs // J. Cardiovasc. Pharmacol.- 1986.- Vol.8.- N 4.- P.832-839.
179. Iversen L.L. Function and distribution of peptides in the nervous system // Biochem. Soc. Trans.- 1985.- Vol.13.- N 1.- P.35-37.
180. Jaffe B.M., Behrman H.R. Prostaglandins and prostaglandin metabolism // Methods of Hormone Radioimmunoassay, New York, 1979.- P.19-42.
181. Johansson G., Jonsson L., Lannek N., Blomgren L., Lindberd P., Poupa O. Severe stress-cardiopathy in pigs // American Heart Journal.- 1974.- Vol.87.- N 4.- P.451-457.
182. Johnson L.D., Hadden J.W. Cyclic GMP and lymphocyte proliferation: effects on DNA-dependent RNA polymerase I and II activities // Biochem. Biophys. Res. Commun.- 1975.- Vol.66.- N 4.- P.1498-1505.
183. Jouve R., Puddu P.E., Langlet F., Guillen J.C., Gautier T., Cano J.P., Serradimigni A. Epoprostenol (PGI<sub>2</sub>) prevents postischemic ventricular fibrillation and improves outcome in a canine model of sudden death // J. Pharmacol.- 1985.- Vol.16.- N 2 (Apr-Jun) .- P.139-157.
184. Kem D., Feldman M., Starkweather G. Effect of human beta-endorphin on plasma aldosterone concentrations in

- normal human subjects// J. Clin. Endocrinol. and Metab.-  
1985.- Vol.60.- N 3.- P.440-443.
185. Klee W., Lampert A., Nierenberg M. Dual regulation of  
adenilate cyclase by endogenous opiate peptides //  
Opiates and endogenous opioid peptides.- Amsterdam:  
Elsevier-North Holland.-1976.-P.153-160.
186. Klee W., Streaty R. Opioid-dependent dual regulation of  
adenilate cyclase in a cell-free system // Advances in  
Cyclic Nucleotide Research.- New York: Raven Press.-  
1981.- Vol.14.- P.629-635.
187. Kolesnikov L.S., Mantorova N.S., Shapiro L.A., Kulinskii V.I. The  
changes in the enzymatic activity of glutathione metabolism in immobilization  
stress and their possible significance // Patol. Fiziol. Eksp. Ter. (Russia) .-  
1990.- N 4 (Jul-Aug) .- P.9-11.
188. Korf J., Bunney B.SII., Aghajanian G.K. Noradrenergic neurons: morphine  
inhibition of spontaneous activity // Eur. J. Pharmacol.- 1974.
189. Kormoczy P.S., Vertesi C., Mikus E., Tardos L., Kovacs G.  
Cardioprotective effect of prostacyclin and 7-oxo-PGI<sub>2</sub> in rats against chronic  
isoproterenol damage // Prostaglandins.- 1987.- Vol.33.- N 4.- P.505-  
516.
190. Kostrelitz H.W., Paterson S.J. (Tyr-D-Ala-Gly-Me-Phe-NH-CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>-OH is a  
selective ligand for the  $\mu$ -opiate binding site // Br. J. Pharmacol.- 1980.- Vol.73,  
Suppl.- P.299P.
191. Kristy-Roy J.A., Appel N.M., Bobbitt F.G., Van Loon G.R. Effects of mu-opioid  
stimulation in the hypothalamic paraventricular nucleus on basal and stress-induced  
catecholamine secretion and cardiovascular responses // J. Pharmacol. Exper. Ther.-  
1986.- Vol.239.- P.814-822.

192. La Gamma E., Alder J., Black I. Impulse activity differentially regulates (Leu)enkephalin and catecholamine characters in the adrenal medulla // Science.- 1984.- Vol.224.- N 4653.- P.1102-1104.
193. La Motte C., Pert C., Synder S. Opiate receptor binding in primate spinal cord: Distribution and changes after dorsal root section // Brain Res.-1976.- N 112.- P.407-412.
194. Labrie F., Cusan L., Dupont A., Fernand L., Lemay A. Opioids and anterior pituitary hormone secretion. // Elsevier North Holland Biomedical Press.- 1978.- P.333-344.
195. Lahti R.A., Mickelson M.M., McCall J.M. [<sup>3</sup>H]U-69593 a highly selective ligand for the opioid k-receptor // Eur. J. Pharmacol.- 1985.- Vol.109.- P.281-284.
196. Laustiola K., Kaukinen S., Seppala E., Jokela T., Vapaatalo H. Adrenaline infusion evokes increased thromboxane B2 production by platelets in healthy men: the effect of beta-adrenoceptor blockade // Eur. J. Clin. Invest.-1986.- Vol.16.-N 6.-P.473-479.
197. Lecomte J.-M., Costentin J., Vlaiculescu A., Chaillet P., Marcais-Collado H., Llorens-Cortes C., Leboyer M., Schwartz J.-Ch. Pharmacological properties of acetorphan, a parenterally active «enkephalinase» inhibitor // J. Pharmacol. and Exper. Therap.- 1986.- Vol. 237.- N 3.- P. 937-944.
198. Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Ugdyzhekova D.S., Smagin G.N. Participation of central kappa-opioid receptor in arrhythmogenesis // Life science.- 1997.- Vol.61.- N 3.- P.33-38.
199. Lown B., DeSilva R., Reich P. Psychophysiologic factors in sudden cardiac death // Amer. J. Psychiatr. -1980.- Vol.137.- N 11.- P.1325-1335.

200. Machuganska A., Somova L., Dashev G., Zlatareva N., Vassileva M. Opioid peptides in experimental myocardial infarction. I. The effect of naloxone // *Acta physiol. et pharmacol. bulg.*- 1987.- Vol.3.- N 1.- P.26-34.
201. Mantelli L., Corti V., Ledda F. On the presence of opioid receptors in guinea-pig ventricular tissue // *Gen Pharmacol.*- 1987.- Vol.18.- P.309-313.
202. Marilyn S.C., Charles S.H. Human stress cardiomyopathy // *Human Pathology.*- 1980.-Vol.11.-P.123-132.
203. Marson L., Kristy-Roy J.A., Van Loon G.R.  $\mu$ -Opioid peptide modulation of cardiovascular and sympathoadrenal responses to stress // *Am. J. Physiol.*- 1989.- Vol.257.- P.R901-R908.
204. Maslov L.N., Lishmanov Yu.B. Change in opioid peptide level in the heart and blood plasma during acute myocardial ischaemia complicated by ventricular fibrillation // *Clin. and Experim. Pharmacology and Physiology.*- 1995.- Vol.22.- P.812-816.
205. Maslov L.N., Lishmanov Yu.B. The anti-arrhythmic effect of D-Ala<sup>2</sup>, Leu<sup>5</sup>, Arg<sup>6</sup>-enkephalin and its possible mechanism // *Int. J. Cardiol.*- 1993.- Vol.40.- P.89-94.
206. Mehta J.L. Prostaglandins: regulatory role in cardiovascular system and implication in ischemic heart diseases // *Prostaglandins.* -1983.- Vol.4.- N 3.- P.249-259.
207. Millan M., Gramsch C., Przewlocki R. Lesions of the hypothalamic arcuate nucleus produce a temporary hyperalgesia and attenuate stress-evoked analgesia // *Life Sci.*- 1980.- Vol.27.- P.1513-1523.
208. Millan M.J., Czkonkowski A., Lipkowski A. Kappa-opioid receptor-mediated antinociception in the rat. II. Supraspinal in addition to spinal sites of action // *J. Pharmacol. Exp. Therap.*- 1989.-Vol.251.-P.342-350.

209. Millan M.J., Morris B.J. Long-term blockade of mu-opioid receptors suggests a role in control of ingestive behaviour, body weight and core temperature in the rat // *Brain Res.*- 1988.-Vol.450.- P.247-258.
210. Miller D.G., Mallov S. Quantitative determination of stress-induced myocardial damage in rats // *Pharm. Biochem. Behav.*-1977.-Vol.7. -N 2.-P.139-145.
211. Moens W., Vokaer A., Kram R. Cyclic AMP and cyclic GMP concentration in serum- and density- restricted fibroblast cultures // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1975.- Vol.72.- N 3.- P.1063-1067.
212. North R.A. Opioid receptor types and ion channels // *Trends Neurosci.*- 1986.- Vol.9.- P.114-117.
213. Novakova M., Ela C., Barg J., Vogel Z., Hasin Y., Eilam Y. Inotropic action of sigma-receptor ligands in isolated cardiac myocytes from adult rats // *Eur. J. Pharmacol.*- 1995.- Vol.286.- N 1.- P.19-30.
214. Opie L.H., Muller C., Nathan D. Evidence for role of cyclic AMP as second messenger of arrhythmogenic effects of beta-stimulation // *Advances in Cyclic Nucleotide Research.*- New York: Raven Press, 1980.- Vol.12.- P.63-69.
215. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.*- New York: Academic Press.- 1982.- P. 200.
216. Pellegrino L.J., Pellegrino A.S., Cushman A.J. *A Stereotaxic Atlas of the Rat Brain.*- Plenum Press, New York/London, 1979.
217. Pelton J.T., Kazmierski W., Gulya K., Yamamura H.I., Hruby V.J. Design and synthesis of conformationally constrained somatostatin analogues with high potency and specificity for mu opioid receptors // *J. Med. Chem.*- 1986.- Vol.29.- P. 2370-2375.

218. Periyasamy S.M. Inhibition of cardiac sarcolemmal Na<sup>+</sup>/H<sup>+</sup> antiporter by opioids // Can. J. Physiol-Pharmacol.- 1992.- Vol.70.- N 7.- P.1048-1056.
219. Pfeiffer A., Fluerstein G., Faden A. Evidence for an involvement of mu- but not delta- or kappa-opiate receptors in sympathetically and parasympathetically mediated cardiovascular responses to opiates upon anterior hypothalamic injection // Life Sci.- 1982.- Vol.31.- N 12-13.- P.1279-1282.
220. Placer Z, Kuzela L. In vivo-Lipoperoxydation in der Leber nach partieller Hepatektomie // Acta. Biol. Med. Germ.- 1968.- Vol.21.- N.1.- P.121-124.
221. Placer Z. Lipoperoxydationssysteme in biologischen Material. 2. Mitt Bestimmung der Lipoperoxydation im Säugetierorganismus // Die Nahrung.- 1968.- Vol.12.- N 6.- P.679-684.
222. Podzuweit T., Opie L.H., Lubbe W.F. Cyclic adenosine monophosphate, ventricular fibrillation, and antiarrhythmic drugs // Lancet.- 1976.- Vol.1.- P.341-342.
223. Pollard H., Llorens C., Schwartz J. Localization of opiate receptors and enkephalins in the rat striatum in relationship with the nigrostriatal dopaminergic system: lesion studies// Brain Res.- 1978.- Vol.151.- N 2.- P.392-398.
224. Pugsley M.K., Saint D.A., Walker M.J. An electrophysiological basis for the antiarrhythmic actions of the kappa-opioid receptor agonist U-50,488H. // Eur. J. Pharmacol.- 1994.- Vol.261.- N 3.- P.303-309.
225. Rabinowe S., Taylor T., Dluhy R. Beta-endorphin stimulates plasma renin and aldosterone release in normal human subjects// J. Clin. Endocrinol. Metab.- 1985.- Vol.60.- N 3.- P.485-489.
226. Raiz K., Glaz E., Kiss R. Adrenal cortex - a newly recognized peripheral site of action of enkephalins // Biochem. Biophys. Res. Commun.- 1980.- N 97.- P.1346-1353.



227. Reichbach D., Benditt E.P. Catecholamines and cardiomyopathy: the pathogenesis and potential importance of myofibrillar generation // Human Pathol.- 1970.- Vol.1.- P.125-134.
228. Reinecke H., Vetter R., Drexler H. Effects of  $\alpha$ -adrenergic stimulation on the sarcolemmal  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$  - exchanger in adult rat ventricular cardiocytes // Cardiovascular research.-1997.- Vol.36.- P.216-222.
229. Rona G. Catecholamine cardiotoxicity. Editorial review. //J.Mol.Cel.Cardiol.-1985.-Vol.17.-P.291-306.
230. Roques B.P., Noble F., Dauge V. Neutral endopeptidase 24.11: Structure, inhibition, and experimental and clinical pharmacology// Pharmacol. Rew.- 1993.- Vol.45.- N 1.- P.87-146.
231. Rossier J., Vargo T., Minick S. et al. Regional dissociation of beta-endorphin and enkephalin contents in rat brain and pituitary. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA.- 1977.- Vol.74.- P.5162-5165.
232. Ruth J.A., Eiden L.B. Leucine-enkephalin modulation of catecholamine positive chronotropy in rat atria is receptor-specific and calcium-dependent // Neuropeptides.- 1984.- Vol.4.- P.101-108.
233. Saiani L., Guidotti A. Opiate receptor-mediated inhibition of catecholamine release in primary cultures of bovine adrenal chromaffin cells. // J. Neurochem.- 1982.- Vol.39.- N 6.- P.1669-1676.
234. Sander G.E., Lowe R.F., Giles T.D. The effects of barbiturates upon the hemodynamic responses to intravenous methionine-enkephalin in dogs: modulation by the GABA complex // Peptides . - 1986.- Vol.7.- N 2.- P.259-265.
235. Santagostino A., Cocchi E., Giagnoni E. et al. Some relationship between endorphins and pituitary hormones // Adv. Biochem. Pharmacol.-N 4.- Raven Press.- 1978.- P.175-181.

236. Schiller P.W., Nguyen T.M.-D., Lemieux C. Two new families of opioid peptide analogs displaying extraordinary  $\mu$ -receptor selectivity and preference for either peripheral or central sites.- Advances in the Biosciences. Pergamon Press, London, 1989.-Vol.75.- P.85-88.
237. Schiller P.W., Nguyen T.M.-D., Chung N.N. et al. Peripheral antinociceptive effect of an extremely  $\mu$ - selective polar dermorphin analog (DALDA) //Inter. Narcotic Res. Conference (INRC)'89.-1990.- P.53-56.
238. Schreiber S.S., Oratz M., Rothschild M.A. Cardiac protein synthesis in stress: overload, ethanol and anoxia // Heart perfusion, energetics and ischemia.- 1983.- Vol.62.- P.367-385.
239. Schror K., Funke K. Prostaglandins and myocardial noradrenaline overflow after sympathetic nerve stimulation during ischemia and reperfusion // J. Cardiovasc. Pharmacol.-1985.-N 7, Suppl 5.-P.S50-S54.
240. Scoto G.M., Parenti C., Scoto E., Spadaro C., Arrigo-Reind R. Effect of indomethacin on opioid-induced gastric protection in cold-restrained stress // Life Sci.- 1991.- Vol.48.-N 9.-P.867-871.
241. Selye H. Antistress drugs // 5 Annual report on stress, New-York.-1955-1956.- p.38-41.
242. Selye H. Participation of the adrenals in the production of renal and cardiac lesions by cold// Canad.Med.Assoc.J.-1957.-Vol.77.-N 10.-P.1114-1117.
243. Selye H. Synergism between mineralo- and glucocorticoid in the production the "phosphate-steroidcardiopathy"// Acta Endocrinol.- 1958.- Vol.28.- P.279-284.
244. Selye H., Bajusz E. Conditioning by corticoids for the production of cardiac lesions with noradrenaline // Acta Endocrinol.- 1959.- Vol.30.- N 1.- P.183-187.
245. Selye H. The pluricausal cardiopathies // Spring-fild, III. - 1969.- Charles C. Thomas, Publisher.- p.125-127.

246. Shearman G.T., Herz A. Non-opioid psychotomimetic-like discriminative stimulus properties of N-allylnormetazocine (SKF 10,047) in the rat // Eur.J.Pharmacol.- 1982.- Vol.82.- N 3-4.-P.167-172.
247. Shook J.E., Pelton J.T., Kazmierski W., Lemcke P.K., Villar R.G., Hruby V.J., Burks T.F. A cyclic somatostatin analog that precipitates withdrawal in morphine-dependent mice.- NIDA Research Monograph Series.- 1986.- Vol.76.- P.295-301.
248. Shook J.E., Pelton J.T., Lemcke P.K., Porreca F., Hruby V.J., Burks T.F. Mu opioid antagonist properties of cyclic somatostatin octapeptide in vivo: indication of mu receptor-related functions // J. Pharmacol. and experim. therap.- 1987.- Vol.242.- N1.-P.1-7.
249. Simantov R. Glucocorticoids inhibit endorphin synthesis by pituitary cells // Nature.- 1979.- N 280.- P.684-685.
250. Siren A.L., Paakkari P., Goldstein D.S., Feuerstein G. Mechanism of central hemodynamic and sympathetic regulation by mu opioid receptor: effects of demorphin in the conscious rat // J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1989.- Vol.248.- N 2.- P.596-604.
251. Snyder S.H. Brain peptides as neurotransmitters // Sciens.- 1980.- Vol.209.- P.976-983.
252. Sperelakis N., Wahler G.M. Regulation of  $Ca^{2+}$  influx in myocardial cells by beta adrenergic receptors, cyclic nucleotides, and phosphorylation // Mol. Cell. Biochem.- 1988.- Vol.82.- P.19-28.
253. Sudgen P.N. The effects of hormonal factors on cardiac protein turnover // Advances of myocardiology.- 1985.- Vol.5.- P. 105-121.

254. Szekely J.J. Opioid peptides and stress // *Critical Rev. in Neurobiol.*- 1990.- Vol.6.- N 1.- P.1-12.
255. Tada M., Hoshihara S., Kuzuya T., Inoue M., Minamino T., Abe H. Augmented thromboxane A<sub>2</sub> generation and efficacy of its blockade in acute myocardial infarction // *Int.J.Cardiol.*-1985.- N 8.- P.301-312.
256. Tam S.W. Naloxone-inaccessible  $\sigma$ -receptor in rat central nervous system // *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.*- 1983.- Vol.80.- P.6703-6707.
257. Tam S.W., Steinfelds G.F., Gilligan P.J. Dup 734 1-(cyclopropylmethyl) - 4 - (2'(4" - fluorophenyl)-2'-oxoethyl)- piperidine HBr], a sigma and 5-hydroxytryptamine<sub>2</sub> receptor antagonist: receptor- binding, electrophysiological and neuropharmacological profiles // *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1992.- Vol.263.- P.1167-1174.
258. Taylor T., Dluhy R., Williams G. Beta-endorphin suppressed adrenocorticotropin and cortisol levels in 9 normal human subjects // *J. Clin. Endocrinol. Metab.*- 1983.- Vol. 57.- N 3.- P.592-596.
259. Timerman A.P., Altschuld R.A., Hohl C.M., Brierley G.P., Merola A.J. Cellular glutathione and the response of adult rat heart myocytes to oxidant stress // *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1990.- Vol.22.- N 5.- P.565-575.
260. Ui M., Honma M., Kunitaba S. Adrenergic cholinergic modulation of extracellular cyclic nucleotides// *Advances in Cyclic Nucleotide Research.*- New York: Raven Press, 1980.- Vol.12.- P.25-35.
261. Van Loon G.R. Opioid peptide regulation of catecholamine secretion // *Opioid peptides in the periphery.*- Proc.Intern.Symp.Rome.- May 23-25, Amsterdam, 1984.- P.47-52.
262. Van Loon G.R., Pierzchala K., Zeman P., Kvetnansky R. Plasma native and peptidase-hydrolyzable Met-enkephalin: Adaptation of responses to restraint and immobilization stress in rats / *Stress: Neurochemical and humoral mechanisms.* New York: Gordon and Breach.- 1989.- P.679-689.

263. Ventura C., Bastagli L., Bernardi P., Caldarera C.M., Guarnieri C. Opioid receptor in rat sarcolemma: Effect of phenylephrine and isoproterenol // Biochim. Biophys. Acta.- 1989.-Vol.987.-p.69-74.
264. Ventura C., Spurgeon H., Lakatta E.G., Guarnieri C., Capogrossi M.C.  $\kappa$  and  $\delta$  opioid receptor stimulation affects cardiac myocyte function and  $Ca^{2+}$  release from an intracellular pool in myocytes and neurons // Circulation research.- 1992.- Vol.70.- P.66-81.
265. Viskin S., Belhassen B. Idiopathic ventricular fibrillation // Amer. Heart J.- 1990.- Vol.120.- N 3.- P.661-671.
266. Viveros O., Diliberto E., Hazum E. Opiat-like materials in the adrenal medulla: evidence for storage and secretion with catecholamines // Mol. Pharmacol.- 1979.- Vol.16.- N 3.- P.1101-1108.
267. VonVoigtlander P.F., Lahti R.A., Ludens J.H. U-50,488: A selective and structurally novel non-mu ( $\kappa$ ) opioid agonist // J. Pharmacol. Exp. Therap.- 1983.- Vol.224.- N 1.- P.7-12.
268. VonVoigtlander P.F., Lewis R.A. Analgesic and mechanistic evaluation of spiradoline, a potent kappa opioid // J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1988.- Vol.246.- N 1.- P.259-262.
269. Walsh M.P., Le Peuch C.J., Vallet B. et al. Cardiac calmodulin and its role in the regulation of metabolism and contraction // J. Mol. Cell. Cardiol.- 1980.- Vol.12.- P.1091-1101.
270. Wanlinsky P., Smith J.B., Lefler A.M., Lebenthal M., Urban P., Greenspon A., Goldberg S. Thromboxane  $A_2$  in acute myocardial infarction //Am.Heart J. (108) :866-8, 1984.

271. Wennmalm M., Fitz Gerald G.A., Wennmalm A. Prosta-cyclin as neuromodulator in the sympathetically stimulated rabbit heart // Prostaglandins. - 1987.-Vol.33.- N 5.- P.675-691.
272. Verrier R.L., Lown B. Vagal tone and ventricular vulnerability during psychologic stress // Circulation.- 1980.- Vol.62.- N 2.- P.176-184.
273. Westfall T.C. // Physiol. Rev.- 1977.- Vol.57.- N 4.- P.659-728.
274. Wong-Dusting H.K., Rand M.J. Effect of [D-Ala<sup>2</sup>, Met<sup>5</sup>]-enkephalinamide and [D-Ala<sup>2</sup>,D-Leu<sup>5</sup>]-enkephalin on cholinergic neurotransmission in isolated atria // Eur. J. Pharmacol.-1985.-Vol.111.-P.65-72.
275. Xiao R.-P., Pepe S., Spurgeon H.A., Capogrossi M.C., Lakatta E.G. Opioid peptide stimulation reverses  $\beta$ -adrenergic effects in rat heart cells // Am. J. Physiol.- 1997.- Vol.272.- P.H797-H805.
276. Xiao R.-P., Spurgeon H.A., Capogrossi M.C., Lakatta E.G. Stimulation of opioid receptor on cardiac ventricular myocytes reduces L Type Ca<sup>2+</sup> channel current //J.Mol.Cell.Cardiol.-1993.-Vol.25.-P.661-666.
277. Yagi K. A simple fluorometric assay for lipopero-xide in blood plasma // Biochem Medicine.-1976.- Vol.15.- P.212-216.