

На правах рукописи

Цибульников

Сергей Юрьевич

Роль опиоидных рецепторов, протеинкиназы С, тирозинкиназ, PI3-киназы и NO-синтазы в реализации кардиопротекторного эффекта адаптации к непрерывной нормобарической гипоксии

03.03.01 - физиология
14.03.03 - патологическая физиология

Автореферат

диссертация на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Томск – 2013

Работа выполнена в Государственном бюджетном образовательном учреждении высшего профессионального образования Томский государственный педагогический университет

Научные руководители:

доктор биологических наук

Ласукова Татьяна Викторовна

доктор медицинских наук

Рыжкова Дарья Викторовна

Официальные оппоненты:

Доктор медицинских наук, профессор,
профессор кафедры биофизики и
функциональной диагностики ГБОУ
ВПО Сибирский государственный
медицинский университет Минздрава
России

Ковалев Игорь Викторович

доктор медицинских наук, доцент,
профессор кафедры спортивно-
оздоровительного
туризма, спортивной физиологии и
медицины ФГБОУ ВПО
«Национальный исследовательский
Томский государственный
университет»

Дьякова Елена Юрьевна

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение «Научно-исследовательский институт физиологии и фундаментальной медицины» СО РАМН

Защита состоится «__» _____ 2013 г. в __ часов на заседании диссертационного совета Д 208.096.01 при ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России по адресу 634050 г. Томск, Московский тракт, д. 2

С диссертацией можно ознакомиться в научно-медицинской библиотеке ГБОУ ВПО СибГМУ Минздрава России

Автореферат разослан «__» _____ 2013г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Петрова И.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Проблема повышения устойчивости сердца к ишемическим и реперфузионным повреждениям все еще остается одной из наиболее актуальных проблем современной физиологии, патофизиологии и кардиологии. Это связано с тем, что ишемическая болезнь сердца и, прежде всего, острый инфаркт миокарда (ОИМ) представляют собой одну из основных причин инвалидизации и смертности среди взрослого населения России и экономически развитых стран [Марков В.А. и др., 2011; Чазов Е.И., 2008; Braunwald E., 2011]. Единственным эффективным методом лечения ОИМ является реканализация инфаркт-связанной коронарной артерии [Марков В.А. и др., 2011; Чазов Е.И., 2008; Braunwald E., 2011]. К сожалению, необратимые повреждения кардиомиоцитов при ишемии/реперфузии возникают слишком быстро. Так, по данным некоторых авторов [Neckar J. et al., 2003], обширный очаг некроза формируется при 20-минутной экспериментальной коронароокклюзии и последующей реперфузии (3 ч). Между тем, в России среднее время поступления больного с ОИМ в стационар составляет 2,5 – 2,8 ч [Марков В.А. и др., 2011]. В этой ситуации неоценимую помощь в спасении жизни пациентов с ОИМ на догоспитальном этапе могло бы оказать применение препаратов, заметно повышающих устойчивость сердца к действию ишемии/реперфузии. К сожалению, такие лекарственные средства пока не существуют. В создании подобных препаратов существенную помощь могло бы оказать изучение молекулярных механизмов адаптационных феноменов, повышающих устойчивость сердца к ишемии и реперфузии. К таким адаптивным феноменам следует отнести адаптацию к гипоксии.

В 1952 г Г. Селье [Selye H., 1952] было показано, что адаптация к одному экстремальному воздействию может обеспечивать повышение толерантности организма и к другим экстремальным факторам, феномен получил название «перекрёстный эффект адаптации». Эти данные были подтверждены другими исследователями. Так, например, адаптация к иммобилизационному стрессу обеспечивает повышение устойчивости организма крыс к холоду [Kuroshima A. et al., 1984] и гипоксии [Меерсон Ф.З. и др. 1988]. Адаптация к иммобилизационному стрессу [Меерсон Ф.З. и др., 1988; Meerson F.Z. и Malyshev I.Yu., 1989] или холоду [Барбараш Н.А., 1996] повышает толерантность сердца к аритмогенному действию ишемии и реперфузии. Установлено, что адаптация к периодической гипоксии обеспечивает повышение толерантности сердца к действию ишемии и реперфузии [Ding H.L. et al., 2004; Fitzpatrick C.M. et al., 2005; Kolar F. et al., 2005; Neckar J. et al., 2002; 2005]. Установлено, что адаптация крыс к хронической непрерывной нормобарической гипоксии (ХННГ) также оказывает инфаркт-лимитирующий эффект при коронароокклюзии и реперфузии *in vivo* [Neckar

J. et al., 2003] и повышает устойчивость изолированного сердца к действию глобальной ишемии/реперфузии [Tajima M. et al., 1994].

Адаптация к гипоксии представляет особый интерес для врачей и исследователей, поскольку кардиопротекторный эффект этого воздействия сохраняется несколько дней [Дудко В.А. и Соколов А.А., 2000; Меерсон Ф.З. и Мальшев И.Ю., 1993; Меерсон Ф.З. и Пшенникова М.Г., 1988]. Согласно данным С.М. Fitzpatrick и соавторов [Fitzpatrick С.М. et al., 2005], кардиопротекторный эффект хронической гипоксии у новорожденных кроликов может сохраняться в течение 30 дней после последнего сеанса гипоксии, а по данным В. Ostadal и соавт. [Ostadal В. et al., 1995] защитный эффект гипоксии может сохраняться в течение 4-х месяцев.

Существует определенное сходство между отсроченной фазой ишемического прекондиционирования и феноменом адаптационной устойчивости сердца к ишемии и реперфузии. Планируя это исследование, мы предположили, что молекулярный механизм протекторного эффекта адаптации и механизм положительного эффекта действия отсроченного ишемического прекондиционирования (second window) может быть сходен. Есть данные, которые подтверждают это предположение [Beguín P.C. et al., 2005; Xi L. et al., 2002].

Молекулярный механизм кардиопротекторного и антиаритмического действия ХННГ остается изученным недостаточно. Недавно российские физиологи установили, что антиаритмический эффект периодической гипоксии связан с активацией опиоидных рецепторов [Лишманов Ю.Б. и др., 2003]. Китайская группа исследователей получила данные о том, что активация NO-синтазы в кардиомиоцитах крыс, подвергнутых гипоксии, способствует улучшению сократимости сердца в реперфузионном периоде [Ding H.L. et al., 2004]. Сходные данные были получены другими исследователями [Fitzpatrick С.М. et al., 2005; Xi L. et al., 2002]. Таким образом, установлено, что опиоидные рецепторы, а так же протеинкиназа С и NO-синтаза играют важную роль в кардиопротекторном эффекте прерывистой гипоксии. По всей видимости, они же участвуют в адаптации к ХННГ.

Таким образом, анализ литературных данных позволяет нам предполагать, что механизмы формирования отсроченного ишемического прекондиционирования и механизмы защитного действия хронической непрерывной нормобарической гипоксии могут иметь сходную природу.

Цель исследования: Исследовать роль опиоидных рецепторов, протеинкиназы С, тирозинкиназ, PI3-киназы и NO-синтаз в реализации кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Задачи исследования:

1. Изучить влияние хронической непрерывной нормобарической гипоксии на уровень опиоидных пептидов в миокарде и плазме крови у крыс.

2. Исследовать роль μ -, δ - и κ -опиоидных рецепторов в механизме формирования повышенной устойчивости миокарда к действию острой коронароокклюзии и реперфузии после воздействия хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

3. Выяснить значение протеинкиназы С в опосредовании кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

4. Изучить роль тирозинкиназ в механизме кардиопротекции при воздействии хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

5. Определить, участвует ли Р13-киназа в кардиопротекторном эффекте хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

6. Исследовать вклад NO-синтаз в кардиопротекторный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Научная новизна

Впервые выявлено, что хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия вызывает увеличение содержания эндогенных опиоидных пептидов в миокарде и плазме крови у крыс.

В настоящем исследовании впервые выяснена роль опиоидных рецепторов в устойчивости сердца к действию ишемии и реперфузии у крыс, подвергнутых хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Впервые изучена роль протеинкиназы С, тирозинкиназ, Р13-киназы в кардиопротекторном эффекте хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Впервые исследован вклад индуцибельной NO-синтазы в кардиопротекторный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Научно-практическая значимость

Результаты работы расширяют представления о роли опиоидных рецепторов и сопряженных с ними сигнальных путей в реализации повышения устойчивости сердца к действию ишемии и реперфузии.

Основные положения работы могут быть использованы в качестве теоретической основы для прикладных исследований в области создания принципиально новых фармакологических препаратов, обладающих кардиопротекторным действием.

По результатам работы была отправлена заявка на патент. Получена приоритетная справка.

Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Цибульников С. Ю., Горбунов А.С. «Средство, увеличивающее устойчивость сердца к ишемическим-реперфузионным повреждениям» от 27.03.2012 №2012111891

Основные положения, выносимые на защиту:

1. В условиях хронической непрерывной нормобарической гипоксии повышается концентрация эндогенных опиоидных пептидов в миокарде и плазме крови у крыс.

2.Опиоидная система является одним из звеньев повышенной устойчивости сердца к действию ишемии и реперфузии в условиях хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

3.Кардиопротекторный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии реализуется при участии протеинкиназы С, тирозинкиназы, индуцибельной NO-синтазы.

Апробация работы: Материалы диссертации представлены на конференциях: XIV Всероссийская с международным участием конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Наука и образование» (Томск, 2010); Первая Международная Научно-Практическая конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» (Санкт-Петербург, 2010); 6 Российская конференция с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» (Москва, 2011); Российский национальный конгресс кардиологов. (Москва, 2011); VII Сибирский физиологический съезд (Красноярск, 2012);

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 15 работ. Из них 7 работ в журналах списка ВАК, 8 – в материалах международных и российских конференций.

Гранты. 10-04-00288-а РФФИ Сигнальный механизм адаптивного феномена индуцированного опиоидами; 11-04-16115-моб_з_рос Участие в работе VI Российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция»; 11-04-98004-р_сибирь_а Адаптивный феномен, индуцированный опиоидами: рецепторная природа и сигнальный механизм; 12-04-91152-ГФЕН_а Молекулярные механизмы адаптационного феномена, вызванного хронической гипоксией;

Личный вклад автора. Автором сформулированы цель, задачи исследования и основные положения, выносимые на защиту. Проведены в полном объеме экспериментальные исследования, изучены отечественные и зарубежные источники литературы, посвященные изучению гипоксии. Доля участия в сборе материала - 90%, в обработке материала – 100%, в обобщении и анализе материала 80%.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 129 страницах машинописного текста и состоит из введения, трех глав, выводов и списка использованной литературы. Работа иллюстрирована 20 рисунками и 17 таблицами. Библиографический указатель включает 249 источников (51 - отечественный и 198 - иностранных)

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты выполнены на крысах самцах линии Вистар массой 250-300 г.

При проведении экспериментов руководствовались рекомендациями о гуманном отношении к лабораторным животным, изложенными в Приказе МЗ СССР за № 755 от 12 августа 1977 г.

Крысы контрольной группы за 25 мин до перевязки коронарной артерии получали 0,2 мл физиологического раствора внутривенно.

Животные подвергались хронической гипоксии, постоянно находясь в гипоксической камере при 12% O₂ и нормальном атмосферном давлении на протяжении 21 дня [Neckar J. et al., 2003]. Объем гипоксической камеры составил 1,5 м³, концентрацию O₂ поддерживали на уровне 11,75—12,25%, концентрацию CO₂ поддерживали на уровне 0,03% системой «Био-нова-204G4R1» (НТО Био-нова, Россия, г. Москва). Давление O₂ и CO₂ внутри камеры постоянно контролировали датчиками TCOD-IR и OLC 20 (Oldham, Франция), через блок управления MX32 (Oldham, Франция).

Животным с ХННГ перед началом ишемии внутривенно вводили один из препаратов, представленных в таблице 1.

Таблица 1

Препараты, использованные в работе

Налтрексон	блокатор всех субтипов опиоидных рецепторов в дозе 5 мг/кг за 25 мин до ишемии [Takemori E. et al., 1992];
TIPP(ψ)	блокатор δ-OP в дозе 0,5 мг/кг за 25 мин до коронароокклюзии [Лишманов Ю.Б. и др., 2003];
BNTX	блокатор δ ₁ -OP в дозе 0,7 мг/кг за 25 минут до коронароокклюзии [Maslov L.N. et al., 2009];
Налтрибен	блокатор δ ₂ -OP в дозе 0,3 мг/кг за 25 минут до коронароокклюзии [Maslov L.N. et al., 2009];
СТАР	антагонист μ-OP, в дозе 0,1 мг/кг за 25 мин до ишемии [Лишманов Ю.Б. и др., 2003];
Норбиналторфимин	блокатор κ-OP в дозе 9 мг/кг за 90 мин до начала ишемии [Maslov L.N. et al., 2009];
Хелеритрина хлорид	блокатор протеинкиназы С в дозе 5 мг/кг за 25 мин до ишемии [Maslov L.N. et al., 2009];
L-NAME	ингибитор NO-синтаз в дозе 10 мг/кг за 25 мин до ишемии [Fryer R.M. et al., 2000],
S-метилтиомочевин сульфат	Блокатор iNO-синтазы в дозе 3 мг/кг внутрибрюшинно, за 25 мин до начала ишемии [Jiang X. et al., 2004];
Гинестеин	ингибитор тирозинкиназы использовали в дозе 5 мг/кг, за 25 мин до ишемии [Fryer R.M. et al., 1999, 2000];

Лавендустин	блокатор Src/EGFR-киназы применялся в дозе 1 мг/кг за 25 мин до ишемии [Hamakawa T. et al., 1999];
Вортманнин	блокатор PI3 киназы использовали в дозе 0,015 мг/кг за 45 мин до моделирования ишемии [Powis G. et al., 1994].

Подсчет эритроцитов производили по унифицированной методике в счетной камере Горяева [Меньшиков В.В. и др., 1987].

Ишемию миокарда (20 мин) моделировали путем перевязки левой коронарной артерии у животных, наркотизированных с помощью пентобарбитала натрия (60 мг/кг, внутривенно, Sanofi-Aventis, Франция) [Neckar J. et al, 2003] с последующей реперфузией, продолжительность которой составляла 180 мин. Во время выполнения процедуры крысы находились на искусственной вентиляции, которую осуществляли с помощью модифицированного аппарата “РО-6” (ОАО «Красногвардеец», Санкт-Петербург, Россия).

Измерение артериального давления осуществляли прямым методом путем канюлирования правой сонной артерии. Канюлю соединяли с датчиком давления SS13L (Biopac System Inc., Goleta, Калифорния, США) и перистальтическим насосом Minipuls Evolution (Gilson inc., Middleton, США) для постоянной подачи физиологического раствора и предотвращения тромбообразования в канюле. Регистрацию данных осуществляли с помощью аппарата для электрофизиологических исследований MP35 (Biopac System Inc., Goleta, США). Запись и обработку полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения INSTBSL-W компании Biopac System Inc., (Goleta, США).

Регистрацию ЭКГ in vivo осуществляли в первом (V1) и во втором грудном (V2) отведениях в течение всего периода ишемии и первого часа реперфузии с помощью аппарата для электрофизиологических исследований MP35 (Biopac System Inc., Goleta, США). Запись и обработку полученных данных осуществляли с помощью программного обеспечения INSTBSL-W компании Biopac System Inc., (Goleta, США).

При оценке нарушений ритма сердца принимали во внимание только желудочковые формы аритмий: множественные желудочковые экстрасистолы; желудочковая тахикардия, желудочковая фибрилляция.

После 20-минутной ишемии и 180-минутной реперфузии сердце выделяли и промывали физиологическим раствором через канюлированную аорту. Для определения размера зоны риска (ЗР, зона гипоперфузии) осуществляли окраску сердца насыщенным раствором перманганата калия, перфузируя миокард через канюлированную аорту, правый желудочек удаляли. Срезы сердец толщиной в 1 мм производили перпендикулярно их продольной оси [Neckar J. et al, 2003]. Для определения зоны некроза (ЗН)

срезы окрашивали 1% раствором 2,3,5-трифенил тетразолия хлорида (30 минут, 37°C) и помещали в 10% раствор формальдегида на 1 сутки. На следующий день после окрашивания срезы сканировали с обеих сторон (сканер HP Scanjet G2710), используя оригинальную прикладную программу. Зону риска и размер некроза определяли компьютеризированным планиметрическим методом. Величина очага инфаркта была выражена в процентах от зоны гипоперфузии.

Исследование содержания опиоидных пептидов: мет-энкефалина, β -эндорфина, эндоморфина-1 и эндоморфина-2 проводили спектрофотометрическим методом EIA-наборами фирмы Бахем (Bachem, Peninsula Laboratories, LLC, San Carlos, CA, USA).

Экстракцию опиоидных пептидов из крови и ткани миокарда проводили в соответствии с рекомендациями фирмы-изготовителя к наборам на селективных колонках SEP-COLUMN, содержащих сорбент C18 фирмы Бахем (Bachem, Peninsula Laboratories, LLC, San Carlos, CA, USA).

Кровь и ткань миокарда забирали непосредственно после окончания ишемии-реперфузии.

Статистическую обработку результатов производили с помощью критериев χ^2 и Манна-Уитни.

В таблице 2. представлено распределение животных по сериям экспериментов.

Таблица 2

Распределение животных по сериям экспериментов

№	Серия	Число наблюдений
1	Интактные животные	10
2	Контрольные животные, острая коронароокклюзия-реперфузия	280
3	ХННГ	10
4	ХННГ, острая коронароокклюзия-реперфузия	210
5	Блокада опиоидных рецепторов налтрексоном, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
6	ХННГ, блокада опиоидных рецепторов налтрексоном, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
7	Блокада δ -опиоидных рецепторов TIPP(ψ), острая коронароокклюзия-реперфузия	12
8	ХННГ, блокада δ -опиоидных рецепторов TIPP(ψ), острая коронароокклюзия-реперфузия	12
9	Блокада δ_1 -опиоидных рецепторов BNTX, острая коронароокклюзия-реперфузия	11
10	ХННГ, блокада δ_1 -опиоидных рецепторов BNTX, острая коронароокклюзия-реперфузия	11
11	Блокада δ_2 -опиоидных рецепторов налтрибеном, острая коронароокклюзия-реперфузия	11
12	ХННГ, блокада δ_2 -опиоидных рецепторов налтрибеном, острая коронароокклюзия-реперфузия	11
13	Блокада μ -опиоидных рецепторов СТАР, острая коронароокклюзия-реперфузия	12

14	ХННГ, блокада μ -опиоидных рецепторов СТАР, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
15	Блокада κ -опиоидных рецепторов норбиналторфимином, острая коронароокклюзия-реперфузия	14
16	ХННГ, блокада κ -опиоидных рецепторов норбиналторфимин, острая коронароокклюзия-реперфузия	14
17	Блокада Src/EGFR-киназы лавендустином, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
18	ХННГ, блокада Src/EGFR-киназы лавендустином, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
19	Блокада PI3-киназы вортманнином, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
20	ХННГ, блокада PI3 киназы вортманнином, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
21	Блокада протеинкиназы C хелеритрином, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
22	ХННГ, блокада протеинкиназы C хелеритрином, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
23	Блокада тирозинкиназ генистеином, острая коронароокклюзия-реперфузия	11
24	ХННГ, блокада тирозинкиназ генистеином, острая коронароокклюзия-реперфузия	11
25	Блокада NO-синтаз L-NAME, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
26	ХННГ, блокада NO-синтаз L-NAME, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
27	Блокада iNOS синтазы S-метилтиомочевины сульфатом, острая коронароокклюзия-реперфузия	12
28	ХННГ, блокада iNOS синтазы S-метилтиомочевины сульфатом, острая коронароокклюзия-реперфузия	12

Примечание: ХННГ - хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия. Всего было проведено 28 серий экспериментов и использовано 798 животных. Большие выборки наблюдений в 2 и 4 экспериментальных группах связаны с набором нормоксического контроля и групп крыс с гипоксией каждый сезон, что было предпринято для избегания ошибок, связанных с сезонными колебаниями параметров.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Исследования некоторых показателей периферической крови

Проведенные исследования показали, что у животных, подвергшихся непрерывной нормобарической гипоксии, достоверно увеличивается количество эритроцитов с 4,87 млн/мл до 7,09 млн/мл и концентрация гемоглобина со 150 г/л до 229 г/л (Табл. 3).

Таким образом, полученные данные по показателям периферической крови подтверждают, что изменения гематокрита, повышение уровня гемоглобина и содержания эритроцитов так же характерно для животных в состоянии адаптации к гипоксии [Neckar J., et al., 2003].

Показатели периферической крови у крыс, подвергнутых ХННГ
(M ± SEM)

	Гемоглобин, г/л	Эритроциты (млн/мл)	Гематокрит
Контроль, n=17	150,22 ± 12,86	4,87 ± 0,61	0,4 ± 0,02
Адаптация к гипоксии, n=14	229,18 ± 40,63 P=0,0016	7,09 ± 0,88 P=0,000005	0,62 ± 0,03 P=0,0005

Примечание: p – уровень достоверности относительно нормоксических крыс, ХННГ - хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия.

Исследование содержания уровня опиоидных пептидов в плазме крови и ткани миокарда

У крыс, подвергнутых хронической непрерывной нормобарической гипоксии, наблюдалось достоверное увеличение уровня мет-энкефалина в плазме. При воздействии ишемии/реперфузии достоверно уменьшался уровень мет-энкефалина в плазме крови нормоксических крыс и в ткани миокарда. Во время ишемии/реперфузии сердца у животных с ХННГ уровень мет-энкефалина в плазме крови, напротив, достоверно повышался, а в ткани миокарда наблюдалось умеренное снижение по сравнению с исходными значениями у животных с ХННГ (табл. 4).

Уровень β-эндорфина в плазме крови нормоксических животных во время ишемии/реперфузии сердца достоверно уменьшался в плазме крови и в ткани миокарда. Во время ишемии/реперфузии сердца у животных с ХННГ уровень β-эндорфина в плазме крови был достоверно выше, чем в аналогичной группе нормоксических животных, в ткани миокарда также наблюдалось достоверное увеличение уровня β-эндорфина по сравнению с контролем ХННГ (табл. 4).

Уровень эндоморфина-1 в плазме крови и ткани миокарда нормоксических животных во время ишемии/реперфузии не изменялся. У крыс подвергнутых хронической непрерывной нормобарической гипоксии наблюдался достоверный подъём уровня эндоморфина-1 в плазме крови по сравнению с нормоксическими животными, в ткани миокарда рост уровня эндоморфина-1 не наблюдался. Во время ишемии/реперфузии сердца у животных с ХННГ уровень эндоморфина-1 в плазме крови достоверно повышался, в ткани миокарда значительных изменений не наблюдалось (табл. 4).

Уровень эндоморфина-2 в плазме крови нормоксических животных во время ишемии/реперфузии сердца достоверно снижался, в то время как в ткани миокарда значительных изменений не наблюдалось. У крыс, подвергнутых хронической непрерывной нормобарической гипоксии, наблюдался достоверный подъём уровня эндоморфина-2 в плазме крови. В ткани миокарда крыс с ХННГ уровень эндоморфина-2 достоверно повышался по сравнению с интактными животными. Во время ишемии/реперфузии

сердца у гипоксических животных уровень эндоморфина-2 в плазме крови достоверно повышался относительно аналогичной группы нормоксического контроля. В ткани миокарда наблюдался достоверный рост уровня эндоморфина-2 (табл. 4).

Таким образом, есть основания полагать, что опиоидные пептиды (мет-энкефалин, β -эндорфин, эндоморфин-1, эндоморфин-2) могут принимать участие в реализации инфаркт-лимитирующего эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Таблица 4

Содержание опиоидных пептидов в плазме крови и ткани миокарда крыс, подвергнутых ХННГ при коронароокклюзии-реперфузии ($M \pm SEM$)

Показатель	Нормоксия	Нормоксия Ишемия- реперфузия	ХННГ	ХННГ + ишемия- реперфузия
<u>Мет-энкефалин</u>				
Плазма крови, пг/мл	527,08 \pm 29,32	436,39 \pm 34,15 p1<0,02	702,9 \pm 42,28 p1<0,01	898,79 \pm 83,24 p2<0,01 p3<0,01
Миокард, пг/мг	10,42 \pm 2,8	1,59 \pm 0,14 p1<0,01	19,99 \pm 2,92 p1<0,01	18,54 \pm 3,39 p3<0,01
<u>β-эндорфин</u>				
Плазма крови, пг/мл	994,33 \pm 39,7	758,51 \pm 88,16 p1<0,05	1044,39 \pm 43,16	1061,06 \pm 78,15 p3<0,02
Миокард, пг/мг	0,58 \pm 0,06	0,18 \pm 0,02 p1<0,01	0,64 \pm 0,065	1,05 \pm 0,082 p2<0,01 p3<0,01
<u>Эндоморфин-1</u>				
Плазма крови, пг/мл	4,87 \pm 0,42	4,53 \pm 0,53	7,49 \pm 0,24 p1<0,01	13,6 \pm 1,94 p2<0,01 p3<0,01
Миокард, пг/мг	0,0048 \pm 0,00034	0,0041 \pm 0,00017	0,046 \pm 0,0077	0,037 \pm 0,0061
<u>Эндоморфин-2</u>				
Плазма крови, пг/мл	11,43 \pm 0,96	6,87 \pm 0,73 p1<0,01	15,04 \pm 1,14 p1<0,01	20,6 \pm 2,41 p2<0,01 p3<0,01
Миокард, пг/мг	0,022 \pm 0,0015	0,015 \pm 0,0067	0,258 \pm 0,036 p1<0,001	0,464 \pm 0,0439 p2<0,01 p3<0,01

Примечание: p1 – уровень достоверности по отношению к группе нормоксических крыс, p2 – уровень достоверности по отношению к группе крыс с ХННГ, p3 – уровень достоверности по отношению к группе с ишемией-реперфузией у нормоксических особей. Количество наблюдений в каждой группе n=10.

Исследования показателей гемодинамики, таких как частота сердечных сокращений и артериальное давление не выявили достоверных различий между группами. Оказалось, что в условиях хронической непрерывной нормобарической гипоксии измеряемые параметры гемодинамики не изменяются.

Влияния хронической непрерывной нормобарической гипоксии на частоту и характер нарушений сердечного ритма при коронароокклюзии и реперфузии выявлено не было.

Кардиопротекторный эффект ХННГ

Острая коронароокклюзия и последующая реперфузия во всех сериях экспериментов вызвала образование зоны гипоперфузии размером 37,3-45,4% от массы левого желудочка без достоверных различий между группами. Сходная величина зоны риска указывает на воспроизводимость результатов и отсутствие изменения коллатерального кровотока под влиянием ХННГ и препаратов.

Исследования показали, что зона некроза у крыс, подвергнутых ХННГ, составляла от 16,6 до 20,4% от зоны риска, что достоверно ($p < 0,01$) отличалось от показателей соответствующих контрольных групп. Следовательно, при воздействии ХННГ соотношение зоны некроза к зоне риска уменьшалось на 36% по отношению к контролю. Эти результаты свидетельствуют о том, что хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия оказывает выраженный кардиопротекторный эффект.

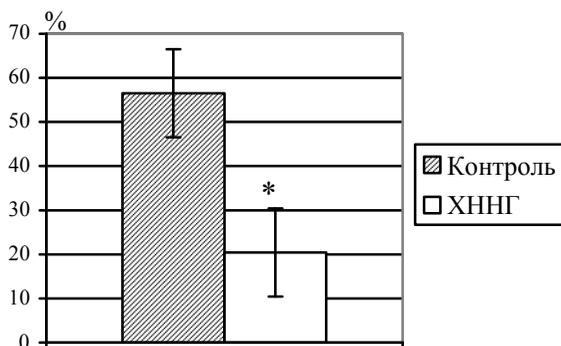


Рисунок 1. Влияние ХННГ на размер зоны некроза при 20-минутной коронароокклюзии и 180-минутной реперфузии у крыс ($M \pm SEM$). Примечание: * $p < 0,01$ - достоверность относительно группы нормоксических крыс.

ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия.

Изучение роли опиоидных рецепторов в реализации
кардиопротекторного эффекта ХННГ

Блокада опиоидных рецепторов (ОР) неселективным антагонистом налтрексом у гипоксических крыс приводила к увеличению индекса зона некроза/зона риска (ЗН/ЗР), что оказалось идентично показателю нормоксической контрольной группы (рис 2). Следовательно, блокада всех типов ОР устраняет кардиопротекторный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии. Как видно из рисунка 2, блокада δ -ОР селективным антагонистом ТИРР(ψ) приводила к увеличению соотношения ЗН/ЗР более чем на 30% по отношению к таковым показателям группы контрольных животных с ХННГ. В результате, соотношение ЗН/ЗР оказалась равной таковой в контрольной нормоксической группе. Эти данные свидетельствуют о том, что δ -ОР принимают участие в формировании кардиопротекторного эффекта ХННГ.

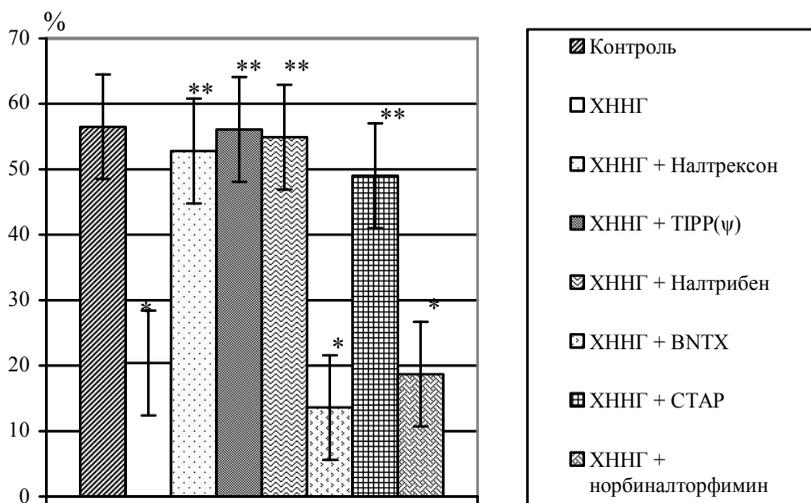


Рисунок 2 Влияние блокады опиоидных рецепторов на размер зоны некроза при 20-минутной коронароокклюзии и 180-минутной реперфузии у крыс после курса ХННГ.

Примечание: ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия.

* $p < 0,01$ - достоверность относительно группы нормоксических крыс,

** $p < 0,01$ - достоверность относительно группы крыс после курса ХННГ

Дельта-ОР подразделяются на два субтипа: δ_1 -ОР и δ_2 -ОР. Оказалось, что на фоне блокады δ_1 -ОР селективным антагонистом BNTX, размер зоны некроза относительно показаний контрольных животных с ХННГ не изменялся, то

есть защитный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии сохранялся. В то время как «выключение» δ_2 -ОР селективным блокатором этого субтипа ОР налтрибеном приводило к увеличению соотношения ЗН/ЗР с 20,4% у животных с ХННГ до 54,9%, этот показатель не имел достоверных отличий от группы нормоксического контроля (рис. 2). Полученные данные свидетельствуют о том, что в реализации кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии важную роль играют δ_2 -, но не δ_1 -ОР. Предварительная блокада μ -ОР селективным блокатором СТАР приводила к увеличению соотношения ЗН/ЗР на 28%, что также указывало на устранение кардиопротекторного эффекта ХННГ (рис. 2). Этот факт говорит о том, что μ -ОР также участвуют в адаптационной устойчивости сердца к ишемии и реперфузии. Предварительное введение антагониста κ -ОР норбиналторфимина не изменяло соотношения ЗН/ЗР у гипоксических особей. Следовательно, κ -ОР не принимают участия в реализации кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии (рис. 2).

Выяснение роли опиоидной системы в реализации кардиопротекторного эффекта ХННГ показало, что блокада ОР полностью устраняла кардиопротекторный эффект. Этот факт доказывает наше предположение об участии эндогенной опиоидной системы в формировании повышенной устойчивости миокарда к ишемии/реперфузии у животных, прошедших курс предварительного воздействия хронической гипоксии. Опиоидная система была названа в числе стресс-лимитирующих систем, опосредующих адаптивные реакции, еще в 80-е годы профессором Ф.З. Меерсоном [Меерсон Ф.З., 1986]. С тех пор проведено множество работ, доказывающих участие тех или иных субтипов опиоидных рецепторов в формировании кардиотропных эффектов краткосрочной или долговременной адаптации. Так, например, обнаружено участие ОР в кардиопротекторном эффекте ишемического пре- и посткондиционирования [Schultz J.E.J. et al., 1998, Guo H.T. et al., 2011], антиаритмическом эффекте высокогорной гипоксии или стресса [Нарыжная Н.В. и др., 2011], защитном эффекте растительных адаптогенов [Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н., 1994]. При этом показано, что при различных видах неспецифических адаптирующих воздействий защитный эффект опосредуется активацией различных типов ОР. При ишемическом преко́ндиционировании это δ_1 -ОР [Schultz J.E.J., 1998], антиаритмический эффект при воздействии периодической гипобарической гипоксии опосредуется через δ -ОР, а при стрессе – через μ -ОР [Нарыжная Н.В. и др., 2011]. Вместе с тем вопрос о рецепторной специфичности участия опиоидной системы в кардиопротекторном эффекте нормобарической гипоксии оставался открытым. В последующих экспериментах мы провели исследование роли различных субтипов ОР в реализации кардиопротекторного эффекта ХННГ путем поочередного ингибирования различных типов ОР селективными антагонистами. Данные о полном

устранении инфаркт-лимитирующего эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии при селективной блокаде δ -ОР свидетельствуют о ключевой роли этого рецепторного пула в реализации вышеуказанного эффекта. Однако дальнейшие эксперименты показали, что селективная блокада δ_2 -ОР, но не δ_1 -ОР приводит к исчезновению кардиопротекторного эффекта.

Данные об устранении кардиопротекторного эффекта хронической нормобарической гипоксии при селективной блокаде μ -ОР являются аргументом в пользу значимой роли этого пула опиоидных рецепторов в реализации кардиопротекторного эффекта. Эти результаты выглядят логичными, если принять во внимание тот факт, что эндогенные энкефалины и β -эндорфин обладают высоким сродством как к μ -ОР, так и к δ -ОР [Dhawan B.N. et al., 1996].

Информация, полученная в ходе экспериментов с блокадой κ -ОР у гипоксических крыс, говорит о том, что в механизме развития кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии κ -ОР участия не принимают. Вместе с тем, в литературе есть данные об участии κ -ОР в механизмах защитного эффекта ишемического пре- и посткондиционирования [Valtchanova-Matchouganska A. et al., 2003; Guo H.T. et al. 2011].

Резюмируя результаты исследования рецепторной специфичности участия опиоидной системы в защитном эффекте ХННГ от ишемического/реперфузионного повреждения, следует отметить, что и при пре- и посткондиционировании опиоидная система играет важную роль в адаптационной защите миокарда, но ее эффекты реализуются через иные субтипы ОР. Это представляется возможным, если принять во внимание тот факт, что к настоящему времени неизвестны селективные эндогенные агонисты δ_1 - или δ_2 -ОР. Эндогенные опиоидные пептиды лей- и мет-энкефалины обладают сродством как к δ_1 - или δ_2 -ОР, так и к μ -ОР, поэтому защитные эффекты эндогенных опиоидов могут быть реализованы через любой из этих субтипов ОР. Мы можем предполагать, что наряду с неспецифическим увеличением уровня эндогенных опиоидов может происходить специфическое для каждого адаптирующего воздействия изменение рецепторного аппарата кардиомиоцитов, происходящее в различных ситуациях по отличающимся «сценариям».

Изучение внутриклеточных сигнальных механизмов кардиопротекторного эффекта хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

При исследовании роли NO-синтазы в кардиопротекторном эффекте ХННГ было обнаружено, что введение ингибитора этого фермента, блокирующего все типы NO-синтазы L-NAME, сопровождалось значительным увеличением размера зоны некроза по сравнению с

контрольными гипоксическими животными (рис. 3). При этом значение ЗН/ЗР оказалось на уровне крыс группы нормоксического контроля.

Таким образом, мы получили результаты, подтверждающие важную роль NO-синтазы в защитном действии хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

Между тем, известно, что NO-синтаза представлена в сердце несколькими изоформами и их участие в адапционных процессах остается предметом исследования [Зенков Н.К. и др., 2001]. Так, ранее было обнаружено, что при моделировании неспецифической устойчивости миокарда путем ишемического прекондиционирования возрастает экспрессия гена индуцибельной формы NO-синтазы [Bencsik P. et al. 2010]. Другими авторами сообщается о важной роли эндотелиальной формы NO-синтазы в прекондиционировании [Bell R.M. et al., 2001].

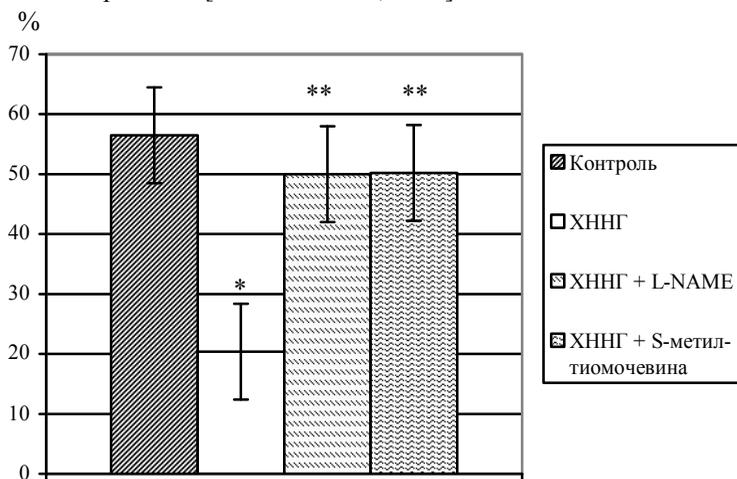


Рисунок 3. Влияние блокады NO синтазы на размер зоны некроза при 20-минутной коронароокклюзии и 180-минутной реперфузии у крыс после курса ХННГ.

Примечание: ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия.

* $p < 0,01$ - достоверность относительно группы нормоксических крыс,

** $p < 0,01$ - достоверность относительно группы крыс после курса ХННГ

Предварительное введение селективного ингибитора индуцибельной формы NO-синтазы (iNO-синтаза) S-метилмочевины сопровождалось значительным (в 3 раза) увеличением размера зоны некроза по сравнению с гипоксическим контролем (рис. 3). При этом значение ЗН/ЗР оказалось на уровне крыс группы нормоксического контроля.

Таким образом, наши исследования показали, что на фоне ингибирования iNO-синтазы кардиопротекторный эффект хронической нормобарической гипоксии не проявляется (рис. 3). Эти данные свидетельствуют о важной роли iNO-синтазы в защитном эффекте ХННГ. Роль эндотелиальной NO-синтазы остается неизученной. Группа аргентинских авторов под руководством проф. Т. Zaobornyj [Gonzales G.F. et al., 2005] не обнаружила в цитоплазме кардиомиоцитов, подвергнутых хронической гипоксии крыс, увеличения содержания эндотелиальной NO-синтазы, в то время как представительство индуцибельной NO-синтазы значительно возросло по сравнению с нормоксическими животными. Влияние NO-синтазы на повреждение кардиомиоцитов при ишемии может опосредоваться через активацию оксидом азота митохондриальных АТФ-чувствительных K^+ -каналов, как это показано для гипобарической гипоксии [Fitzpatrick C.M. et al. 2005].

Ингибирование протеинкиназы С (ПКС) хелеритрином приводило к увеличению зоны некроза у крыс с ХННГ до уровня нормоксических животных (рис. 4).

На основании полученных данных мы можем сделать вывод о том, что кардиопротекторный эффект хронической нормобарической гипоксии не проявляется на фоне блокады протеинкиназы С. Эти данные согласуются с данными литературы об участии этого фермента в формировании кардиопротекции при других неспецифических адаптивных воздействиях: гипобарической гипоксии, ишемическом и фармакологическом preconditionировании [Neckar J. et al., M 2005, Fryer R.M. et al., 1999, 2001]. На наш взгляд, протеинкиназа С играет роль ключевого фактора в формировании резистентности миокарда к ишемии-реперфузии, поскольку показана ее важная роль в кардиопротекции при большинстве видов адаптирующих воздействий [Kolar F., et al., 2004; Ping P. et al., 1999; Fryer R.M. et al. 1999]. Активация этого фермента приводит к фосфорилированию огромного количества внутриклеточных белков [Dempsey E.C. et al., 2000]. Анализ данных литературы позволяет выделить несколько мишеней ПКС, которые участвуют в формировании адаптивной реакции сердца в ответ гипоксию. Это, прежде всего, АТФ-зависимые K^+ -каналы ($K_{\text{АТФ}}$ -каналы) [Fryer R.M. et al., 2001], а также тирозинкиназы [Baines C.P. et al., 1998]. Одним из наиболее важных эффектов ПКС является ее способность транслоцироваться в митохондрии и запускать регуляторный каскад, приводящий к активации митохондриальных АТФ-чувствительных K^+ -каналов (мито $K_{\text{АТФ}}$ -каналов) [Cohen M.V. et al., 2007; Costa A.D. et al., 2006; Penna C. et al., 2006; 2007; Uecker M. et al., 2003] и ингибированию открытия МРТ-пор (mPTP, МРТ-пора – mitochondrial permeability transition pore – митохондриальные поры переменной проницаемости) [Cohen M.V. et al., 2007; Costa A.D. et al., 2006; Penna C. et al., 2006; 2007].

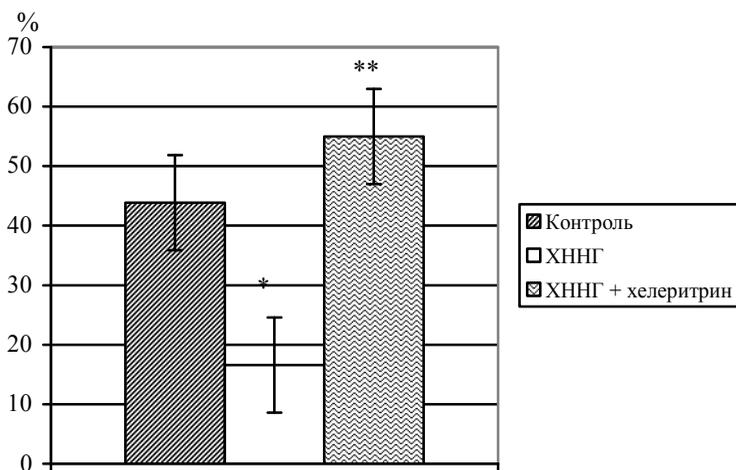


Рисунок 4. Влияние блокады протеинкиназы С на размер зоны некроза при 20-минутной коронароокклюзии и 180-минутной реперфузии у крыс после курса ХННГ.

Примечание: ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия.

* $p < 0,01$ - достоверность относительно группы нормоксических крыс,

** $p < 0,01$ - достоверность относительно группы крыс после курса ХННГ

О важной роли этого сигнального механизма в адаптационной кардиопротекции свидетельствуют публикации об устранении кардиопротекторного и антиаритмического эффектов гипоксии после блокады K_{ATP} -каналов [Нарыжная Н.В. и др., 2009, Baker J.E. et al., 1997] или при активации МРТ-пор у гипоксических крыс [Zhu W.-Zh et al., 2006].

Сходный эффект был обнаружен при ингибировании тирозинкиназ генистеином – размер зоны некроза в этой экспериментальной группе оказался на 70% больше, чем в группе гипоксических крыс с незаблокированными тирозинкиназами (рис. 5). Однако, при введении ингибитора тирозинкиназ лавендустина, блокирующего только Src и EGFR (Src – Src-киназы, EGFR – epidermal growth factor receptor) [Williams-Pritchard G. et al., 2011, Ping P. et al., 1999], мы не обнаружили какого-либо влияния на размер зоны некроза у крыс с ХННГ. Аналогичные результаты мы получили при ингибировании PI3-киназы ее селективным блокатором вортманнином (рис. 5).

Если роль K_{ATP} -каналов в адаптации к нормобарической гипоксии известна [Baker J.E. et al., 1997], то роль тирозинкиназ оставалась не исследованной. Наши последующие эксперименты были направлены на выявление роли тирозинкиназ и их субтипов в формировании

кардиопротекции при хронической нормобарической гипоксии. Они показали, что при моделировании коронароокклюзии и реперфузии у гипоксических крыс на фоне ингибирования всех типов тирозинкиназ генистеином, кардиопротекторный эффект ХННГ не проявлялся (рис. 5). Это свидетельствует о важной роли этой группы киназ в защитном эффекте данного вида гипоксии. Вместе с тем известно, что семейство тирозинкиназ представлено в клетке более чем 1000 ферментами [Neet K. et al., 1996]. По результатам исследований [Ping P, et al., 1999 и Williams-Pritchard G. et al. 2011], в опосредовании кардиопротекторного эффекта ишемического и фармакологического preconditionирования играют важную роль Src-киназы и EGFR-тирозинкиназы [Williams-Pritchard G., 2011, Ping P, 1999]. Однако эксперименты, проведенные нами с антагонистом Src/EGFR-субпопуляции тирозинкиназ лавендустином, не показали значимой роли этого фермента в опосредовании кардиопротекции при хронической нормобарической гипоксии. Эти результаты показывают, что в защитном действии как ХННГ, так и агонистов δ -ОР принимают участие другие субтипы тирозинкиназ. Возможно, что в качестве сигнальных киназ в этих случаях выступают Lsk – тирозин-киназы [Fryer R.M. et al., 2001].

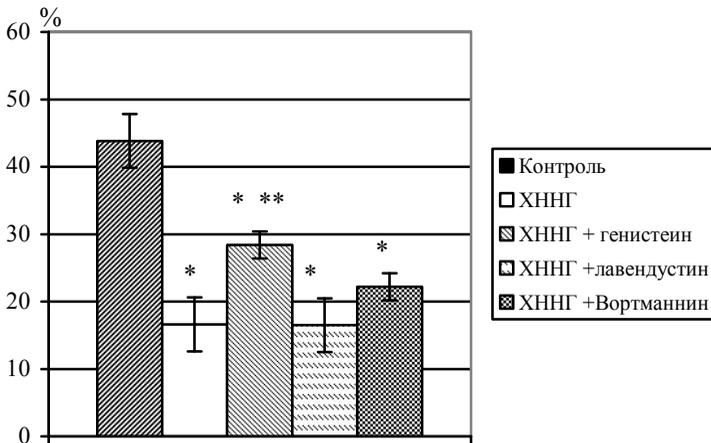


Рисунок 5. Влияние блокады тирозинкиназ и PI3-киназы на размер зоны некроза при 20-минутной коронароокклюзии и 180-минутной реперфузии у крыс после курса ХННГ.

Примечание: ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия.

* $p < 0,01$ - достоверность относительно группы нормоксических крыс,

** $p < 0,01$ - достоверность относительно группы крыс после курса ХННГ

Таким образом, на основании проведенных исследований мы можем говорить о важности опиоидной системы в защитном эффекте адаптации к хронической непрерывной нормобарической гипоксии. Поскольку у крыс, подвергнутых воздействию хронической непрерывной нормобарической гипоксии, содержание опиоидных пептидов в плазме крови и ткани миокарда значительно повышалось, а при ингибировании ОР кардиопротекторный эффект не развивался. В свою очередь, внутриклеточный механизм реализовывался через протеинкиназу С, индуцибельную форму NO-синтазы и тирозинкиназы (Рис. 6).

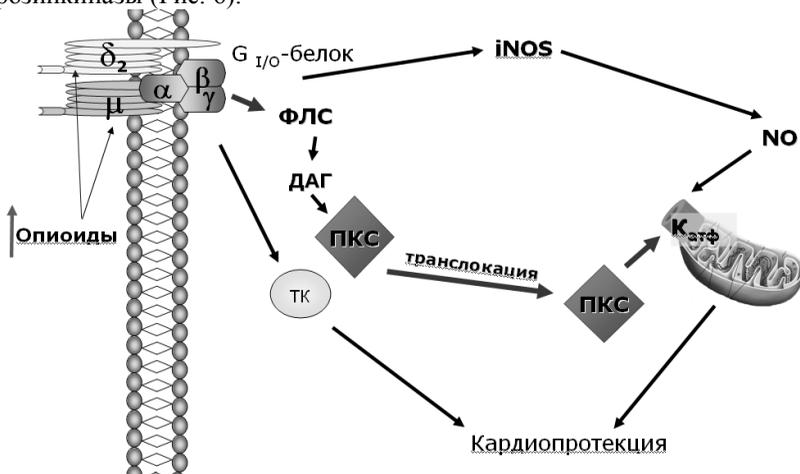


Рисунок 6. Гипотетическая схема участия опиоидных рецепторов и внутриклеточных сигнальных каскадов в механизме кардиопротекторного эффекта ХННГ.

Примечание: ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия. **PL-C** – фосфолипаза С; **PK-C** – протеинкиназа С; **TK** - тирозинкиназа; K_{ATP}^+ – K_{ATP} -канал; **MPTP** – поры переменной проницаемости митохондрий; **NOS** – NO-синтаза.

ВЫВОДЫ

1. Хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия приводит к увеличению концентрации опиоидных пептидов (мет-энкефалин, β -эндорфин, эндоморфин-1, эндоморфин-2) в плазме крови и в ткани миокарда.
2. Повышение толерантности сердца к действию ишемии и реперфузии у крыс, подвергнутых хронической непрерывной нормобарической гипоксии, осуществляется через δ_2 - и μ -опиоидные рецепторы.
3. Кардиопротекторный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии реализуется через активацию протеинкиназы С.

4. Кардиопротекторный эффект к действию ишемии-реперфузии в условиях хронической непрерывной нормобарической гипоксии зависит от активности тирозинкиназы.

5. Киназа PI3 не участвует в кардиопротекторном эффекте хронической непрерывной нормобарической гипоксии.

6. Кардиопротекторный эффект хронической непрерывной нормобарической гипоксии реализуется с участием индуцибельной формы NO-синтазы.

СПИСОК РАБОТ ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Ласукова Т.В. Внутриклеточные механизмы опиоидергической регуляции функции миокарда в условиях нормоксии и постischemической реперфузии./ Ласукова Т.В., Маслов Л.Н., Горбунов А.С., Цибульников С.Ю.// **Росс. физиол. журн.**- 2009.- Т. 95, № 4.- С. 376-386.

2. Маслов Л.Н. Значение опиоидных рецепторов в регуляции толерантности сердца к патогенному действию длительной ишемии-реперфузии in vivo. / Маслов Л.Н., Барзах Е.И., Крылатов А.В., Браун С.А., Олтджен П.Р., Говиндасвами М, Чернышева Г.А., Соленкова Н.В., Лишманов А.Ю., Цибульников С. Ю., Криг Т., Жанг Е. // **Росс. физиол. журн.**- 2009.- Т.95.- №6, С.563-572.

3. Ласукова Т.В. Роль внутриклеточного кальция и циклических нуклеотидов в реализации кардиопротекторного действия агонистов δ_1 - и κ_1 -опиоидных рецепторов. / Ласукова Т.В., Маслов Л.Н., Низколубова С.В., Горбунов А.С., Цибульников С.Ю. // **Бюлл. exper. биол. мед.**- 2009.- Т.147.- №.12.- С.636-639.

4. Маслов Л.Н. Опиоидный пептид дельторфин II имитирует кардиопротекторный эффект ишемического прекодиционирования: роль δ -опиоидных рецепторов, протеинкиназы С, Ca^{2+} -каналов. / Маслов Л.Н., Барзах Е.И., Крылатов А.В., Чернышева Г.А., Криг Т., Соленкова Н.В., Лишманов А.Ю., Цибульников С.Ю., Жанг Е. // **Бюлл. exper. биол. мед.**- 2010.- Т.149.- № 5, С.524-527.

5. Цибульников С.Ю. Антиаритмические эффекты адаптации к гипоксии и стрессу реализуются через различные типы опиоидных рецепторов. Тезисы докладов XIV Всероссийская с международным участием конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Наука и образование» 19-23 апреля Томск2010г.

6. Цибульников С.Ю. Роль опиоидных рецепторов в формировании кардиопротекторного эффекта адаптации к хронической нормобарической гипоксии. Тезисы докладов Первой Международной Научно-Практической конференции «Высокие технологии, фундаментальные и прикладные исследования в физиологии и медицине» 23-26. ноября 2010, Санкт-Петербург, с. 339-340.

7. Маслов Л.Н. Роль опиоидных рецепторов и связанных с ними внутриклеточных сигнальных каскадов в регуляции устойчивости сердца к действию ишемии и реперфузии. / Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю., Горбунов А.С., Ласукова Т.В. // Российский национальный конгресс кардиологов 11 – 13 Октября 2011. Москва. Тезисы докл. Кардиоваскулярная терапия и профилактика. 2011; 10 (6): Приложение 1: 200-201.

8. Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю., Горбунов А.С. (г. Томск) Исследование функционального состояния МПТ-поры и трансмембранного потенциала митохондрий миокарда при ишемии и реперфузии у крыс, адаптированных к хронической нормобарической гипоксии. Тезисы докладов 6 Российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» 11-13 октября 2011 года, г. Москва, Патогенез №3, 2011. с.50

9. Цибульников С.Ю. Исследование рецепторной природы опиоидного компонента кардиопротекторного эффекта адаптации к хронической нормобарической гипоксии. Тезисы докладов 6 Российской конференции с международным участием «Гипоксия: механизмы, адаптация, коррекция» 11-13 октября 2011 года, г. Москва, Патогенез №3, 2011. с.69.

10. Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю., Маслов Л.Н. Опиоидные рецепторы и сопряженные сигнальные механизмы кардиопротекции при хронической нормобарической

гипоксии. Сборник статей Физиомеди 3-1 «Высокие технологии, исследования, образование в физиологии, медицине и фармакологии». Том 1. Под редакцией А.П. Кудинова, Б.В. Крылова. САНКТ-ПЕТЕРБУРГ 2012. С. 207-210.

11. Маслов Л.Н. Взаимодействие опиоидных рецепторов и внутриклеточных сигнальных систем в регуляции устойчивости сердца к действию ишемии и реперфузии. / Маслов Л.Н., Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю., Горбунов А.С., Ласукова Т.В. // Физиологии кровообращения. V Всероссийская с международным участием школа-конференция. 31 января – 3 февраля 2012. Сборник тезисов. Москва, 2012, 102-103.

12. Маслов Л.Н. Вазопротекторный эффект классического ишемического preconditionирования. / Маслов Л.Н., Крылатов А.В., Горбунов А.С., Цибульников С.Ю., Семенов А.С. // **Сиб. мед. жур. (Томск)**.- 2012.- Т. 27.- №1, С.9-17.2

13. Лишманов Ю.Б. Роль μ -, δ - и κ -опиоидных рецепторов в формировании кардиопротекторного эффекта адаптации к хронической нормобарической гипоксии. / Лишманов Ю.Б., Нарыжная Н.В., Цибульников С.Ю., Маслов Л.Н., Колар Ф., Жанг И. // **Сиб. мед. жур. (Томск)**.- 2012.- Т. 27.- №1, С.111-114.1

14. Цибульников С.Ю. Сигнальные механизмы кардиопротекции при хронической нормобарической гипоксии. Тезисы докл. VII Сибирского физиологического съезда, г. Красноярск, 27-29 июня 2012 г.

15. Маслов Л.Н. Триггерный механизм адаптивного феномена ишемического посткондиционирования сердца. / Маслов Л.Н., Мрочек А.Г., Барзах Е.И., Лишманов А.Ю., Горбунов А.С., Цибульников С.Ю., Семенов А.С., Прокудина Е.С. // **Росс. физиол. жур.**- 2012.- Т.98.- №9, С.1053-1069.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

ОИМ - острый инфаркт миокарда

ХННГ – хроническая непрерывная нормобарическая гипоксия

ЗР - зона гипоперфузии (зона риска)

ОП - опиоидные пептиды

ЗН/ЗР - зона некроза/зона риска

ОР – опиоидные рецепторы

миток_{АТФ}-каналы - АТФ-чувствительные K^+ -каналы

К_{АТФ}-каналы - АТФ-зависимые K^+ -каналы

АТФ – аденозинтрифосфат

mPTP, MPT-пора – mitochondrial permeability transition pore – митохондриальные поры переменной проницаемости

PI3-киназа – phosphatidylinositol-3-киназа

ЧСС - частота сердечных сокращений

iNO-синтаза - индуцибельная NO-синтаза

ПКС – протеинкиназа С