

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ
ТОМСКОГО НАУЧНОГО ЦЕНТРА СО РАМН

На правах рукописи

УГДЫЖЕКОВА
Дина Степановна

РОЛЬ ЦЕНТРАЛЬНЫХ И ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ
В РЕГУЛЯЦИИ ЕСТЕСТВЕННОЙ УСТОЙЧИВОСТИ СЕРДЦА
К АРИТМОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Специальность: 14.00.17 - нормальная физиология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

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

Научный консультант:
доктор медицинских наук
Маслов Л.И.

Томск – 1998

ОГЛАВЛЕНИЕ

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ.....	5
ВВЕДЕНИЕ.....	6
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ.....	15
1.1. Электрофизиологические механизмы нарушений ритмической деятельности сердца.....	15
1.2. Роль вегетативной нервной системы в процессах регуляции естественной резистентности миокарда к действию аритмогенных факторов.....	20
1.3. Изменение электролитного баланса и устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям.....	27
1.4. Роль ионизированного кальция в механизмах регуляции сердечного ритма.....	30
1.2. Кардиотропное действие лигандов опиатных рецепторов.....	33
1.2.1. Кардиоваскулярные эффекты опиоидных пептидов...	33
1.2.2. Опиатные рецепторы и устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям.....	38
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	43
2.1. Адреналовые и хлоридкальциевые модели аритмий.....	46
2.2. Регистрация и оценка нарушений ритма сердца у крыс.....	46
2.3. Метод интрацеребровентрикулярного введения препаратов.....	47
2.4. Характеристика использованных в работе лигандов опиатных рецепторов.....	48
2.5. Методы фармакологического изучения роли вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических или проаритмогенных эффектов лигандов опиатных рецепторов.....	
2.6. Статистическая обработка.....	52

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

- 3.1. Роль периферических опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям
- 3.1.1. Резистентность сердца к аритмогенным воздействиям на фоне стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов.....
- 3.1.2. Активация κ -опиатных рецепторов и возникновение адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий 58
- 3.1.3. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и хлорида кальция при стимуляции периферических κ -опиатных рецепторов..... 70
- 3.2. Значение центральных опиатных рецепторов в процессах регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям..... 77
- 3.2.1. Резистентность сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и хлорида кальция на фоне стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов..... 91
- 3.2.2. Воздействие активации центральных κ -опиатных рецепторов на возникновение нарушений сердечного ритма, вызванных адреналином и CaCl_2 92
- 3.2.3. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и хлорида кальция при стимуляции центральных κ -опиатных рецепторов..... 100
- 3.3. Роль вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических или аритмогенных эффектов, связанных с активацией опиатных рецепторов..... 110
- 3.3.1. Значение вегетативной нервной системы в механизмах антиаритмического эффекта, вызываемого активацией периферических μ - и κ -опиатных рецепторов..... 118
- 3.3.2. Участие парасимпатической нервной системы в реализации

антиаритмического эффекта, связанного со стимуляцией	118
центральных μ - и κ -опиатных рецепторов.....	
3.3.3. Роль вегетативной нервной системы в реализации	
проаритмогенного действия, обусловленного активацией	
центральных μ -опиатных рецепторов....	126
ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	
ВЫВОДЫ.....	
Список литературы.....	134
	137
	145
	146

СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ СОКРАЩЕНИЙ

АД - артериальное давление

АТФ - аденозинтрифосфорная кислота

АЦ - аденилатциклаза

ГЭБ - гемато-энцефалический барьер

ЕЖЭ - единичные желудочковые экстрасистолы

ЖА - желудочковые аритмии

ЖТ - желудочковая тахикардия

ЖФ - желудочковая фибрилляция

КА - катехоламины

МЖЭ - множественные желудочковые экстрасистолы

НБФ - нор-биналторфимин

ОИМ - острая ишемия миокарда

ОП - опиоидные пептиды

ОР - опиатные рецепторы

ПД - потенциал действия

ССС - сердечно-сосудистая система

цАМФ - циклический аденозинмонофосфат

цГМФ - циклический гуанозинмонофосфат

ЦНС - центральная нервная система

ЧСС - частота сердечных сокращений

ЭКГ - электрокардиограмма

ВВЕДЕНИЕ

Проблема повышения естественной устойчивости сердца к аритмогенным факторам в настоящее время приобретает все большую актуальность. В первую очередь, это связано с тем, что в условиях ускорения ритма современной жизни, усложнения профессиональной деятельности человека и возрастания нагрузок на нейро-эндокринную систему увеличивается процент, так называемых, идиопатических нарушений сердечного ритма, возникающих без видимых органических повреждений миокарда у лиц, перенесших сильный стресс или длительное психоэмоциональное напряжение [19,38,45,164,209]. Постоянное воздействие экстремальных факторов может привести к чрезмерной стресс-реакции, которая, как известно, сопровождается повреждением миокарда [23,36] и может быть одной из причин возникновения желудочковой фибрилляции, приводящей к внезапной сердечной смерти [83,135,136,209].

Процессы, определяющие устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям достаточно уязвимы. Известно, что даже незначительные изменения функциональной активности некоторых структур мозга могут повлечь за собой нарушения ритмической деятельности сердца [43,135,136,159]. Кроме того, в эксперименте удастся смоделировать аритмии интактного сердца путем электростимуляции таких образований, как гипоталамус и четверохолмие, где расположены высшие вегетативные центры [43,159].

В связи с вышесказанным, возникает настоятельная необходимость изыскания эффективных способов повышения естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Наиболее оптимальным, в этом плане, представляется использование физиологических путей повышения резистентности сердца к аритмогенному действию экстремальных факторов, подразумевающих стимуляцию эндогенных механизмов неспецифической резистентности организма или их фармакологическую имитацию.

Следует отметить и тот факт, что традиционная медикаментозная терапия нарушений сердечного ритма в клинике до сих пор, к сожалению, остается недостаточно эффективной. Одной из причин этого является недостаточная изученность процессов, регулирующих устойчивость сердца к аритмогенным

воздействиям. Понимание серьезности данной проблемы ориентирует исследователей как на поиск новых эффективных антиаритмических средств, так и на изучение эндогенных механизмов поддержания нормального ритма сердца.

В современных концепциях, посвященных механизмам изменения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, большое внимание уделяется нейрогуморальным системам регуляции сердечной деятельности. В этом отношении несомненный интерес представляет опиатергическая система, поскольку исследованиями последних лет было обнаружено, что опиоидные нейропептиды обладают кардиопротекторными и антиаритмическими свойствами [140,181, 182,183,184,207]. Так, например, смешанный агонист μ и κ -опиатных рецепторов даларгин способен предупреждать развитие ишемических и реперфузионных нарушения сердечного ритма [140], что можно считать доказательством важной роли лигандов опиатных рецепторов в повышении естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Согласно данным E.Frey et al. (1981)[90], стимуляция μ -опиатных рецепторов с помощью морфина также эффективно предупреждает развитие нарушений сердечного ритма.

Вместе с тем, повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям было обнаружено и при блокаде опиатных рецепторов налоксоном [85,108]. Кроме того, согласно данным ряда авторов [131,132,133,235], некоторые агонисты опиатных рецепторов также могут способствовать возникновению нарушений сердечного ритма. Так, в ряде работ, выполненных на изолированном сердце, показана способность агониста μ -опиатных рецепторов динорфина и смешанного агониста μ/κ -рецепторов μ -эндорфина снижать устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям [131,235]. Неоднозначность и противоречивость имеющихся данных может быть обусловлена существованием различных типов опиатных рецепторов. В большинстве исследований, посвященных изучению механизмов повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, использовались неселективные лиганды опиатных рецепторов [131,140,182,235], что не позволяет оценить рецепторную специфичность получаемых эффектов. Таким образом, вопрос о роли конкретных типов опиатных рецепторов в процессах регуляции резистентности миокарда остается открытым. Неизвестна локализация опиатных рецепторов, регулирующих естественную устойчивость сердца к

аритмогенным воздействиям. Одни авторы связывают увеличение электрической стабильности сердца с активацией кардиальных рецепторов [17], другие полагают, что антиаритмический эффект опиоидов связан со стимуляцией опиатных рецепторов, расположенных в головном мозге [85,90,183,184]. В связи с этим, необходимо отметить, что центральная нервная система играет важную роль в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [43,103,135,164,209]. Так, раздражение различных структур мозга способствует возникновению желудочковых аритмий [43,103]. Наиболее часто они возникают при раздражении таких образований, как гипоталамус и четверохолмие, где расположены высшие вегетативные центры [135]. Децеребрация и декортикация животных, напротив, приводят к снижению частоты возникновения нарушений ритма при острой ишемии миокарда [43]. Вместе с тем, известно, что опиатные рецепторы широко представлены в головном мозге, и в том числе, в тех структурах мозга, которые регулируют функциональное состояние сердечно-сосудистой системы [39,127,167,211].

Сопоставление этих фактов, позволило нам предположить, что центральное звено опиатергической системы играет существенную роль в регуляции электрической стабильности сердца. Из литературы известно, что агонисты опиатных рецепторов центрального действия (проникающие через гематоэнцефалический барьер) морфин, фентанил, мептазиол уменьшают частоту и длительность желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции при острой ишемии миокарда [85,90]. По данным Rabkin [181,182], активация центральных μ -рецепторов с помощью DAGO и морфина, и κ -рецепторов при введении динорфина А способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина и дигоксина. Этот эффект, по-видимому, связан с известным свойством опиоидных пептидов модулировать состояние вегетативной нервной системы [29,32,107,122,142], которая, как известно, играет огромную роль в процессах регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [43,78,83,103,135,164,209].

Однако не смотря на большое количество публикаций, посвященных кардиоваскулярным эффектам опиоидов, в литературе еще не сложились ясные

представления о роли различных типов опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным факторам.

Таким образом, проблема участия опиатных рецепторов и опиоидных пептидов в процессах регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям является актуальной и малоизученной, механизмы антиаритмического или аритмогенного действия опиоидных пептидов изучены недостаточно. В научной литературе к настоящему времени отсутствуют данные о роли различных типов опиатных рецепторов в регуляции резистентности сердца к аритмогенным воздействиям, явно недостает информации о локализации опиатных рецепторов, участвующих в этих процессах. Решение вышеперечисленных фундаментальных проблем позволит лучше понять механизмы регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным факторам и определить место опиоидной системы в иерархии регуляторных комплексов, ответственных за поддержание и повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, а также индуцировать прикладные исследования по разработке новых антиаритмических препаратов на основе лигандов опиатных рецепторов.

Цель работы: Исследовать роль различных типов центральных и периферических опиатных рецепторов в регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

ЗАДАЧИ ИССЛЕДОВАНИЯ

1. Изучить роль периферических μ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.
2. Исследовать значение центральных μ -опиатных рецепторов в процессах изменения резистентности миокарда к воздействию аритмогенных факторов.
3. Оценить вклад вегетативной нервной системы в реализации антиаритмического или проаритмогенного эффектов, связанных с активацией периферических μ -опиатных рецепторов.
4. Изучить роль вегетативной нервной системы в изменении устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям при стимуляции центральных опиатных рецепторов.

Научная новизна. Впервые проведена комплексная оценка роли различных типов опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. В процессе исследования установлено, что активация периферических μ - и δ -опиатных рецепторов снижает вероятность возникновения как адреналовых, так и CaCl_2 -индуцированных аритмий. Специфические воздействия на периферические μ -опиатные рецепторы не оказывают существенного влияния на частоту возникновения нарушений сердечного ритма.

Принципиальную новизну представляют факты, свидетельствующие о том, что воздействие на различные подтипы центральных опиатных рецепторов оказывает неоднозначное влияние на резистентность сердца к аритмогенным воздействиям. Так, стимуляция центральных μ -опиатных рецепторов повышает устойчивость сердца к адреналовым аритмиям, практически полностью предупреждая злокачественные нарушения ритма сердца (желудочковая тахикардия и фибрилляция желудочков), в то время как активация центральных δ -рецепторов усугубляет тяжесть аритмий. При возбуждении центральных μ -опиатных рецепторов происходит повышение резистентности миокарда к аритмогенным воздействиям.

Большой интерес представляет обнаруженный в работе факт о том, что изменение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям после активации центральных опиатных рецепторов связано с опиатергической модуляцией состояния вегетативной нервной системы. В то же время установлено, что вегетативная нервная система не играет существенной роли в обеспечении высокой электрической стабильности сердца в условиях стимуляции периферических μ - и δ -рецепторов.

Научно-практическая значимость. Результаты данного исследования расширяют и углубляют современные представления о механизмах поддержания естественной устойчивости сердца к воздействию аритмогенных факторов и дополняют их данными о важной роли опиоидной системы в регуляции этих процессов. Данная работа может быть использована при разработке принципиально новых фармакологических препаратов, превосходящих по

антиаритмической активности традиционные препараты, используемые в клинической практике.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Стимуляция периферических μ - и κ -опиатных рецепторов способствует заметному повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Вегетативная нервная система не играет существенной роли в реализации этого эффекта.
2. Воздействия на периферические μ -опиатные рецепторы не сопровождаются изменением противоаритмической устойчивости сердца.
3. Активация центральных μ - и κ -опиатных рецепторов способствует повышению резистентности миокарда к аритмогенным воздействиям. Увеличение электрической стабильности сердца при этом связано с повышением тонуса парасимпатического звена вегетативной нервной системы.
4. Возбуждение центральных μ -рецепторов потенцирует аритмогенное действие адреналина и CaCl_2 . Повышение восприимчивости миокарда к аритмогенным факторам при стимуляции κ -рецепторов, происходит в результате увеличения симпатических влияний на сердце.

Апробация диссертации. Материалы диссертации обсуждались на конкурсе молодых ученых-кардиологов на региональной конференции "Актуальные проблемы кардиологии" (Томск, 1994), II Съезде физиологов Сибири и Дальнего Востока (Новосибирск, 15-17 июня 1995), конкурсе молодых ученых-кардиологов I Конгресса ассоциации кардиологов стран СНГ (Москва, май 1997 г), конкурсе молодых ученых-кардиологов региональной конференции "Актуальные проблемы кардиологии" (Томск, 1997).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 26 работ, из них 1 статья в зарубежном журнале, 6 - в отечественных журналах, 2 - в местных

сборниках, 10 - в материалах международных, всероссийских конференций, 9 - в материалах региональных конференций.

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю, член-корр. РАН Ю.Б.Лишманову, научному консультанту д.м.н. Маслову Л.Н. за поддержку в проведении научных исследований, а так же выражает глубокую признательность к.м.н. А.В.Крылатову, принимавшему непосредственное участие в выполнении отдельных фрагментов исследований по тематике диссертационной работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. ЭЛЕКТРОФИЗИОЛОГИЧЕСКИЕ МЕХАНИЗМЫ НАРУШЕНИЙ РИТМИЧЕСКОЙ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЦА

Изменения нормальной частоты, регулярности и источника возбуждения сердца, а также нарушения связи или последовательности между активацией предсердий или желудочков приводят к нарушениям нормального ритма сердца [14,15,26,49]. Возникновение нарушений сердечного ритма в основном зависит от особенностей электрогенеза в специализированных клетках, обеспечивающих образование электрического импульса и его распространение по миокарду [49]. Согласно современным воззрениям [15,149, 205], нарушения ритма сердца в зависимости от электрофизиологических механизмов разделяются на три основные группы: 1) нарушение образования импульса; 2) нарушение проведения импульса и 3) комбинированные нарушения образования и проведения импульса. Нарушения образования импульса могут возникать в результате: усиления или угнетения автоматизма клеток синусового узла; усиления автоматизма латентных водителей ритма; возникновения автоматизма в поврежденных сократительных клетках; замедленной или ранней постдеполяризации и осцилляторного возбуждения клеточных мембран; асинхронной реполяризация. Нарушения проводимости могут возникать как при физиологических изменениях рефрактерного периода, так и при органических повреждениях и дефектах проводящей системы. При комбинированных нарушениях образования и проведения импульса могут возникать парасистолия, блокады входа импульса в эктопические центры и блокады его выхода из эктопических центров [149].

Проводящая система сердца обладает функцией автоматизма, способностью осуществлять во время диастолы спонтанную деполяризацию. В настоящее время различают три основных механизма изменения ритма в пейсмекерах: увеличение или уменьшение скорости спонтанной диастолической деполяризации; колебания порога возбуждения; колебания уровня потенциала

покоя [149]. В физиологических условиях частота импульса синоатриального узла является наибольшей, вследствие чего этот узел выполняет роль доминирующего водителя ритма сердца [14,15,49]. Автоматические клетки остальных частей проводящей системы являются лишь потенциальными латентными водителями импульсов. Эти латентные пейсмекеры в определенных условиях могут доминировать, например при уменьшении скорости диастолической деполяризации синоатриального узла (ваготония, органическое поражение узла) или при увеличении скорости спонтанной активации латентных пейсмекеров (ишемия, ацидоз, гипокалиемия, токсическое действие сердечных гликозидов)[49,149]. В краевой зоне инфаркта миокарда под действием "токов повреждения", возникающих из-за разности потенциалов между здоровым и ишемизированным миокардом, обычно на высоком фоне эндогенных катехоламинов и циклических нуклеотидов возникают источники эктопического автоматизма даже в волокнах рабочего миокарда [149,177]. Примерами нарушений ритма сердца, вызванных эктопическим автоматизмом, могут быть экстрасистолы с непостоянным индексом сцепления, парасистолия, эктопические ускоренные ритмы, автоматические пароксизмальные наджелудочковые и желудочковые тахикардии [49,173]. Повышение автоматизма клеток проводящей системы может возникнуть под влиянием различных факторов, таких как изменение внутриклеточного рН, нарушение метаболизма, воспаление, гипоксии и др. [14,15]. Нарушение электролитного баланса также может вызывать возникновение эктопического автоматизма. При этом снижается ток K^+ из клетки или повышается ток Ca^{2+} в клетку [38,69,88,93]. В результате чего создается очаг, где генерируются электрические импульсы, сила и частота которых выше импульсов синусного узла и этот очаг становится водителем ритма для одиночных или множественных сокращений [14,49]. Кроме того, эктопический автоматизм возникает при интоксикации катехоламинами, внутривенной инъекции $CaCl_2$, гипокалиемии, инфаркте миокарда [38,69,88,93]. Для устранения нарушений ритма сердца, вызванных эктопическим автоматизмом, используется способность противоаритмических средств уменьшать скорость спонтанной диастолической деполяризации специализированных клеток и повышать пороговый потенциал.

Локальные нарушения проведения импульсов (замедление распространения импульса, однонаправленная блокада) могут способствовать появлению повторного входа волны возбуждения, или возвратного возбуждения - reentry [14,173]. Возвратное возбуждение представляет собой повторный вход импульса возбуждения (reentry) в данную зону проводниковой системы и сократительного миокарда [49]. При этом место возвратного входа возбуждения должно стать вновь возбудимым в момент прихода волны возвратного возбуждения, иначе из-за рефрактерности миокарда эта волна была бы приостановлена [49]. Reentry возникает при сочетании определенных условий: 1) существовании двух каналов проведения и односторонней блокады одного из них; 2) наличие потенциально замкнутой петли движения импульса; 3) общем замедлении скорости распространения импульса, так что ни в одной точке петли волна возбуждения не встречается с зоной рефрактерности [15]. При этом налицо депрессия миокарда с блокадой в одном направлении и замедленной скоростью проведения в небольшом участке проводниковой системы и миокарда. Такая местная блокада в конечных разветвлениях проводниковой системы может явиться результатом гипоксии, повреждения миокарда, метаболических или электролитных сдвигов. Очевидно, что первопричиной механизма reentry и связанных с ним аритмий являются многообразные нарушения проводимости [14,43,173]. При наличии аномальных дополнительных путей проведения, а также в случае продольной диссоциации атриовентрикулярного соединения возникает так называемый маскогеентру, который на практике встречается сравнительно редко. С уменьшением скорости распространения импульса и укорочением продолжительности рефрактерного периода минимальная длина пути до появления возвратного возбуждения уменьшается [232], и тогда reentry может возникать и при отсутствии дополнительных проводящих пучков, появляется microgeentry. Множественные microgeentry проявляются мерцанием предсердий или желудочков. При остром инфаркте миокарда или постинфарктном кардиосклерозе с учащением сердечного ритма рефрактерный период в нормальной ткани уменьшается в большей степени, чем в пораженной, что может служить причиной возникновения частотно-зависимой экстрасистолии [149,176]. Нарушенная вегетативная иннервация сердца иногда также становится причиной повторного входа

электрического импульса и создания эктопического очага возбуждения, а нарушение проводимости создает повышенную возбудимость [14]. Из-за неомогенного распределения окончаний блуждающих нервов в предсердиях ваготропные воздействия вызывают неомогенное увеличение ацетилхолина в ткани миокарда, вследствие чего скорость реполяризации и продолжительность рефрактерного периода в соседних волокнах изменяются количественно по-разному; это вызывает мерцание предсердий [49]. Теоретически существуют два пути устранения re-entry: создание двунаправленной блокады или устранение однонаправленной блокады.

При определенных патологических процессах в сердце может возникать так называемая триггерная (пусковая) автоматическая активность, которая наряду со спонтанной диастолической деполяризацией и reentry составляет третий механизм электрофизиологического генеза экстрасистолии и пароксизмальной тахикардии [49]. Триггерная активность возникает при замедлении реполяризации и является результатом ранних или поздних последеполяризаций [49]. Когда амплитуда поздней постдеполяризации повышается до уровня порогового потенциала, возникает преждевременный потенциал действия, либо появляется серия таких потенциалов. Учащение основного ритма, экстрасистолы, воздействие катехоламинов могут способствовать возрастанию амплитуды волн поздней постдеполяризации [15]. Триггерная активность является результатом снижения тока K^+ из клетки или повышения внутриклеточной концентрации Ca^{2+} [87,96,114]. Такая ситуация *in vivo* может возникать при интоксикации сердечными гликозидами или хинидином [38]. Воздействие ацетилхолина, а также раздражение блуждающих нервов могут прекратить триггерную активность, а воздействие катехоламинов, наоборот, - активировать ее [69,232]. Примерами нарушений ритма сердца, вызванных по механизму триггерного автоматизма, могут быть экстрасистолы с непостоянным индексом сцепления, парасистолия, эктопические ускоренные ритмы, автоматические пароксизмальные наджелудочковые и желудочковые тахикардии [49].

1.2. РОЛЬ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В ПРОЦЕССАХ РЕГУЛЯЦИИ РЕЗИСТЕНТНОСТИ МИОКАРДА К ДЕЙСТВИЮ АРИТМОГЕННЫХ ФАКТОРОВ

Вегетативная нервная система является основной внешней по отношению к сердцу системой, которая участвует в регуляции сократимости миокарда. На основании различий в анатомическом строении, функциональных эффектах и нейромедиаторах, освобождаемых из постганглионарных нервных окончаний, эту систему подразделяют на два основных отдела: симпатическую и парасимпатическую нервные системы [4,16,28]. Сердце иннервируется симпатическими нервами и парасимпатическим блуждающим нервом [4,16,28]. Повышение активности симпатических нервов стимулирует работу сердца: увеличивается частота сердечных сокращений, возрастает скорость проведения по специализированным проводящим тканям и усиливается сократимость миокарда. Усиление парасимпатической активности, наоборот, оказывает на сердце угнетающее действие: снижается частота сердечных сокращений, замедляется атриовентрикулярная проводимость и снижается амплитуда сокращений миокарда [4,16,28]. Динамическое взаимодействие симпатической и парасимпатической нервной системы позволяет согласованно регулировать работу сердца. Самый верхний уровень взаимодействия осуществляется в сосудодвигательном центре головного мозга, куда поступают и где обрабатываются афферентные сигналы из сердечно-сосудистой системы, и где происходит регуляция эфферентной активности симпатической и парасимпатической нервной системы [16,28]. Кроме того, взаимодействие между этими двумя отделами вегетативной нервной системы происходит на уровне нервных окончаний [4]. Близко расположенные окончания симпатических и

парасимпатических нервных волокон в некоторых отделах сердца позволяют осуществлять взаимодействие между этими двумя системами как на уровне синаптического контакта, так и на уровне мембран иннервируемых клеток [4,16,28]. Пресинаптический уровень взаимодействия обеспечивается тем, что ацетилхолин, освобождаемый из нервных окончаний парасимпатических волокон, способен стимулировать мускариновые рецепторы, расположенные на окончаниях симпатических волокон, что приводит к ингибированию освобождения из них норадреналина [4,16,28]. Кроме того, стимуляция мускариновых рецепторов на мембране иннервируемых клеток может модулировать клеточную реакцию на стимуляцию β -адренергических рецепторов [4,16,28]. Такое постсинаптическое взаимодействие позволяет осуществлять парасимпатическую регуляцию клеточной реакции на норадреналин, который освобождается из окончаний симпатических волокон, и на адреналин, находящийся в циркулирующей крови.

Роль симпатической нервной системы в регуляции устойчивости миокарда к аритмогенным воздействиям

В настоящее время считается уже установленным фактом, что чрезмерное возбуждение симпатической нервной системы вызывает повреждение миокарда и нарушение ритма сердца [23,136,159,209]. Симпатическая нервная система оказывает свое влияние на работу сердца через катехоламины, которые взаимодействуют с адренергическими рецепторами, расположенными на сарколемме миокардиальных клеток. В сердце млекопитающих преимущественно содержатся β_1 -

рецепторы, в то время как в гладких мышцах сосудов, по-видимому, преобладают β_2 - и α_1 -рецепторы [227]. Альфа-рецепторы расположены преимущественно в пресинаптических окончаниях симпатических волокон. Считается, что стимуляция этих рецепторов ингибирует освобождение норадреналина из окончаний [4,16,28,160]. В постсинаптических участках ткани сердца и сосудов, в основном, обнаружены α_1 -рецепторы [Osnes J.]. В реализации положительного инотропного эффекта катехоламинов участвуют β_1 -адренорецепторы, а без β_2 -рецепторов не возможен положительный хронотропный эффект [46,64]. Взаимодействие агонистов с α_1 -рецепторами способствует увеличению амплитуды сокращений, но не влияет на скорость процесса сокращение-расслабление [55,56]. Активация пресинаптических α_2 -адренорецепторов ингибирует освобождение норадреналина из адренергических терминалей и, соответственно, ослабляет симпатическое влияние на сердце [76].

В настоящее время в механизмах регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям придают большое значение изменениям проницаемости клеточной мембраны для ионов натрия, калия и кальция. Поэтому не вызывает сомнения роль α_1 -адренорецепторов в процессах изменения резистентности сердца к аритмогенным воздействиям патогенезе аритмий, поскольку исследованиями Bruckner R. et al. (1985) [65] было обнаружено, что α_1 -адренорецепторы сопряжены с Ca^{2+} -каналами, активация которых приводит к повышению проницаемости сарколеммы для Ca^{2+} [65,66,204]. Кроме того, стимуляция α_1 -рецепторов приводит к активации фосфолипазы C, увеличению синтеза внутриклеточных мессенджеров - инозитолтрифосфата и диацилглицерола [65,128]. Полагают, что инозитолтрифосфат мобилизует Ca^{2+} из внутриклеточных депо [65,128]. Диацилглицерол стимулирует фосфорилирование белков путем активации протеинкиназы C [65,128,204]. Результатом такого усиления фосфорилирования протеинов, по-видимому, является увеличение средства

миофибрил к ионам кальция [65,82]. Итогом этих биохимических процессов является увеличение транспорта Ca^{2+} в миоплазму и увеличение амплитуды сокращения миокарда без изменения скорости процесса "сокращение-расслабление". Избыточное накопление ионов Ca^{2+} вызывает снижение потенциала покоя мембран клеток миокарда, что в свою очередь, способствует резкому снижению порога возбудимости кардиомиоцитов, появлению очагов эктопической активности и развитию нарушений сердечного ритма [10,157,204]. Поэтому вполне логичным выглядит утверждение, что блокада α_1 -адренорецепторов предупреждает аритмии, связанные с избыточным накоплением ионов Ca^{2+} в миоплазме (например, реперфузионные аритмии). Этот эффект адrenoблокаторов отмечается многими исследователями [57,59,117,165,200,218].

Известно, что α_1 -адренорецепторы не участвуют в регуляции уровня цАМФ в кардиомиоцитах [65], в то время как β -рецепторы сопряжены через G-белки с аденилатциклазой. Так, активация β -адренорецепторов способствует увеличению цАМФ в миоцитах [192]. Установлено, что увеличение содержания цАМФ предшествует возникновению желудочковой фибрилляции при экспериментальной коронароокклюзии [138,156,171,172,236]. Кроме того, факторы, способствующие повышению уровня цАМФ в миокарде (катехоламины, ингибиторы фосфодиэстеразы, холерный токсин), увеличивают частоту возникновения желудочковой фибрилляции при острой ишемии миокарда *in vivo* [138,192,158] и на изолированном сердце крысы [236]. Эти данные позволили многим авторам считать, что увеличение уровня цАМФ в миокарде может быть основным механизмом развития желудочковой фибрилляции по механизму триггерного автоматизма [138,158,192,236]. Показана способность цАМФ увеличивать медленный ток кальция внутрь клеток. Избыток ионов кальция может, в свою очередь, способствовать возникновению аритмий по механизму триггерного автоматизма [138]. Все эти эффекты могут служить пусковым фактором возникновения фибрилляции. Известно, что циклический аденозинмонофосфат модулирует работу кальциевых каналов в сердце через активацию протеинкиназы А, которая в свою очередь фосфорилирует белки кальциевого канала или тесно ассоциирующего с этим каналом регуляторного белка [4]. Активация процессов транспорта Ca^{2+} обеспечивает не только положительный иноторпный эффект, но и

увеличивает скорость сокращения и расслабления сердца под действием агонистов β -рецепторов [161,219]. Однако избыточная продукция цАМФ, по-видимому, приводит к нарушению баланса между поступлением Ca^{2+} в клетку и его выведением из клетки, в результате чего в цитоплазме кардиомиоцита аккумулируется избыточное количество ионов кальция. Конечным итогом активации β -адренорецепторов является накопление Ca^{2+} в цитоплазме кардиомиоцитов, что, в свою очередь, может служить фактором, способствующим возникновению аритмий по триггерному механизму. Кроме того известно, что работа Ca^{2+} -насоса требует больших затрат энергии и любое ограничение продукции АТФ и креатинфосфата, например, в условиях гипоксии с одновременным усилением адренергического влияния на миокард (как это имеет место при инфаркте миокарда или экспериментальной коронароокклюзии) неизбежно будет приводить к увеличению концентрации Ca^{2+} в цитоплазме [119].

Таким образом, многочисленные факты подтверждают, что в результате сложных биохимических процессов гиперактивация симпато-адреналовой системы снижает электрическую стабильность сердца, что в свою очередь способствует возникновению аритмий.

Значение парасимпатической нервной системы в повышении устойчивости сердца к аритмогенным факторам

Как уже отмечалось выше, физиологическая роль парасимпатической нервной системы заключается в ограничении адренергического влияния на миокард, поэтому наибольший антиаритмический эффект стимуляции парасимпатической нервной системы проявляется на фоне гиперактивации симпатического звена вегетативной нервной системы [4,16,28]. Однако при повышении тонуса вагуса, но без активации симпатоадреналовой системы, могут возникать нарушения ритма сердца: появляются суправентрикулярные тахикардии, замедляется внутрижелудочковое проведение, вплоть до возникновения атрио-вентрикулярной блокады [35,188]. По данным некоторых авторов, стимуляция *p.vagus* приводит к усилению эктопического автоматизма и появлению желудочковых экстрасистол [121]. В то же время, некоторые исследователи

сообщают о том, что активация холинергического влияния на сердце предотвращает возникновение желудочковой фибрилляции и желудочковой тахикардии [35, 226], а раздражение вагуса способствует увеличению порога желудочковой фибрилляции [113]. Антиадренергическое действие стимуляции холинорецепторов осуществляется, вероятно, несколькими путями. Стимуляция пресинаптических М-холинорецепторов, расположенных на симпатических терминалях, приводит, с одной стороны, к ограничению освобождения норадреналина [4]. Активация этих рецепторов, расположенных на сарколемме кардиомиоцитов, обеспечивает ингибирование аденилатциклазы и уменьшению уровня цАМФ в клетке [4], который, как известно, является эндогенным аритмогенным фактором [156,236], что в конечном итоге способствует повышению электрической стабильности сердца. В настоящее время не вызывает сомнений тот факт, что активация мускариновых рецепторов приводит к повышению уровня цГМФ в миокардиальной ткани, который является физиологическим антагонистом цАМФ [4,16]. При выяснении физиологической роли цГМФ было обнаружено, что 8-бromo-цГМФ уменьшает поглощение Ca^{2+} сокращающимися препаратами предсердий, но не влияет на тканевое содержание K^+ [153]. Другие исследователи обнаружили, что подобно ацетилхолину 8-бromo-цГМФ угнетал потенциалы действия типа медленного ответа, которые являются косвенной мерой кальциевого тока, вместе с таким угнетением наблюдался отрицательный инотропный эффект [124].

Немаловажное значение в инотропных эффектах активации мускариновых рецепторов имеет их способность увеличивать выходящий ток, переносимый ионами K^+ [4]. Кроме того, методом фиксации потенциала было показано, что ацетилхолин в низких концентрациях увеличивает выходящие калиевые токи в предсердии млекопитающих, а при высоких концентрациях он не только увеличивает выходящие калиевые токи, но и уменьшает кальциевый ток [217]. Потенциал действия укорачивается, а величина потенциала покоя становится более электроотрицательной. В результате таких физиологических процессов происходит снижение возбудимости клеток рабочего миокарда и проводящей системы сердца.

Таким образом, вышеизложенные факты подтверждают, что усиление тонического влияния парасимпатической нервной системы повышает

электрическую стабильность сердца. Причем антиаритмический эффект стимуляции вагуса максимально проявляется на фоне гиперактивации симпатической нервной системы.

Однако вегетативная нервная система не является единственным регуляторным звеном организма, регулирующим электрическую стабильность сердца. Важным фактором, определяющим устойчивость миокарда к аритмогенным воздействиям является электролитный баланс.

1.3. ИЗМЕНЕНИЕ ЭЛЕКТРОЛИТНОГО БАЛАНСА И УСТОЙЧИВОСТЬ СЕРДЦА К АРИТМОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Говоря об электрической стабильности сердца, нельзя забывать о роли электролитного дисбаланса в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, поскольку нарушения ионного гомеостаза приводят к изменению электрогенеза в кардиомиоцитах и клетках проводящей системы. Еще в конце 60-х годов проводились исследования по изучению роли электролитного баланса в аритмогенезе. Было обнаружено, что у больных ишемической болезнью сердца с частыми экстрасистолами наблюдалось выраженное снижение концентрации K^+ и накопление Na^+ в эритроцитах. Авторы полагали, что изменения обнаруженные в эритроцитах, в какой-то степени отражают электролитные сдвиги в клетках всего организма [48]. Другие исследования показали, что у большинства больных с нарушениями ритма сердца отмечается уменьшение внутриклеточного содержания K^+ и увеличение его концентрации в плазме и суточной моче; концентрация Na^+ была повышена в эритроцитах, а в плазме и суточной моче уменьшена. Причем такая закономерность была наиболее выражена у больных с мерцательной аритмией и экстрасистолией [31]. Исследуя больных с мерцательной аритмией, Л.А.Мовчан (1971) [25] также обнаружил значительное повышение уровня K^+ в плазме крови. Экспериментальные исследования подтверждают связь электролитных сдвигов (уменьшение клеточного K^+ и накопление в цитоплазме ионов натрия) с нарушениями ритма сердца. Так, аритмии, вызванные хлоридом кальция у экспериментальных животных, сопровождались усиленным выходом ионов калия из клеток миокарда во внеклеточное пространство и увеличением проницаемости мембраны для ионов натрия [5]. На модели изолированного правого желудочка сердца крысы было обнаружено, что повышение концентрации K^+ в реперфузионном растворе предупреждало возникновение тахиаритмий [3]. L.Grumbach и соавт.(1994) [100] сообщили, что спонтанную желудочковую фибрилляцию можно вызвать путем перфузии изолированного сердца кролика раствором с пониженным содержанием калия, что приводит к снижению уровня K^+ в ткани миокарда. В настоящее время гипокалиевая перфузия используется в

качестве стандартного методического подхода для моделирования аритмий на изолированном сердце [100]. Таким образом, электролитные сдвиги приводят к возникновению спонтанной деполяризации и повышению их эктопической активности. Накопление Na^+ в миокардиальных клетках может привести не только к повышению их эктопической активности, но и к возникновению фибрилляции желудочков [48,79]. По мнению В.А. Шульмана и И.М. Ганкина [48], при острой ишемии миокарда по характеру электролитных сдвигов крови можно с определенной точностью предсказывать возникновение того или иного нарушения ритма сердца или проводимости.

Рассмотрим электрофизиологические механизмы возникновения аритмий при нарушениях электролитного баланса. Как известно, аритмии сопровождаются увеличением выхода ионов калия из клеток и повышением внутриклеточной концентрации ионов натрия [25,31,48]. Увеличение выходящего калиевого тока приводит к быстрой реполяризации, что в свою очередь уменьшает длительность потенциала действия и длительность рефрактерного периода. Уменьшение обеих величин способствует возникновению аритмий по механизму reentry [233]. Кроме того, рост утечки калия связан с повышением концентрации внутриклеточного кальция и активацией Ca^{2+} -зависимых K^+ -каналов [88]. Повышение при этом концентрации внеклеточного K^+ косвенно свидетельствует об увеличении уровня внутриклеточного кальция, являющегося в этом случае основным фактором приводящим к нарушению клеточного электрогенеза, и, в частности, к возникновению спонтанной активности по механизму триггерного автоматизма [33]. Увеличение быстро входящего натриевого тока также приводит к снижению эффективного рефрактерного периода клеток [232], что в свою очередь может способствовать возникновению спонтанной активности. Гипернатриемия ухудшает режим работы натрий-кальциевой обменной системы и приводит к повышению внутриклеточной концентрации кальция [54].

Анализируя вышеизложенные факты, можно с определенной уверенностью утверждать, что в основе нарушения электрогенеза клеток лежит потеря контроля над клеточным ионным гомеостазом. При этом нельзя не учитывать связь трансмембранных ионных токов с внутриклеточными биохимическими процессами, которые в свою очередь влияют на проводимость мембраны.

1.1.4. РОЛЬ ИОНИЗИРОВАННОГО КАЛЬЦИЯ В МЕХАНИЗМАХ РЕГУЛЯЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕРДЦА К АРИТМОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Важная функциональная роль в клетке принадлежит ионам кальция. Этот ион является “вторичным мессенджером”, который модулирует активность многочисленных биохимических процессов и различных клеточных механизмов. Так, и в процессах поддержания резистентности сердца Ca^{2+} играет важнейшую роль [153,157,158]. Известно, что поврежденные кардиомиоциты аккумулируют Ca^{2+} [158]. При этом не важно, чем вызвано повреждение миокарда: реперфузией после ишемии [157,158,201], длительной гипоксией [153] или эктопическими нарушениями ритма сердца [2]. Конечный результат будет один - клетки перегружаются ионами кальция. Повышение внутриклеточной концентрации Ca^{2+} приводит к изменению клеточного метаболизма, росту энергозатрат, связанных с транспортом Ca^{2+} активации фосфолипазной активности и регуляторным изменениям в других токовых системах, например росту выходящего K^+ -тока [33,71]. Большая часть указанных отрицательных эффектов аккумуляции кальция в клетке носит аритмогенный характер [157,158,44].

Патогенную роль повышенного содержания Ca^{2+} в клетке можно рассмотреть на примере коронарогенных нарушений проводимости миокарда. На первой стадии процесса содержание макроэргических фосфатов, в основном креатинфосфата, начинает уменьшаться [27]. Повышение цитоплазматической концентрации кальция $[Ca^{2+}]_i$ может быть связано с ингибированием Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума, Ca^{2+} -АТФазы сарколеммы и (Na^+,K^+) -АТФазы в результате нарушения процессов ресинтеза АТФ [27]. При этом уменьшается активность Na^+,K^+ -насоса, что приводит к росту $[Na^+]_i$ и увеличению $[Ca^{2+}]_i$ в результате усиления работы Na^+/Ca^{2+} обменника [33]. Такой же рост Ca^{2+} наблюдается в симпатических нервных окончаниях, иннервирующих миокард [54]. Повышение внутриклеточной концентрации кальция в этих терминалях приводит к увеличению выброса катехоламинов [77]. Выброс катехоламинов вызывает активацию аденилатциклазы в кардиомиоцитах с повышением уровня цАМФ, усиление кальциевого тока и повышение активности транспортных АТФаз,

способствующее быстрому истощению энергетических ресурсов клетки [33,156]. Повышение внутриклеточной концентрации кальция стимулирует систему кальмодулин-зависимых протеинкиназ [198], модулирующих активный транспорт ионов (натрий-калиевая и кальциевая АТФазы), а также к возрастанию активности фосфолипазы A_2 , что неизбежно ведет к гидролизу белков и фосфолипидов, и как следствие к повреждению сарколеммы и нарушению электрофизиологических процессов в кардиомиоцитах. Активация фосфолипаз совпадает с началом деполяризации клеточных мембран и потерей клетками ионов калия [233]. В результате этого в мембранах клеток происходит накопление продуктов расщепления фосфолипидов - лизоформ фосфолипидов и ненасыщенных жирных кислот. Оба эти фактора обладают выраженным детергентным действием в отношении клеточных мембран и, повышая их проницаемость для различных ионов [72], способствуют возникновению очагов эктопической активности. Высокая активность фосфолипаз приводит к необратимому повреждению кардиомиоцитов [Cor P.V.]. Кроме того, в результате массивного поступления Ca^{2+} в саркоплазму происходит нарушение функции митохондрий, что сопровождается нарушением процессов окислительного фосфорилирования [71,153].

На другой модели аритмий, при интоксикации сердечными гликозидами также наблюдается Ca^{2+} -перегрузка кардиомиоцитов, и прежде всего, саркоплазматического ретикулума, с последующим спонтанным выбросом кальция из ретикулума, что сопровождается сокращением клетки и ее деполяризацией [11].

Таким образом, роль ионов кальция в процессах регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям очевидна. Защитные меры по предупреждению Ca^{2+} -индуцированных повреждений миокарда и аритмий могут быть следующими: предотвращение повышения $[Ca^{2+}]_i$ и цАМФ, а также снижение активности фосфолипаз или предотвращение накопления продуктов их деятельности.

1.2. КАРДИОТРОПНОЕ ДЕЙСТВИЕ ЛИГАНДОВ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

1.2.1. Кардиоваскулярные эффекты лигандов опиатных рецепторов

В настоящее время эффектам опиоидных нейропептидов посвящено достаточно большое количество работ. Проводятся многочисленные исследования по воздействию опиоидов на различные системы организма, в том числе и на сердечно-сосудистую. Однако литературные данные по этому вопросу носят весьма противоречивый и разрозненный характер. Важными факторами, определяющими эффекты опиоидных пептидов, вероятно, являются: существование нескольких типов опиатных рецепторов [37]; наличие рецепторов как в центральной нервной системе, так и в периферических органах и тканях [37,39]; различная проницаемость гемато-энцефалического барьера для опиатов и опиоидных пептидов [193]; неодинаковое исходное состояние, в котором находилось экспериментальное животное (наркоз или бодрствование) [67,154,155] и видоспецифичность [154].

Центральные эффекты лигандов опиатных рецепторов

Известно, что в центральной нервной системе опиатные рецепторы представлены очень широко [39,127,167, 211], поэтому структуры головного мозга имеют, скорее всего, большое значение в осуществлении кардиотропных эффектов опиатов и опиоидных пептидов. И наиболее значимыми для реализации этих эффектов опиоидов являются те структуры мозга, которые участвуют в регуляции сердечно-сосудистой системы. Так, установлено, что активация опиатных рецепторов прессорного центра продолговатого мозга приводит к брадикардии и гипотензии, а микроинъекция агонистов опиатных рецепторов в ядра

кардиодепрессорного центра, напротив, вызывает повышение ЧСС и АД [86,130]. Из этих данных видно, что на каждый из этих центров, регулирующих сердечно-сосудистую систему, опиоиды оказывают тормозное воздействие, конечным результатом которого является изменение состояния сердца и сосудов. Аналогичные два центра, состояние которых регулируется агонистами опиатных рецепторов, обнаружены в гипоталамусе [86].

Эффекты опиоидов во многом определяются тем, в какую структуру мозга вводится лиганд опиатных рецепторов. Так, исследователи [144] установили, что агонист δ -рецепторов - DADLE при интратекальном введении в спинальное субарахноидальное пространство наркотизированных крыс оказывал выраженный кардиодепрессорный эффект. Кроме того, было обнаружено, что морфин при введении в боковой или третий желудочек мозга кошек вызывает тахикардию и гипертензию, тогда как при введении в 4-й желудочек - брадикардию [86,130,170].

Как уже отмечалось, кардиотропные эффекты опиоидных пептидов зависят также и от типа рецепторов на которые воздействуют лиганды. Так, активация центральных μ_1 -рецепторов вызывает тахикардию, а стимуляция μ_2 -рецепторов снижает частоту сердечных сокращений [162]. Sapru H.N., et al (1987), Pfeiffer A., et al., (1983) [168,194], обнаружили, что агонисты κ -, δ -, μ - и ϵ -опиатных рецепторов при микроинъекции в ядра продолговатого мозга оказывают существенное влияние на сердечно-сосудистую систему, в то же время селективные σ -агонисты при внутримозговом введении не изменяют ни ЧСС, ни АД. При введении в третий мозговой желудочек сердечно-сосудистые эффекты оказывают μ - и κ -агонисты, но не селективные δ -агонисты [168].

Известно, что опиоидные пептиды практически не проникают через гематоэнцефалический барьер [86,130], однако в центральной нервной системе есть структуры, для которых характерна высокая проницаемость для пептидов и высокая плотность пептидных рецепторов, в том числе и опиатных рецепторов [193]. Это такие отделы, как субфорникальный орган, антериовентральный отдел гипоталамуса и area postrema. Sander G.E. et al. (1986) [193] установили, что введение мет-энкефалина в артерии этих структур, вызывает прессорный ответ. Это указывает на то, что опиатные рецепторы, ответственные за гемодинамические эффекты опиоидных пептидов, локализованы в зоне кровоснабжения

вертебральных артерий. У собак разрушение area postrema и area subpostrema полностью блокирует эффект системного и интравертебрального введения мет-энкефалина на сердечно-сосудистую систему, что указывает на ведущую роль этих областей в энкефалинергической регуляции гемодинамики [86,130,168].

Таким образом, исходя из вышеизложенных литературных данных можно отметить, что большое значение в реализации кардиоваскулярных эффектов опиоидных пептидов имеют прессорные и депрессорные центры продолговатого мозга, а также гипоталамуса [22,61,86,130,168 196].

Кардиотропные эффекты опиоидов при центральном введении могут реализовываться либо через взаимодействие с вегетативной нервной системой, либо через активацию нейро-гуморальных механизмов. Установлено, что при введении опиоидных пептидов в третий желудочек обычно наблюдается активация симпатической нервной системы, что вызывает тахикардию и гипертензию [86]. Введение в четвертый желудочек или интрацистернальная инъекция приводят к усилению тонуса n.vagus, что приводит к брадикардии и гипотензии [86]. Агонисты μ -, δ - и κ -опиатных рецепторов снижают холинергическую активность гиппокампа [129]. Согласно результатам исследований Wei R. et al.(1984) [229] морфин ингибирует брадикардию, вызванную раздражением n.vagus или стимуляцией постганглионарных нейронов.

Таким образом, исходя из выше перечисленных данных можно предположить, что опиоидные пептиды и опиаты способны модулировать функциональное состояние вегетативной нервной системы, которая в свою очередь играет важнейшую роль в регуляции сердечно-сосудистой системы [4, 16].

Периферические эффекты лигандов опиатных рецепторов

В некоторых случаях эффекты опиоидных пептидов на ЧСС и АД неоднозначны: у бодрствующих крыс мет-энкефалин и лей-энкефалин увеличивали АД и не влияли на ЧСС. У наркотизированных крыс синтетический аналог лей-

энкефалина - DALE увеличивал АД, но снижал ЧСС [154]. Агонист μ -рецепторов DAGO и агонист κ -рецепторов U-50,488H при внутривенном введении вызывали брадикардию и расширение сосудов, а агонист δ -рецепторов DPDPE не влиял на ЧСС, но обладал сосудосуживающим эффектом [185]. Другие данные показывают, что у наркотизированных крыс морфин, лей-энкефалин, β -эндорфин, агонисты κ -рецепторов при системном введении вызывают снижение АД, брадикардию и уменьшение сердечного выброса. По данным Olson G. et al.(1985) [154] морфин оказывает бифазный характер на частоту сердечных сокращений: сначала вызывает брадикардию, а затем тахикардию. Holaday J.W. et al., (1982) [106] обнаружили, что у бодрствующих крыс β -эндорфин при системном введении вызывает гипотензию и брадикардию. По мнению Caffrey J.L. et al. (1985) [67] опиоиды при внутривенном введении увеличивают ЧСС и повышают АД у бодрствующих животных, но индуцируют гипотензию, брадикардию и снижение силы сокращения левого желудочка у наркотизированных крыс. Действительно, у ненаркотизированных кошек и собак морфин при внутривенном введении вызывает увеличение ЧСС через 2-5 мин, увеличивает сократимость сердца в 2 раза через 2,5 мин после внутривенного введения [154]. Аналогичный эффект наблюдается у мет-энкефалина при внутривенном введении собакам и людям. У бодрствующих собак и крыс лей-энкефалин увеличивает АД, но этот эффект обращается в гипотензию после наркоза пентобарбиталом [67]. В настоящее время не вызывает сомнения, что все эффекты ОП на ССС связаны с активацией опиатных рецепторов, так как они ингибируются специфическими блокаторами рецепторов.

Таким образом, очевидно, что в регуляции кардиоваскулярной системы участвуют, как центральные, так и периферические опиатные рецепторы. Следовательно, есть веские основания полагать, что опиоидная система может играть важную роль в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, модулируя ответные реакции организма как на центральном, так и на эфферентном уровне.

1.2.2. Опиатные рецепторы и устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям

В настоящее время уже имеется фактический материал как об антиаритмическом, так и об аритмогенном действии опиоидных пептидов, однако накопленные данные имеют противоречивый характер, что не дает четкого представления о роли опиатных рецепторов в аритмогенезе. В настоящее время известно несколько типов опиатных рецепторов: μ , δ , κ , ϵ и более 11-13 подтипов [9,143,241], что обуславливает многообразие эффектов их лигандов на устойчивость сердца к аритмогенным факторам и существенно затрудняет трактовку полученных результатов. Во многом из-за этих трудностей до сих пор не сформирована концепция о механизмах модулирующего влияния лигандов опиатных рецепторов на устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям.

Согласно литературным данным, некоторые лиганды ОР проявляют достаточно высокую антиаритмическую активность. Так, смешанный агонист μ - и δ -опиатных рецепторов даларгин предупреждает развитие ишемических и реперфузионных аритмий в дозе 0.1 мг/кг, что позволяет говорить об очень высокой антиаритмической активности этого пептида [140]. Агонисты опиатных рецепторов, проникающие через гемато-энцефалический барьер (морфин, фентанил, мептазинол) уменьшают частоту и длительность желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции при острой ишемии миокарда [85,90]. Согласно данным S.Rabkin [181,183], центральное введение агонистов μ -рецепторов DAGO и морфина, и агониста κ -ОР динорфина снижает частоту возникновения нарушений сердечного ритма на моделях адреналовых и дигоксиновых аритмий. Таким образом, представляется вполне очевидным, что некоторые агонисты опиатных рецепторов проявляют высокую антиаритмическую активность, как при центральном, так и при периферическом введении.

Как уже отмечалось в предыдущих главах, одним из основных факторов, уменьшающих электрическую стабильность сердца является чрезмерная активация симпато-адреналовой системы [83,159]. Воздействия, снижающие активность этой

системы или ограничивающие выброс катехоламинов, оказывают антиаритмический эффект. Такой эффект был обнаружен у лигандов опиатных рецепторов. Так, введение морфина ограничивает секрецию катехоламинов надпочечниками, с чем с чем некоторые исследователи связывают антиаритмический эффект этого опиата [214]. Агонист μ -рецепторов DAGO, в зависимости от концентрации, уменьшает освобождение норадреналина из срезов ядер солитарного тракта, индуцируемое электрической стимуляцией этого ядра [52]. Другими исследователями было обнаружено, что DAGO ингибирует освобождение норадреналина из культуры адренергических нейронов locus coeruleus и ventral mesencephalon крыс [187]. Кроме того, агонист μ -опиатных рецепторов DAMGO ингибирует дофамин-индуцируемое образование цАМФ в n. accumbens [105]. Агонист κ -опиатных рецепторов U-50,488H вызывает отрицательный инотропный эффект на модели изолированного правого предсердия, который исчезает в присутствии β -адреноблокаторов [145]. Таким образом, исходя из литературных данных, можно отметить, что, действительно, лиганды опиатных рецепторов способны оказывать тормозное действие на выброс катехоламинов как в центральной нервной системе, так и на периферии, что, вероятно, и обуславливает их антиаритмический эффект.

Другой точкой приложения антиаритмического действия опиоидных пептидов может быть парасимпатическое звено вегетативной нервной системы. Как известно, повышение тонуса парасимпатической нервной системы увеличивает устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям, как при ишемии миокарда, так и при действии токсических доз катехоламинов [83,117,159]. Так, согласно данным Т.И. Грековой и соавт. [7], опиоидный пептид даларгин при внутривенном введении не только оказывал антиаритмический эффект, но и обнаружил отрицательное хронотропное действие, связанное с повышением тонуса n. vagus. Антиаритмический эффект морфина (при системном введении) некоторые исследователи также связывают с повышением тонической активности вагуса [90].

Таким образом, есть веские основания утверждать, что агонисты опиатных рецепторов могут предупреждать нарушения сердечного ритма как при центральном, так и при периферическом введении, модулируя активность

вегетативных центров головного мозга и рефлекторно изменяя тонус периферических отделов автономной нервной системы [90,130,196].

Однако результаты работ *in vitro* на модели изолированного перфузируемого сердца, показывают, что агонист μ -рецепторов DAGO и агонист κ -рецепторов U-50,488H вызывают аритмогенный эффект, который устраняется антагонистами соответствующих рецепторов [234], причем сами эти антагонисты обладают антиаритмическим действием. Бета-эндорфин *in vitro* также вызывает аритмии и при этом степень тяжести аритмий зависит от дозы, налоксон полностью устраняет этот эффект бета-эндорфина [235]. Кроме того, агонисты κ -опиатных рецепторов U-50,488H и динорфин дозозависимо увеличивают содержание свободного внутриклеточного кальция в изолированных кардиомиоцитах крыс [215], что, вероятно, и способствует возникновению аритмий при стимуляции миокардиальных опиатных рецепторов. Такое противоречие в эффектах опиоидных пептидов, возможно, обусловлено разной локализацией опиатных рецепторов.

Согласно литературным данным, активация центральных опиатных рецепторов повышает устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям [181,182,183,184], а стимуляция кардиальных опиатных рецепторов, наоборот, снижает устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям [234].

Кроме того, существуют данные о том, что блокада опиатных рецепторов налоксоном способна предупреждать возникновение аритмий, как на уровне целого организма, так и на уровне изолированного сердца [85,242]. По мнению Ю.Б.Лишманова и Л.Н.Маслова [17], во всех работах по антиаритмической активности налоксона, использовались достаточно большие дозы препарата, позволяющие заблокировать не только μ -ОР, но также κ - и δ -ОР. Принимая во внимание, что опиатные рецепторы сердца представлены главным образом δ - и κ -ОР, можно предположить, что антиаритмические свойства налоксона связаны с блокадой δ - и κ -рецепторов миокарда. Кроме того, известно, что высокие дозы налоксона оказывают прямое мембраностабилизирующее действие [195], что также может вносить свой вклад в формирование антиаритмических эффектов налоксона.

Таким образом, резюмируя все вышесказанное, можно утверждать, что опиатные рецепторы и опиоидные пептиды играют значительную роль в

аритмогенезе. Однако остается немало открытых вопросов, которые требуют дальнейших исследований.

В заключении хотелось бы остановиться на основных моментах проблемы, анализ которых позволяет выявить направление и основные положения для дальнейшего исследования роли опиоидных пептидов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Учитывая существование нескольких типов и субтипов опиоидных рецепторов, можно предположить, что в зависимости от типа рецепторов опиоидные пептиды могут оказывать антиаритмическое или аритмогенное действие. Кроме того, немаловажное значение в проявлении эффектов лигандов опиоидных рецепторов, по-видимому, имеет их локализация (активация центральных или периферических рецепторов). Принимая во внимание тот факт, что опиоидные пептиды способны оказывать модулирующее влияние на вегетативную нервную систему, которая имеет огромное значение в патогенезе аритмий, можно предположить, что антиаритмические или аритмогенные эффекты опиоидов опосредованы влиянием нейропептидов на симпатическую или парасимпатическую нервную систему. Исходя из этих гипотез мы и спланировали наше исследование.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.

Работа выполнена на крысах-самцах линии Вистар массой 250-300 г. (Томск, питомник “Рассвет”). Животные содержались в стандартных условиях вивария. При проведении экспериментов мы руководствовались рекомендациями, изложенными в Приказе N 755 МЗ СССР от 12 августа 1977 г.

В таблице 1 приводится распределение животных по сериям экспериментов.

Таблица 1.

Распределение животных по сериям экспериментов

СЕРИИ ЭКСПЕРИМЕНТОВ	Вид и число животных
1. Влияние стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение адреналовых аритмий (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.)	95 крысы
2. Устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина после блокады периферических μ -опиатных рецепторов селективными антагонистами (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.).	60 крыс
3. Влияние стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение CaCl_2 -индуцированных аритмий (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.).	80 крыс
4. Эффект стимуляции периферических δ -опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение адреналовых аритмий (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.).	77 крыс
5. Активация периферических κ -опиатных рецепторов селективными агонистами и антагонистом и устойчивость сердца к адреналовым аритмиям (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.).	83 крыс

6. Эффект активации периферических κ-опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение CaCl ₂ -индуцированных аритмий (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.).	73 крысы
7. Влияние стимуляции центральных μ-опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение адреналовых аритмий.	63 крысы
8. Стимуляция центральных μ-опиатных рецепторов селективными агонистами и устойчивость сердца к CaCl ₂ -индуцированным аритмиям.	61 крыса
9. Влияние активации центральных δ-опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение адреналовых аритмий	90 крыс
10. Эффект блокады центральных δ-опиатных рецепторов на антиаритмическое действие центрального введения δ-агониста DTLET.	35 крыс
11. Влияние стимуляции центральных κ-опиатных рецепторов селективными агонистами на возникновение адреналовых аритмий.	85 крыс
12. Устойчивость сердца к аритмогенному действию CaCl ₂ после стимуляции центральных κ-опиатных рецепторов.	32 крысы
13. Влияние атропина и гексаметония на антиаритмический эффект агонистов μ-опиатных рецепторов при периферическом введении на модели адреналовых аритмий.	87 крыс
14. Влияние блокады M-холинорецепторов на антиаритмический эффект селективного агониста μ-рецепторов DAGO и селективного агониста δ-рецепторов DTLET при интрацеребровентрикулярном введении на модели адреналовых аритмий.	86 крысы
15. Эффект блокады M-холинорецепторов на антиаритмическое действие неселективного агониста δ-опиатных рецепторов DADLE при CaCl ₂ -индуцированных аритмиях.	63 крысы
16. Воздействие ганглиоблокады гексаметонием на	90 крыс

проаритмогенный эффект агонистов κ -опиат-ных рецепторов при центральном введении на модели адреналовых аритмий.	
17. Влияние атропина и гексаметония на анти-аритмические свойства спирадолина на модели адреналовых аритмий (исследования выполнены совместно с Крылатовым А.В.)	85 крыс

Всего: 1245 крысы

Схема эксперимента с интрацеребровентрикулярным введением препаратов представлена на рис.1. Внутримозговая инъекция препаратов производилась за 30 мин до индукции аритмий, внутривенное или внутрибрюшинное введение лигандов опиатных рецепторов - за 15 мин. Атропин и гексаметоний вводили за 15 мин до инъекции опиоидов.

2.1. АДРЕНАЛОВЫЕ И CaCl_2 -ИНДУЦИРОВАННЫЕ МОДЕЛИ АРИТМИЙ

Аритмии моделировали при помощи внутривенного введения адреналина (90 мкг/кг) [90] или CaCl_2 (100 мг/кг) в бедренную вену животного под легким эфирным наркозом. Адреналин инфузировали за одну минуту. Хлорид кальция вводили за две минуты. В работе использовали 0,01% раствор адреналина и 10% раствор ампулированного хлористого кальция. Раствор адреналина готовили *ex tempore* из порошка адреналина гидрохлорида компании "Sigma" (США).

2.2. РЕГИСТРАЦИЯ И ОЦЕНКА НАРУШЕНИЙ РИТМА СЕРДЦА У КРЫС

Электрокардиограмму регистрировали во втором стандартном отведении в течение 5 мин после введения аритмогенного средства. Запись ЭКГ производили с помощью усилителя биологических потенциалов УПФ4-03 и IBM/AT/486, обработку данных производили полуавтоматическим способом при помощи оригинального пакета прикладных программ. При оценке нарушений сердечного ритма принимали во внимание только желудочковые формы аритмий (экстрасистолия, тахикардия, фибрилляция) (рис.2а,б). Менее 6 желудочковых экстрасистол, возникающих в течение 5 мин в расчет не брали, от 6 до 16 экстрасистол считали как единичные, более 16 экстрасистол оценивали как множественные желудочковые экстрасистолы.

2.3. МЕТОД ИНТРАЦЕРЕБРОВЕНТРИКУЛЯРНОГО ВВЕДЕНИЯ

Для интрацеребровентрикулярного введения лигандов опиатных рецепторов за 5-7 дней до индукции аритмий в боковой желудочек мозга крыс под барбитуровым наркозом (50 мг/кг внутривенно) имплантировали полую канюлю из нержавеющей стали, которую фиксировали на поверхности черепа с помощью стоматологического цемент-фосфата. Операция выполнялась при помощи стереотаксического аппарата СЭЖ-5 (НПО "Конструктор", Украина). При этом использовали следующие координаты: AP - 1.5 мм, L - +2.0 мм, V - 3.5 мм относительно брегмы [166].

2.4 ХАРАКТЕРИСТИКА ИСПОЛЬЗОВАННЫХ В РАБОТЕ ЛИГАНДОВ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Для изучения роли опиатных рецепторов в процессах регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям использовали селективные и неселективные лиганды опиатных рецепторов.

Активация μ -опиатных рецепторов производилась высокоселективными агонистами:

1) DAGO - ([D-Ala²,N-Me-Phe⁴,Gly⁵-ol]-enkephalin) (НПО "Вектор-Биопродукт"), способный легко проникать через гематоэнцефалический барьер [185] в дозе 10 мкг (20 нмоль) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении или 0.1 мг/кг [101] при внутривенном введении;

2) PLO17 (H-Tyr-Pro-N-Me-Phe-D-Pro⁴-NH₂) фирмы "Chiron Mimotopes Peptide Systems", San Diego США) в дозе 10.7 мкг (20 нмоль) на крысу при внутримозговом введении [185];

3) Dermorphine (ТОО "БиоПро", Новосибирск, Россия) в дозе 16 мкг (20 нмоль) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении [94,197];

4) DALDA ([D-Arg²,Lys⁴]dermorphin-(1-4)-amide), синтезированный профессором P.W. Schiller, (Lab. Chem. Biol. and Peptide Research, Clinical Res. Institute of Montreal, Канада) в дозе 13.3 мкг (20 нмоль) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении или 0.1 мг/кг при внутривенном введении [197].

Блокада μ -рецепторов осуществлялась селективным антагонистом СТАР (D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Pen-Thr-NH₂) в дозе 1 мкг на крысу при внутримозговой инъекции [102] или в дозе 1 мг/кг при внутривенном введении [126].

При выборе времени от момента инъекции до регистрации эффекта препарата, а также дозы каждого использованного соединения мы руководствовались литературными данными о дозозависимом анальгетическом и кардиотропных эффектах опиоидов [106].

В работе использовали агонисты и антагонисты δ -опиатных рецепторов компании "Chiron Mimotopes Peptide Systems" (San Diego, США):

1) селективный δ -агонист DTLET (H-Tyr-D-Thr-Gly-Phe-Leu-Thr-OH) в дозе 14 мкг (15 nmol) на крысу [241] при внутримозговом введении;

2) селективный агонист δ_1 -OP DPDPE (H-Tyr-D-Pen-Gly-Phe-D-Pen-OH) в дозе 10 и 50 мкг (15 и 80 nmol) на крысу [141];

3) селективный агонист δ_2 -OP DSLET (H-Tyr-D-Ser-Gly-Phe-Leu-Thr) в дозе 10 и 50 мкг (15 и 80 nmol) на крысу при введении в боковой желудочек мозга [75,91];

4) смешанный агонист μ - и δ -OP даларгин ([D-Ala², Leu⁵,Arg⁶]-enkephalin) в дозе 13 мкг на крысу при интрацеребровентрикулярном введении и 0.1 мг/кг при внутривенном введении [140];

5) неселективный агонист DADLE ([D-Ala²,D-Leu⁵]-enkephalin) [241] при внутримозговом введении использовали дозу 10 мкг (20 нмоль) на крысу и в дозе 0.1 мг/кг при внутривенном введении;

6) смешанный агонист μ - и δ -опиатных рецепторов (\pm)-4((α -R*)- α -((2S*,5R*)-4-Allil-2,5-dimethyl-1-piperazinyl)-3-гидроxybenzyl)-N,N-diethylbenzamide (BW 373U86) в дозе 0.5 мг/кг (0.8 nmol) [68,230];

7) селективный блокатор δ -опиатных рецепторов ICI 174,864 - (N,N-diallyl-Tyr-Aib-Aib-Phe-LeuOH([N,N-dial-lyl-Tyr¹,Aib^{2,3}]Leu-enkephalin)) в дозе 25 мкг (30 nmol) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении [75,91]. Блокатор δ -рецепторов является слабой органической кислотой, плохо растворимой в воде, поэтому в процессе растворения его подщелачивали 0,01 N раствором NaOH до pH 7,0.

Для активации κ -опиатных рецепторов использовали следующие агонисты:

1) неселективный κ_1 -агонист [D-Ala²]-dynorphin A1-13 (динорфин) (ОО "БиОПро", Новосибирск, Россия) в дозе 30 мкг (20 nmol) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении [116];

2) селективный агонист κ_1 -OP U-50,488 ({trans-3,4-dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]-benzeneacetamide}), любезно предоставленный док. P.F.VonVoigtlander (Upjohn Company, США) в дозе 35 мкг (100 nmol) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении [225] и при внутривенном введении в дозе 8 мг/кг ;

3) селективный агонист κ_1 -опиатных рецепторов U-2066E - (5a,7a,8b-(\pm)-3,4-dichloro-N-[7-(1-pyrrolidinyl)-1-oxaspiro-4,5]dec-8-yl]-benzeneacetamide [70] вводили внутрибрюшинно в дозе 8 мг/кг [225], предоставленный док. P.F.VonVoigtlander (Upjohn Company, США).

4) селективный высокоаффинный агонист κ_2 -ОР (\pm)-bremazocine (2-[1-hydroxy-cyclopropylmethyl]-5-ethyl-9,9-dimethyl-2'-hydroxy-6,7-benzomorphans [186,189] вводили в боковой желудочек мозга в дозе 10 мкг/крысу, при внутривенном введении использовали дозу 0.7 мг/кг. Этот препарат был синтезирован в Research Triangle Institute (Research Triangle Park, США).

В работе использовали селективный блокатор κ -ОР - нор-биналторфимин [174] синтезированный в Research Triangle Institute (Research Triangle Park, США) в дозе 10 мкг (14 нмоль) на крысу при интрацеребровентрикулярном введении [116].

Неселективный блокатор опиатных рецепторов налоксон использовали в дозе 20 мкг (55 nmol) на крысу при внутримозговом введении [146] или при внутривенном введении в дозе 0.2 мг/кг для блокады μ -рецепторов [147] и в дозе 2 мг/кг для блокады всех типов опиатных рецепторов [146].

2.5. МЕТОДЫ ФАРМАКОЛОГИЧЕСКОГО ИЗУЧЕНИЯ РОЛИ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ АНТИАРИТМИЧЕСКИХ ИЛИ ПРОАРИТМОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ ЛИГАНДОВ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

Роль вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических и аритмогенных эффектов лигандов опиатных рецепторов исследовали при помощи фармакологических методов. “Выключение” вегетативной нервной системы производили с помощью ганглиоблокатора гексаметония, который, как известно, блокирует периферические синапсы как парасимпатических, так и симпатических ганглиев [1,8,28]. Этот препарат вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг [8] за 15 мин до инъекции лигандов опиоидов.

Для “отключения” от эффектов парасимпатического звена вегетативной нервной системы на миокард использовали блокатор М-холинорецепторов атропин сульфат (компании "Sigma"), который вводили внутривенно в дозе 1 мг/кг за 15 мин до введения лигандов опиатных рецепторов. Атропин метилбромид (компании "Sigma"), не проникающий через гематоэнцефалический барьер, вводили внутривенно в дозе 0.5 мг/кг [181]. Для блокады центральных М-холинорецепторов производили интрацеребровентрикулярное введение атропина сульфата в дозе 20 мкг/крысу.

2.6. СТАТИСТИЧЕСКАЯ ОБРАБОТКА

Результаты исследования обработаны на персональном компьютере с использованием пакета прикладных программ STATGRAPHICS 3.0. Достоверность различий в выборках оценивали, используя параметрические (t-критерий Стьюдента) и непараметрические методы (метод χ^2 для качественных признаков) [6].

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. РОЛЬ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕРДЦА К АРИТМОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Как показал анализ литературных данных, вопрос о роли различных типов опиатных рецепторов в процессах аритмогенеза остается открытым. Сведения об антиаритмических или аритмогенных эффектах опиоидов - достаточно противоречивы [85, 90, 181, 182, 234]. Отсутствуют и четкие представления об участии опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, не ясна локализация (центральная или периферическая) рецепторов, участвующих в регуляции электрической стабильности сердца и не известны механизмы, опосредующие антиаритмические эффекты опиоидов.

Исходя из этого, мы попытались изучить роль периферических и центральных опиатных рецепторов μ , δ и κ - типов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, используя для этого системное или интрацеребровентрикулярное введение высокоселективных агонистов и антагонистов этих рецепторов на моделях адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий.

3.1.1. Резистентность сердца к аритмогенным воздействиям на фоне стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов

Как следует из рис.3, активация периферических μ -опиатных рецепторов их селективными агонистами (DAGO, DALDA, PL017), сопровождалась четко выраженным антиаритмическим эффектом. Так, в группе животных, получавших DAGO, на 58% увеличивалось число особей, абсолютно устойчивых к аритмогенным воздействиям адреналина. При этом желудочковые экстрасистолы и фибрилляция на фоне введения DAGO вообще не возникали, а частота встречаемости желудочковой тахикардии статистически значимо снижалась.

Стимуляция периферических μ -рецепторов с помощью внутривенного введения DALDA или PL017 вызывала аналогичный эффект. Эти лиганды, соответственно, на 63% и 74% вызывали повышение частоты случаев абсолютной устойчивости животных к аритмогенной дозе адреналина ($p < 0.001$), а также на 68% и 69% - снижение вероятности развития множественной желудочковой экстрасистолии и желудочковой тахикардии (рис.3). Таким образом, все использованные нами агонисты μ -рецепторов DAGO, DALDA, PL017, несмотря на различную химическую структуру, проявляли практически идентичную противоаритмическую активность, что является косвенным доказательством рецепторной специфичности обнаруженного эффекта.

Таким образом, все использованные нами агонисты μ -рецепторов DAGO, DALDA, PL017, несмотря на различную химическую структуру, проявляли практически идентичную противоаритмическую активность, что является косвенным доказательством рецепторной специфичности обнаруженного эффекта.

%

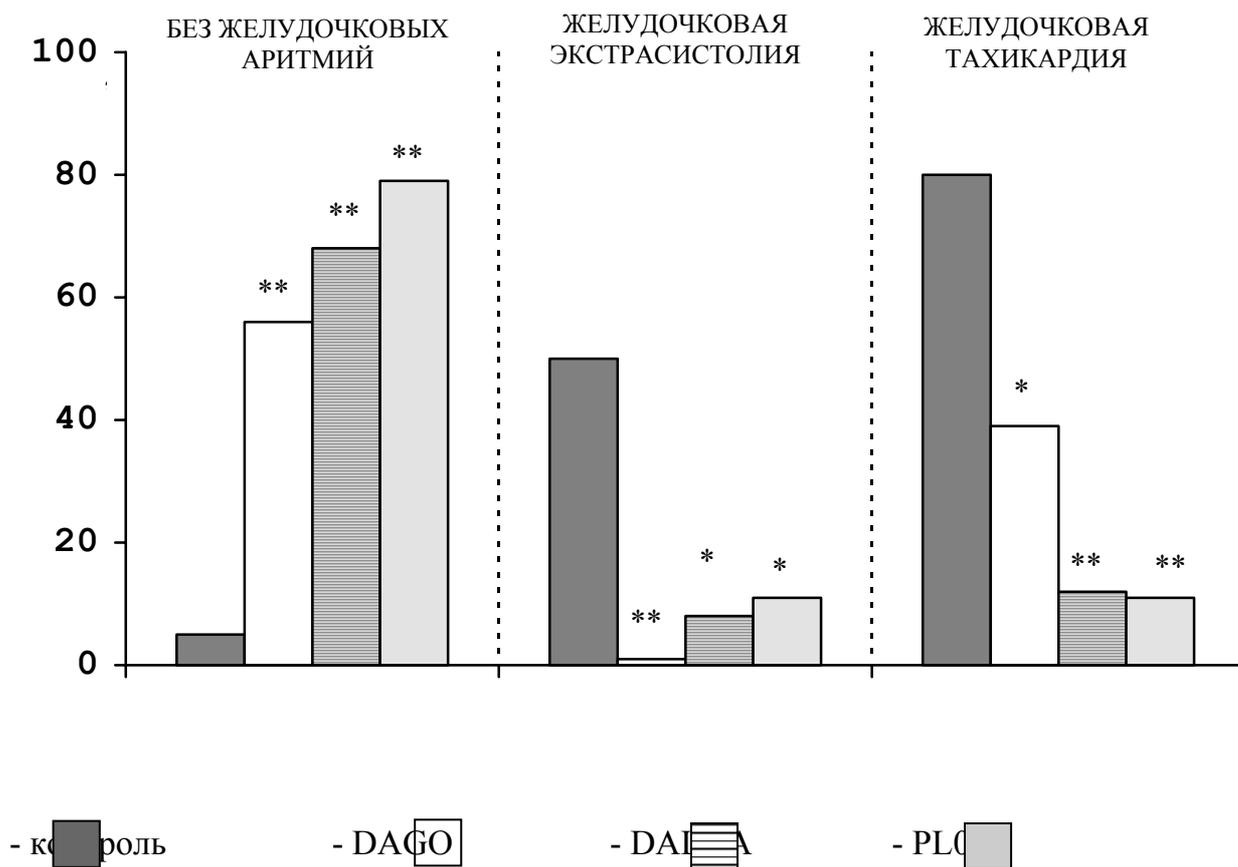


Рис.3. Резистентность сердца к аритмогенной дозе адреналина при стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов селективными агонистами.

Примечание: * - $p < 0.01$, ** - $p < 0.001$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). В каждой группе не менее 15 животных. По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Следует отметить, что ни один из вышеперечисленных эффектов не проявлялся после предварительной блокады μ -рецепторов налоксоном в дозе 0.2 мг/кг (достаточной для блокады только этого типа рецепторов [147] или селективным антагонистом СТАР (табл. 2).

Таблица 2

Устойчивость сердца к аритмогенной дозе адреналина после стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов

Группы животных	n	Количество животных				
		без ЖА n (%)	ЕЖЭ n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	34	3 (9)	1 (3)	13 (38)	15 (44)	2 (6)
DAGO (0.1 мг/кг)	18	10 ^{##} (56)	0	0 [#]	7 (39%)	0
DAGO + налоксон (0.2 мг/кг)	19	1 ^{***} (5)	4 ^{**} (21)	9 ^{***} (47)	14 ^{**} (73)	1 (7)
DALDA (0.1 мг/кг)	32	20 ^{##} (62)	1 (3)	2 [#] (7)	4 [#] (13)	4 (13)
DALDA + СТАР(1 мг/кг)	20	4 ^{**} (20)	6 [*] (30)	10 ^{***} (50)	10 ^{***} (50)	2 (10)
DALDA + налоксон	20	2 ^{***} (10)	2 (10)	9 ^{***} (45)	14 ^{***} (70)	0

Примечание. n - количество животных. Достоверность по отношению к контролю: # - $p < 0.05$, ## - $p < 0.001$; достоверность по отношению к группе животных, которым вводили DAGO или DALDA: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$.

Эти данные являются прямым доказательством того, что обнаруженные нами эффекты, являются специфическими, то есть антиаритмическое действие DAGO, DALDA и PL017 связано именно со стимуляцией периферических μ -опиатных рецепторов, а не является результатом неспецифического действия этих препаратов.

Использованные в данном исследовании антагонисты, не проявляли собственной проаритмогенной или антиаритмической активности (табл.3), что

позволяет предполагать отсутствие тонической регуляции процессов аритмогенеза со стороны эндогенных агонистов, воздействующих на периферические μ -рецепторы.

Таблица 3

Влияние блокады периферических μ -опиатных рецепторов на устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина

Группы животных	n	Количество животных				
		без ЖА n (%)	ЕЖЭ n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	20	1 (5)	1 (5)	10 (53)	16 (79)	4 (21)
налоксон (0.2 мг/кг)	20	3 (15)	1 (5)	9 (45)	13 (65)	3 (15)
СТАР (1 мг/кг)	20	3 (15)	1 (5)	9 (45)	16 (79)	3 (15)

Примечание: n - количество животных.

Итак, в настоящем разделе работы мы выяснили, что активация периферических μ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина.

Однако закономерно возникает вопрос каков механизм этого эффекта? Известно, что в развитии аритмий огромное значение придается феномену симпатикотонии, при котором наблюдается перегрузка кардиомиоцитов ионами кальция [33,54, 139, 153, 200].

Исходя из этого, мы решили исследовать роль периферических μ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к действию аритмогенной дозы хлорида кальция (100 мг/кг).

В результате экспериментов было обнаружено, что активация μ -рецепторов приводит к снижению частоты возникновения желудочковых аритмий в ответ на введение хлорида кальция (рис.4).

Наибольшей антиаритмической активностью в данной ситуации обладал DAGO, который уже в дозе 0.1 мг/кг на 68% увеличивал в группе число животных, абсолютно устойчивых к хлоридкальциевым аритмиям, и на 40% снижал частоту возникновения желудочковых экстрасистол (рис.4).

Такое повышение устойчивости сердца к аритмогенному воздействию хлорида кальция полностью предупреждалось предварительным введением налоксона в дозе 0,2 мг/кг, достаточной для избирательной блокады μ -опиатных рецепторов [147]) (табл.4). Это свидетельствует о том, что антиаритмический эффект опиоидных препаратов опосредуется через активацию μ -рецепторов. Учитывая неспособность использованных нами пептидов проникать через гематоэнцефалический барьер, можно говорить о периферической локализации вышеназванных рецепторов.

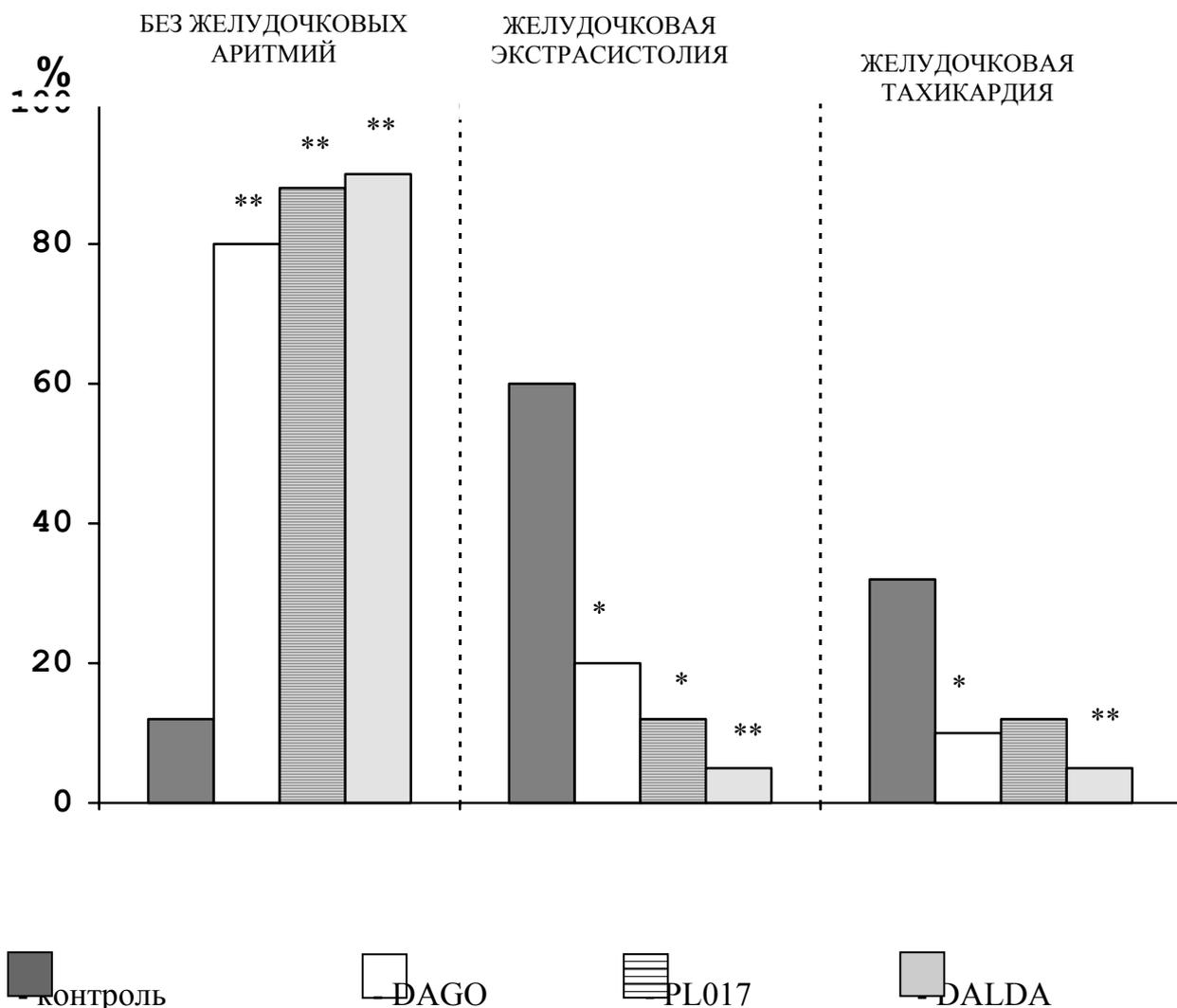


Рис.4. Устойчивость сердца к аритмогенной дозе хлорида кальция после стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов селективными агонистами.

Примечание: * - $p < 0.01$, ** - $p < 0.001$ - достоверность различий по отношению к контрольной группе животных, согласно критерию χ^2 . В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Для выяснения электрофизиологического механизма действия опиоидов мы провели анализ изменений ЭКГ у интактных животных в ответ на системное введение селективного μ -агониста DALDA.

Таблица 4.

Изменение устойчивости сердца при CaCl_2 -индуцированных аритмиях в ответ на стимуляцию и предварительную блокаду периферических μ -опиатных рецепторов

Группы животных	n	Количество животных			
		без ЖА n (%)	ЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	25	3(12)	15(60)	8(32)	5(20)
DAGO (0.1 мг/кг)	20	16**(80)	4*(20)	2(10)	4(20)
DAGO + налоксон	20	1(5)	13(65)	4(20)	2(10)
DALDA (0.1 мг/кг)	25	12*(48)	4*(16)	8(32)	2(8)
DALDA + налоксон	20	4(20)	9(45)	6(30)	2(10)
налоксон (0.1 мг/кг)	20	3(15)	12(60)	6(30)	3(15)

Примечание: * - $p < 0.01$, ** - $p < 0.001$. n - количество животных. Все препараты вводили внутривенно.

Оказалось, что при этом происходило снижение частоты сердечных сокращений с 353 ± 9 до 292 ± 13 уд/мин ($p < 0.001$) и удлинение интервала P-Q с 43.02 ± 0.66 до 57.52 ± 1.20 мс ($p < 0.001$). Такие изменения автоматизма и проводимости миокарда являются характерными для блокады кальциевых каналов [19] и косвенно свидетельствуют о способности агонистов опиатных рецепторов модулировать транспорт ионов кальция по каналам L-типа.

Сопоставляя результаты собственных исследований с литературными данными, можно предположить несколько возможных механизмов повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям при стимуляции периферических μ -рецепторов:

а) на системном уровне - опиатергическая модуляция тонуса вегетативной нервной системы;

б) на клеточном уровне - изменение активности вторичных мессенджеров.

Известно, что опиатные рецепторы располагаются как на пресинаптических мембранах симпатических нервных терминалей, иннервирующих миокард, так и непосредственно на сарколемме кардиомиоцитов [67,190,221]. В исследованиях ряда авторов [67,107,122] было установлено, что активация пресинаптических опиатных рецепторов вызывает ограничение выброса эндогенных катехоламинов из нервных терминалей, локализованных в сердечной мышце, ослабляя, тем самым, адренергическое влияние на миокард [67]. Неизбежным следствием подобного эффекта является повышение электрической стабильности сердца в условиях стресса, ишемии и реперфузии миокарда, то есть при тех воздействиях, когда имеет место гиперактивация симпато-адреналовой системы, играющей важную роль в процессах регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [23,137,192].

Вместе с тем, ряд наших экспериментов был выполнен на модели аритмий, индуцированных с помощью токсических доз экзогенного адреналина. Уместно предположить, что генез подобных нарушений сердечного ритма не связан с изменением синаптического выброса катехоламинов. Следовательно, пресинаптические опиатные рецепторы в этих условиях не должны играть определяющей роли в реализации антиаритмических эффектов опиоидных пептидов. Скорее всего, речь здесь может идти о воздействии опиоидов на рецепторы μ -типа, локализованные на сарколемме.

Вполне вероятно, что эти рецепторы через взаимодействие с ионными каналами могут модулировать электрогенез клетки. Так, известно, что μ -агонисты способны повышать активность АТФ-зависимых калиевых каналов [99] и уменьшать трансмембранный перенос ионов кальция [81]. Вышеназванные

эффекты, в свою очередь, потенциально направлены на повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [10,99].

Вторым потенциальным механизмом антиаритмического действия агонистов μ -ОР, как мы уже говорили, является их модулирующее воздействие на систему внутриклеточных мессенджеров. Известно, что в основе аритмогенного эффекта катехоламинов лежит активация аденилатциклазы и избыточная продукция цАМФ, а также цАМФ-зависимое усиление транспорта ионов кальция в саркоплазму [138]. Повышение уровня цАМФ в клетке уже само по себе является аритмогенным фактором [137, 138, 171, 192].

В то же время, известно, что опиатные μ -рецепторы способны взаимодействовать с системой внутриклеточных мессенджеров через G-белки [241,112]. При этом активация опиатных рецепторов сопровождается уменьшением активности аденилатциклазы и, соответственно, способствует снижению уровня внутриклеточного цАМФ. Кроме того, существуют данные, согласно которым энкефалины способны предупреждать изадриновое повреждение сердца и ингибировать увеличение уровня цАМФ в миокарде в ответ на введение изопротеренола [17]. Сопоставляя эти факты, можно предположить, что повышение устойчивости сердца к воздействию аритмогенных доз адреналина, наблюдаемое при стимуляции μ -рецепторов, может реализоваться через снижение активности аденилатциклазы в кардиомиоцитах.

Как следует из полученных нами результатов, активация μ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию не только токсических доз адреналина, но и CaCl_2 . Каков же механизм антиаритмического действия опиоидов в этой ситуации?

Известно, что нарушение баланса между поступлением ионов кальция внутрь клетки и переходом их во внеклеточное пространство или внутриклеточные депо способствует возникновению аритмий [138] за счет резкого снижения порога возбудимости кардиомиоцитов [10]. Вместе с тем, имеются данные о том, что опиоидные пептиды не только активируют аденилатциклазу, но и способны модулировать транспорт ионов кальция по медленным каналам кардиомиоцитов. Более того, согласно данным J.A.Ruth и L.B.Eiden (1984) [190], и антиадренергический эффект энкефалинов *in vitro* частично определяется

уменьшением трансмембранного переноса Ca^{2+} . Подобный эффект опиоидов может быть как результатом прямого взаимодействия соответствующих рецепторов с Ca^{2+} -каналами, так и следствием ингибирования процессов цАМФ-зависимого фосфорилирования этих каналов. В любом случае конечным результатом подобной опиатергической модуляции функционального состояния Ca^{2+} -каналов будет ограничение поступления Ca^{2+} в клетку.

Следует отметить, что хотя тонкие механизмы генеза адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий различны, в конечном итоге все использованные нами аритмогенные воздействия приводят к кальциевой перегрузке кардиомиоцитов с последующим возникновением аритмий по механизму триггерного автоматизма [138]. Следовательно, антиаритмический эффект стимуляции периферических μ -рецепторов может, хотя бы частично, быть обусловлен блокадой транспорта Ca^{2+} в клетку или результатом усиления работы Са-насосов, удаляющих избыток Ca^{2+} . Кроме того, дополнительным аргументом в пользу вышесказанного могут служить полученные нами данные, свидетельствующие, что активация периферических μ -опиатных рецепторов при помощи селективного агониста DALDA вызывает удлинение интервала PQ и брадикардию, что характерно для блокаторов кальциевых каналов [19].

Еще один механизм повышения электрической стабильности сердца под влиянием стимуляции периферических μ -ОР может быть, предположительно, связан с тем, что указанные рецепторы при их локализации на вагусных терминалях магистральных артерий легких и сердца выполняют функцию хеморецепторов [231]. Активация этих хеморецепторов способствует повышению тонуса парасимпатического отдела вегетативной нервной системы [231], что, как известно, обеспечивает повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [78, 83, 159]. Более подробно вопрос о роли вегетативной нервной системы в реализации опиатергического повышения резистентности сердца к аритмогенным воздействиям будет изложен в следующих разделах диссертации.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, в результате наших исследований было обнаружено, что периферические μ -опиатные рецепторы играют важную роль в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, так как фармакологическая стимуляция этих рецепторов способствует снижению частоты возникновения желудочковых нарушений сердечного ритма при адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмиях. Обнаруженный эффект обладает рецепторной специфичностью, поскольку полностью нивелируется после селективной блокады μ -рецепторов. Полученные результаты позволяют также предполагать отсутствие тонической регуляции электрической стабильности сердца со стороны эндогенных агонистов μ -рецепторов, так как блокада последних у интактных животных не влияла на характер и частоту индуцированных впоследствии аритмий. Анализ полученных результатов и сопоставление их с данными литературы позволяют предположить, что в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям важную роль играет способность опиоидов взаимодействовать с системой внутриклеточных мессенджеров. В то же время, имеющиеся в нашем распоряжении данные не позволяют нам исключить возможность участия вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических эффектов, связанных со стимуляцией μ -рецепторов.

3.1.2. Активация периферических δ -опиатных рецепторов и возникновение адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий

Как известно, наряду с μ -ОР, в сердце имеется достаточно представительная субпопуляция δ -рецепторов, расположенных на сарколемме кардиомиоцитов [221] и пресинаптических мембранах терминалей n.sympathicus [67, 106]. Такая локализация теоретически создает возможность агонистам δ -рецепторов, с одной стороны, модулировать выброс эндогенных катехоламинов [67], а с другой - ингибировать активность аденилатциклазы в клетках миокарда [240]. Это имеет немаловажное значение для опиатергической регуляции процессов, определяющих устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям, поскольку любое усиление адренергического влияния на миокард способствует возникновению нарушений сердечного ритма по цАМФ-зависимому механизму [138, 236]. Вместе с тем, опосредующая роль δ -ОР в регуляции электрической стабильности сердца до настоящего времени не изучена.

Исключением являются уже цитированные выше работы, посвященные изучению антиаритмических свойств неселективного агониста δ -рецепторов даларгина, который при системном введении предупреждал развитие адреналовых аритмий [140] и желудочковых нарушений ритма, возникающих при ишемии и реперфузии [140]. Исходя из этого, мы предположили, что стимуляция периферических δ -рецепторов может способствовать повышению резистентности сердца к аритмогенным воздействиям.

Для экспериментальной проверки данной гипотезы мы провели опыты с использованием внутривенного введения селективных агонистов δ -опиатных рецепторов DTLET и δ_2 -опиатных рецепторов DSLET, не проникающих через гемато-энцефалический барьер [241].

Как следует из табл.5, активация периферических δ -опиатных рецепторов при помощи DSLET (0.5 мг/кг за 15 мин до адреналина) или DTLET (0.1 и 0.5 мг/кг за 15 мин до адреналина) не приводила к статистически значимым изменениям устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина.

Блокада вышеупомянутых рецепторов селективным антагонистом ICI 174,864 также не оказывала существенных влияний на развитие и характер адrenaловых аритмий. Полученные результаты указывают на отсутствие предполагаемой нами тонической регуляции электрической стабильности сердца со стороны эндогенных агонистов δ -рецепторов.

Таблица 5

Устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина при стимуляции и блокаде δ -опиатных рецепторов селективными лигандами

Группы животных	n	Количество животных				
		Без ЖА n (%)	ЕЖЭ n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	25	3(12)	4(16)	14(56)	16(64)	2(8)
DSLET (0.5 мг/кг)	18	1(6)	1(6)	8(44)	15(83)	5(28)
DTLET (0.1 мг/кг)	17	2(12)	3(18)	6(35)	11(65)	1(6)
DTLET (0.5 мг/кг)	17	1(6)	1(6)	5(29)	15(88)	4(24)
ICI 174,864 (2,5 мг/кг)	20	3(15)	1(5)	9(45)	13(65)	3(15)

Примечание. n - количество животных. Все пептиды вводили внутривенно.

Отмеченная же выше способность неселективного агониста δ -рецепторов даларгина предупреждать адренал-индуцированные, ишемические и реперфузионные аритмии [140], связана, скорее всего, с активацией периферических μ -рецепторов. Такое умозаключение можно считать справедливым, исходя из того, что даларгин, как известно, может воздействовать как на δ -, так и на μ -опиатные рецепторы [13], а стимуляция последних, как правило, приводит к значительному повышению электрической стабильности сердца [17].

Таким образом, полученные результаты нашего исследования не подтвердили выдвинутую нами гипотезу о роли периферических δ -рецепторов в аритмогенезе.

Вместе с тем, возникает вопрос: почему агонисты δ -рецепторов, несмотря на их способность модулировать выброс эндогенных катехоламинов [67] и ингибировать активность аденилатциклазы в клетках миокарда [112, 239], не влияют на устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям? Вполне очевидно, что аритмогенное действие токсических доз вводимого извне адреналина не будет зависеть от секреции эндогенных катехоламинов. Следовательно, δ -опиатергическая модуляция выброса медиаторов из адренергических нервных окончаний, локализованных в миокарде, не может существенно повлиять на развитие аритмий в такой ситуации. Кроме того, стимулирующее воздействие высоких концентраций экзогенных катехоламинов на активность аденилатциклазы оказывается, видимо, настолько интенсивным, что способностью агонистов δ -рецепторов супрессировать естественное адренергическое усиление синтеза цАМФ в кардиомиоцитах [112, 239] можно смело пренебречь.

Вероятно, вышеперечисленные причины и лежат в основе неспособности δ -агонистов предупреждать адреналовые аритмии.

Необходимо отметить, что использованные нами соединения (DSLET, DTLET), оказавшиеся неэффективными в плане предупреждения адреналовых аритмий при внутривенном введении, не способны проникать через гематоэнцефалический барьер [53, 191]. Это дает нам основания считать, что периферические δ -рецепторы не играют существенной роли в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

Для доказательства этого предположения мы провели эксперименты с использованием δ -агониста BW373U86, способного проникать через ГЭБ [68, 230]. Стимуляция δ -рецепторов этим лигандом приводила к достоверному повышению электрической стабильности сердца (рис. 5).

Так, в группе животных, получавших BW373U86, процент животных, устойчивых к действию аритмогенной дозы адреналина, увеличился, по сравнению с контрольной группой, в 10 раз, а частота возникновения желудочковой тахикардии снизилась в 3 раза.

Возникает закономерный вопрос, почему же данный опиоид, в отличие от пептидов DSLET и DTLET, оказал антиаритмическое действие? Логично предположить, что антиаритмический эффект BW373U86 реализуется через центральные δ -рецепторы, поскольку стимуляция периферических δ -ОР, как мы уже указывали, не оказывала влияния на устойчивость сердца к адреналовым аритмиям (табл.5). Вместе с тем известно, что BW373U86 взаимодействует не только с δ -, но и с μ -рецепторами, хотя его аффинность по отношению к последним в 10 раз меньше [230]. Следовательно, антиаритмический эффект этого опиоида предположительно может быть связан и с активацией μ -рецепторов.

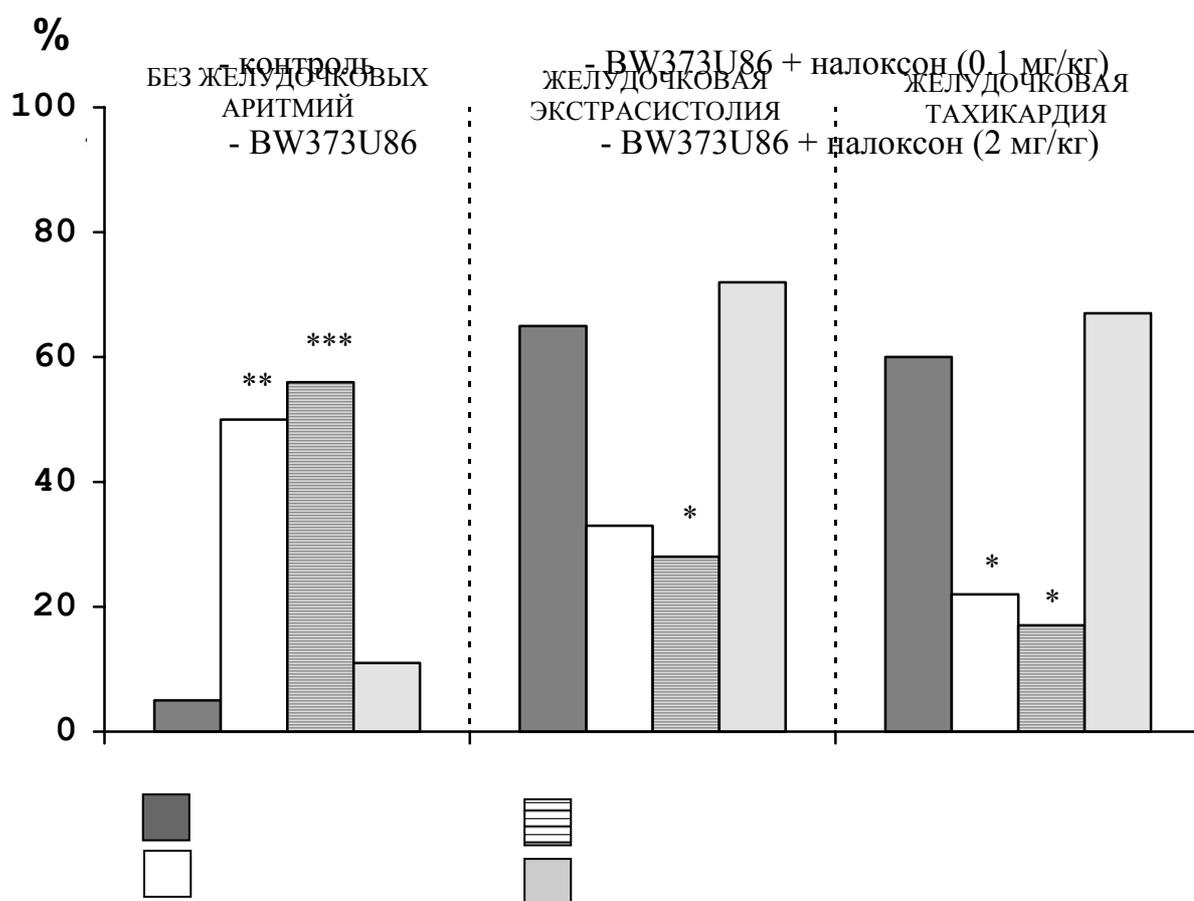


Рис.5. Влияние блокады опиатных рецепторов налоксоном на антиаритмический эффект преимущественного δ -агониста BW 373U86

Примечание: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ - достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). BW 373U86 вводили внутривенно в дозе 0.5 мг/кг. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Однако результаты наших исследований свидетельствуют, что неселективный блокатор опиатных рецепторов налоксон в дозе 0.2 мг/кг, в которой он взаимодействует только с μ -рецепторами [147], не ингибировал антиаритмический эффект вводимого BW373U86 (рис. 5).

Это позволяет нам отвергнуть гипотезу о том, что повышение устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина связано с активацией μ -рецепторов. При этом можно исключить участие как периферических, так и центральных μ -ОР, поскольку общеизвестна способность налоксона проникать через гемато-энцефалический барьер.

Исходя из полученных данных, можно предположить, что обнаруженное нами повышение резистентности сердца к аритмогенному действию адреналина после инъекции BW373U86 обусловлено активацией центральных δ -рецепторов.

Действительно, инъекция налоксона в дозе 2 мг/кг, достаточной для блокады всех типов опиатных рецепторов [146], полностью устраняла этот эффект BW 373U86 (рис. 5).

РЕЗЮМЕ

Результаты, представленные в настоящем разделе диссертации, свидетельствуют об отсутствии тонических влияний со стороны эндогенных агонистов μ -рецепторов на естественную устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям, так как блокада этих рецепторов селективным антагонистом не отражалась на частоте и характере индуцированных нарушений сердечного ритма. Повышение электрической стабильности сердца при использовании преимущественного δ -агониста BW373U86 не связано со стимуляцией периферических δ -ОР, а, скорее всего, определяется его активирующим воздействием на центральные δ -рецепторы.

Периферические δ -опиатные рецепторы, скорее всего, не играют существенной роли в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Роль центральных δ -опиатных рецепторов в этих процессах будет обсуждаться в следующей главе.

3.1.3. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и хлорида кальция при стимуляции периферических κ -опиатных рецепторов

Как известно, основным типом опиатных рецепторов в миокарде являются κ -рецепторы [221, 234]. Роль периферических κ -ОР в генезе нарушений сердечного ритма далеко не однозначна, и мы это отмечали в обзоре литературы. Результаты работ, выполненных на модели изолированного перфузируемого сердца, показывают, что κ -агонист динорфин оказывает аритмогенный эффект, устраняемый антагонистом опиатных рецепторов налоксоном [235], при этом сам антагонист обладает антиаритмическим свойством. Кроме того, динорфин потенцирует развитие ишемических аритмий при экспериментальной коронароокклюзии [238]. Однако другой группой исследователей было продемонстрировано, что селективный κ -агонист U-50,488 при острой ишемии миокарда проявляет антиаритмическое действие, которое авторы связывают с его неспецифическим мембраностабилизирующим действием [179].

Известно, что κ -опиатные рецепторы подразделяются на субтипы: κ_1 и κ_2 -рецепторы, в связи с этим в наших экспериментах мы использовали селективные агонисты κ_1 -ОР - спирадолин и U-50,488, а также селективный κ_2 -агонист бремазоцин. Как следует из рис. 6, в наших опытах активация периферических κ_1 -опиатных рецепторов селективным агонистом спирадолином (U-62066) (8 мг/кг внутрибрюшинно за 15 мин до адреналина) сопровождалась достоверным увеличением числа животных без нарушений сердечного ритма на 68% и снижением в 8 раз процента животных с желудочковой экстрасистолией.

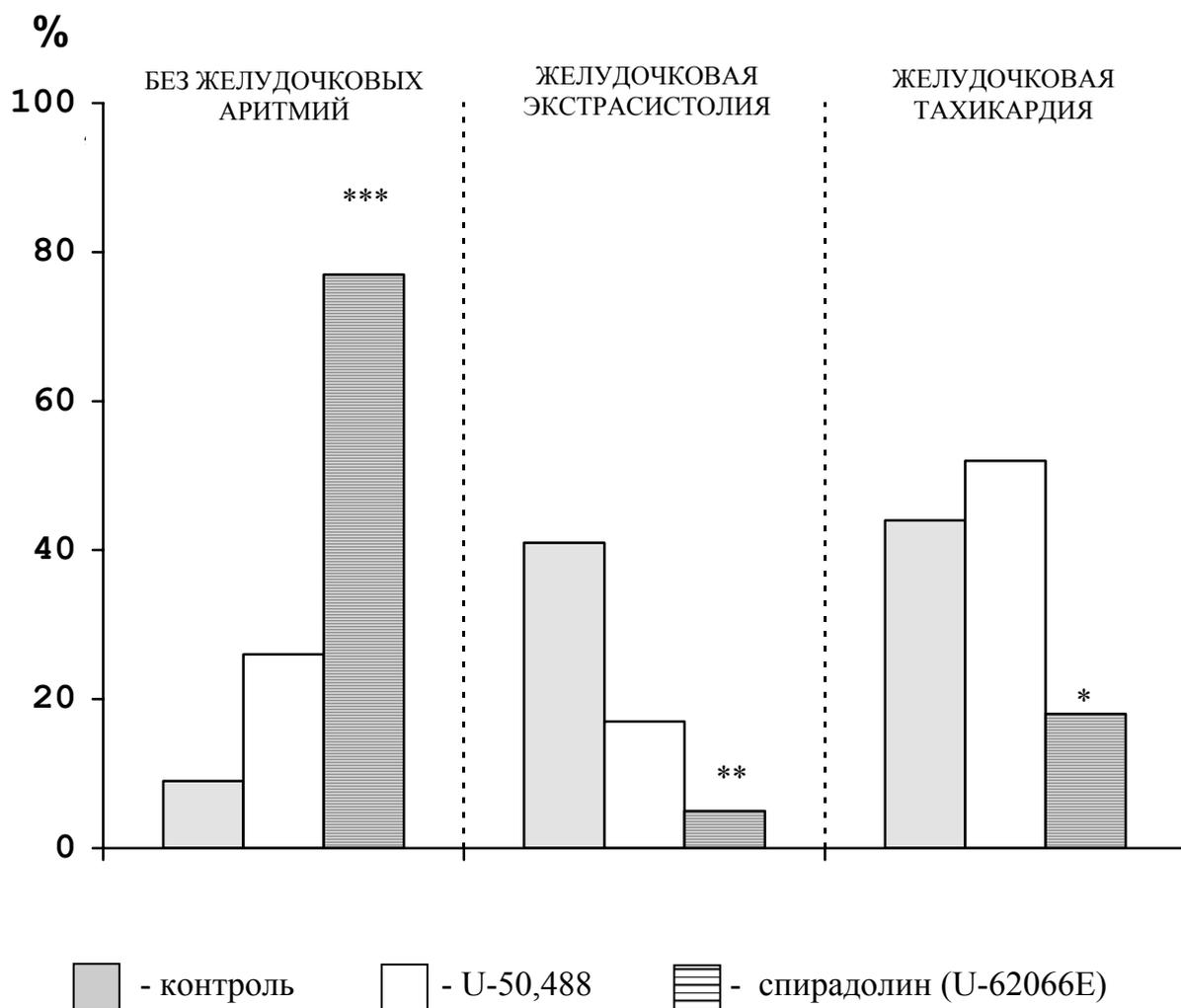


Рис.6. Устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина на фоне стимуляции периферических κ_1 -опиатных рецепторов.

Примечание. Достоверность по отношению к контролю: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ (метод χ^2). n - количество животных. Агонисты κ_1 -рецепторов вводили внутривенно в дозе 8 мг/кг. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Кроме того, использование данного препарата охарактеризовалось уменьшением частоты возникновения желудочковой тахикардии в 2 раза по отношению к контролю (введение физиологического раствора).

Другой агонист κ_1 -рецепторов U-50,488 (8 мг/кг внутривенно за 15 мин до адреналина), в использованной дозе, не оказывал в наших экспериментах достоверного антиаритмического влияния, хотя имелась отчетливая тенденция к уменьшению случаев экстрасистолии в группе (рис.6).

Известно, что этот агонист является высокоселективным лигандом для κ_1 -рецепторов, однако его аффинность к рецепторам уступает спирадолину, несмотря на сходную химическую структуру [225]. Вероятно, поэтому U-50,488 не оказывал, в указанной дозировке, заметного влияния на аритмогенный эффект адреналина.

Блокада κ -опиатных рецепторов селективным антагонистом нор-биналторфимином (НБФ) [174] (10 мг/кг внутривенно за 30 мин до адреналина и за 15 мин до инъекции опиоидов) полностью устраняла антиаритмическое действие спирадолина, что указывает на рецепторную специфичность эффекта κ -агониста (табл. 6).

Сам по себе норбиналторфимин оказался индифферентен по отношению к адренал-индуцированным аритмиям, что говорит об отсутствии тонической регуляции электрической стабильности сердца со стороны эндогенных агонистов κ -рецепторов (табл. 6). На основании полученных данных можно утверждать, что стимуляция периферических κ_1 -опиатных рецепторов повышает устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина.

Таблица 6

Устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина при стимуляции и предварительной блокаде периферических κ -опиатных рецепторов

Группы животных	n	Количество животных			
		Без ЖА n (%)	ЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	34	3(9)	14(41)	15(44)	2(6)

U-62066E (8 мг/кг)	22	17***(77)	1**(5)	4*(18)	0
НБФ (10 мг/кг)	19	0	8(42)	10(53)	1(5)
НБФ + U-62066E	20	3(15)	9(45)	15(75)	8(40)

Примечание. Достоверность по отношению к контролю: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ (метод χ^2). n - количество животных. Лиганды ОР вводили внутривенно.

Использование внутривенного введения селективного агониста (-)-бремазоцина (bremazocine) для стимуляции κ_2 -опиатных рецепторов снижало на 47% количество животных с развившейся желудочковой экстрасистолией, а также на 37% - частоту возникновения желудочковой тахикардии по сравнению с контрольной группой (рис. 7).

Чтобы дифференцировать специфический или неспецифический компоненты действия бремазоцина, мы в своих экспериментах использовали правовращающий изомер этого препарата, который практически не взаимодействует с опиатными рецепторами [186]. Оказалось, что данное соединение не проявляло ни антиаритмических, ни проаритмогенных свойств. Это свидетельствует о рецепторной специфичности антиаритмического эффекта агониста κ_2 -рецепторов (-)-бремазоцина (рис.7).

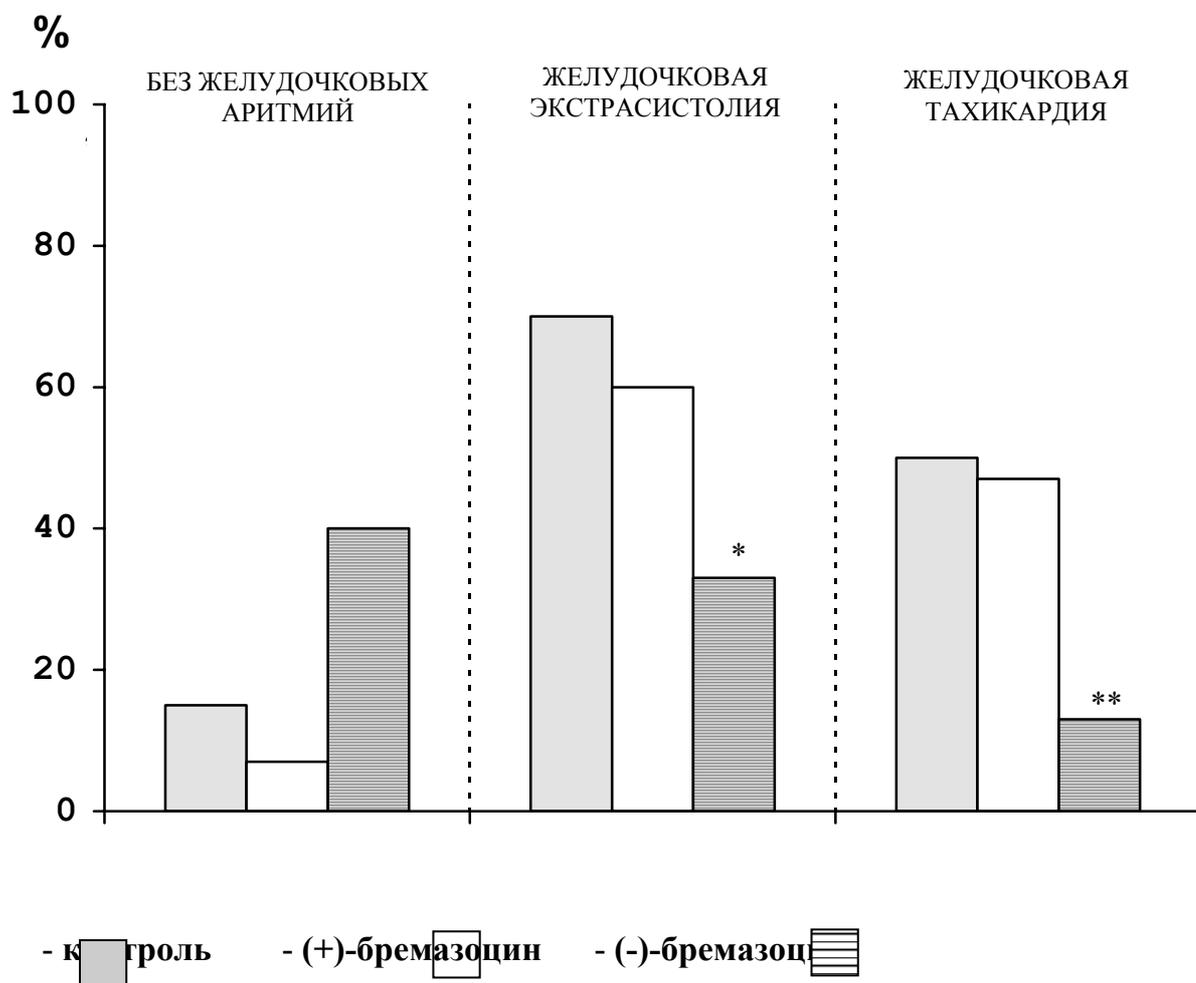


Рис.7. Устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина при стимуляции периферических κ_2 -опиатных рецепторов.

Примечание: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.025$ достоверное различие по сравнению с контрольной группой (метод χ^2). Агонисты κ_2 -рецепторов вводили внутривенно в дозе 0.7 мг/кг. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Таким образом, стимуляция периферических κ_2 -рецепторов также повышает устойчивость сердца к аритмогенному воздействию адреналина.

Подобные же исследования мы провели на модели CaCl_2 -индуцированных аритмий, поскольку, как мы уже отмечали, избыточное поступление ионов кальция в кардиомиоциты играет патогенную роль в развитии аритмий [10].

Как и в случае с аритмиями, вызванными аритмогенной дозой адреналина, антиаритмические свойства проявляются при внутривенном введении только у спирадолина (U-62066E). Стимуляция κ_1 -рецепторов спирадолином способствовала снижению частоты возникновения желудочковой экстрасистолии в 4 раза (рис. 8).

Однако на данной модели аритмий противоаритмическое действие спирадолина оказалось менее эффективным, поскольку не происходило снижение частоты возникновения злокачественных нарушений желудочного ритма (тахикардии), как при адренал-индуцированных аритмиях. Из этого следует, что агонист периферических κ_1 -рецепторов спирадолин эффективнее предупреждает развитие адреналовых аритмий, что, вероятно, связано с его механизмом действия. Другой селективный агонист κ_1 -опиатных рецепторов U-50,488 не влиял на развитие хлоридкальциевых аритмий (рис. 8).

Предварительная блокада κ -рецепторов антагонистом нор-биналторфимином полностью устраняла повышение электрической стабильности сердца, вызванное спирадолином, что указывает на рецепторную специфичность действия этого κ_1 -агониста (табл. 7). Однако сама блокада κ -рецепторов нор-биналторфимином не вызывала каких-либо изменений в генезе хлоридкальциевых аритмий (табл. 7).

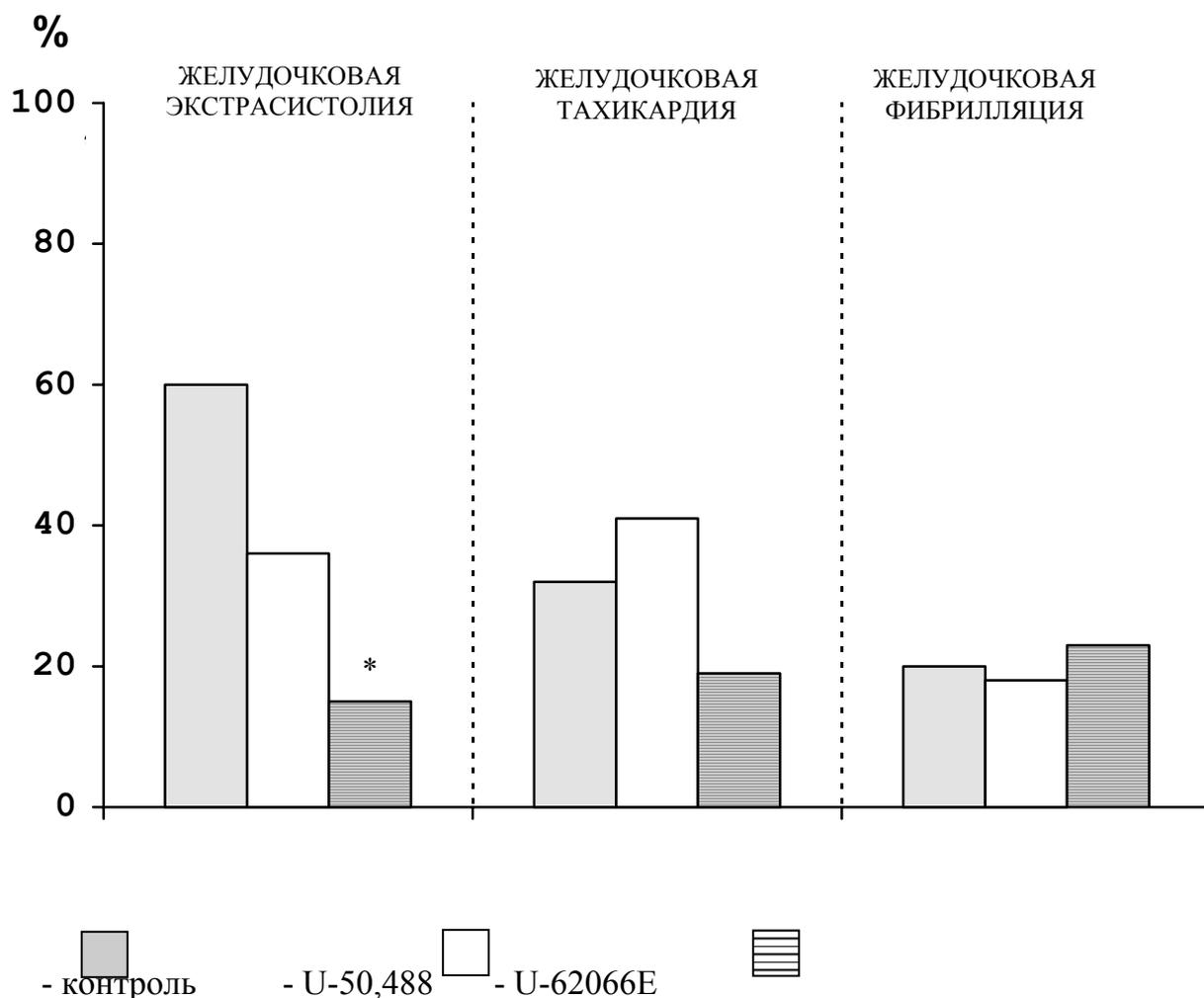


Рис.8. Устойчивость сердца к аритмогенному действию хлорида кальция при стимуляции периферических κ_1 -опиатных рецепторов.

Примечание. Достоверность по отношению к контролю: *- $p < 0.001$ (метод χ^2).

Агонисты κ_1 -рецепторов вводили внутривенно в дозе 8 мг/кг. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Полученные результаты наглядно демонстрируют то, что стимуляция периферических κ_1 - и κ_2 -рецепторов имеет своим следствием повышение устойчивости сердца к аритмогенным эффектам как адреналина, так и избытка

ионов кальция в цитоплазме кардиомиоцитов. Каков же механизм антиаритмического действия агонистов κ_1 - и κ_2 -опиатных рецепторов? Анализируя собственные результаты и данные литературы можно предположить несколько путей реализации этих эффектов.

Таблица 7

Устойчивость сердца к аритмогенному действию хлорида кальция при стимуляции и блокаде периферических κ -опиатных рецепторов

Группы животных	n	Количество животных		
		ЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	25	15(60)	8(32)	5(20)
U-62066E (8 мг/кг)	26	4*(15)	5(19)	6(23)
НБФ (10 мг/кг)	19	8(42)	10(53)	1(5)
НБФ + U-62066E	20	9(45)	15(75)	8(40)

Примечание: n - количество животных. * - $p < 0.001$ по сравнению с контрольной группой. Лиганды опиатных рецепторов вводили внутрибрюшинно.

Во-первых, это может быть связано с прямым влиянием агонистов κ -рецепторов на миокард, поскольку, известно, что последние являются преобладающими субпопуляциями ОР в сердце [221,234]. Как уже отмечалось в предыдущих главах, основными факторами, вызывающими адренал-индуцированное снижение электрической стабильности сердца, являются избыточная продукция внутриклеточного цАМФ в кардиомиоцитах и последующее цАМФ-зависимое увеличение содержания внутриклеточного Ca^{2+} [171, 172,156].

При моделировании хлоридкальциевых аритмий избыточное поступление внеклеточного Ca^{2+} в миоплазму кардиомиоцитов происходит в результате значительного повышения этих ионов в крови. При этом уменьшается потенциал покоя мембран клеток миокарда [10] и снижается порог возбудимости кардиомиоцитов, что способствует появлению очагов эктопической активности [10]. На основании вышеизложенного можно предположить, что опиатергическое ослабление аритмогенного действия адреналина и экзогенного кальция может происходить в результате к-ОР-зависимого ингибирования аденилатциклазы [112,240], или за счет уменьшения входа Ca^{2+} в кардиомиоциты [224].

Из литературных данных известно, что агонисты опиатных рецепторов подавляют активность аденилатциклазы. Это, в свою очередь, приводит к снижению уровня внутриклеточного цАМФ [112,224]. Кроме того, существуют данные, согласно которым энкефалины способны предупреждать изадринное повреждение сердца и ингибировать увеличение уровня цАМФ в миокарде в ответ на введение изопротеренола, что также сопровождается повышением в сердечной мышце уровня цГМФ [17,140], который, как общеизвестно, является физиологическим антагонистом цАМФ. Возможно, что агонисты к-рецепторов способны ингибировать катехоламин-индуцированное повышение активности миокардиальной аденилатциклазы и в наших экспериментах.

Кроме того, мы уже говорили, что при моделировании хлоридкальциевых аритмий агонист к-рецепторов (спирадолин) оказался менее эффективным, чем при адреналовых нарушениях сердечного ритма. Это можно считать еще одним косвенным доказательством того, что в реализации антиаритмического эффекта к-агонистов большую роль играет аденилатциклазный механизм.

Вместе с тем, известно, что агонисты к-рецепторов способны увеличивать потенциал покоя в изолированной папиллярной мышце [224], а также снижать уровень ионизированного кальция в цитоплазме кардиомиоцитов [224], что, как известно, может способствовать повышению электрической стабильности миокарда [138,156].

Наши предположения подтверждаются данными других исследователей. Так, известно, что селективный агонист κ_1 -рецепторов U-50,488 также вызывает

снижение уровня ионов кальция в цитоплазме клеток сердца [224]. Кроме того, в этих же экспериментах авторами было обнаружено увеличение содержания инозитолтрифосфата в изолированных кардиомиоцитах при добавлении U-50,488 в перфузионный раствор, что, как известно, вызывает освобождение ионов кальция из внутриклеточных депо [128, 224].

Еще одним фактором, повышающим электрическую стабильность сердца, может явиться опиатергическое уменьшение входа ионов кальция в саркоплазму из внеклеточного пространства. В процессе анализа параметров ЭКГ после системного введения агонистов к-рецепторов мы убедились, что стимуляция последних сопровождается достоверным увеличением интервала P-Q (табл. 8), а это, как известно, характерно для блокаторов кальциевых каналов [19].

Таблица 8

Показатели ЭКГ на фоне стимуляции κ_1 -рецепторов при помощи селективного агониста спирадолина

	До введения спирадолина	после введения спирадолина		
		5 мин	10 мин	15 мин
ЧСС	361±4.5	348±6.1	351±7.8	352±5.8
PQ	40.4±0.65	43.0±0.8*	44.55±0.86**	46.2±0.85**
PR	52.6±0.75	55.4±0.8*	58.55±0.92**	59.8±0.83**
QS	21.3±0.38	20.4±0.32	21.1±0.37	21.6±0.37
QT	42.1±0.6	42.0±0.54	43.5±0.53	44.1±0.65*

Примечание: * - $p < 0.05$; ** - $p < 0.001$ достоверность по отношению к контролю (t-критерий Стьюдента). В минутах указано время, через которое производили повторную регистрацию ЭКГ. В каждой группе было по 17 животных. Введение препарата внутривнутрибрюшинное (8 мг/кг).

Наряду с этим, активация κ -ОР в наших опытах вызывала одновременное увеличение интервала Q-T, что является показателем ингибирования K^+ -тока [19].

Таким образом, связанное со стимуляцией периферических κ_1 - и κ_2 -опиатных рецепторов повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, по всей видимости, осуществляется следующим образом. С одной стороны, ингибируется активность аденилатциклазы, что приводит к уменьшению уровня цАМФ в кардиомиоцитах. С другой стороны, блокируются медленные Ca^{2+} -каналы и активируется синтез инозитолтрифосфата, который стимулирует выброс ионов кальция в саркоплазму из внутриклеточных депо. В результате, внутриклеточные депо кальция еще до начала аритмогенного воздействия оказываются истощенными. По-видимому, одновременно усиливается и $Na^+ - Ca^{2+}$ обмен.

Все это приводит к снижению уровня кальция в кардиомиоцитах. Следовательно, аритмогенная доза адреналина оказывает свое действие на фоне сниженного содержания цАМФ и Ca^{+2} в кардиомиоцитах. Кроме того, поступивший в цитоплазму кальций после стимуляции адренорецепторов активно "закачивается" в саркоплазматический ретикулум, поскольку внутриклеточные депо кальция свободны. Все вышеперечисленные факторы способствуют повышению электрической стабильности сердца при стимуляции периферических κ -рецепторов.

В то же время не исключена и возможность участия вегетативной нервной системы в механизмах повышения естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, поскольку известно, что κ -ОР расположены непосредственно на пресинаптических мембранах симпатических и холинергических нервных терминалей [67], иннервирующих миокард. Роль же вегетативной нервной системы в регуляции сердечного ритма в настоящее время ни у кого не вызывает сомнений [78, 83, 159]. Более подробно вопрос о механизмах взаимодействия вегетативной нервной системы и субпопуляции κ -рецепторов в

процессе формирования естественной резистентности сердца к аритмогенным воздействиям будет изложен в следующих разделах диссертации.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, результаты наших исследований показывают, что периферические κ_1 - и κ_2 -опиатные рецепторы играют важную роль в повышении резистентности сердца к аритмогенным воздействиям, так как стимуляция этих рецепторов способствует снижению частоты возникновения и тяжести желудочковых нарушений сердечного ритма при адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмиях. Однако антиаритмическая активность κ -агониста спирадолина при адренал-зависимых аритмиях оказалась более высокой, чем при использовании CaCl_2 -модели, что, вероятно, связано с преобладанием аденилатциклазного компонента в механизме его действия. Обнаруженный эффект повышения электрической стабильности сердца является рецептор-специфическим, так как селективная блокада κ -ОР полностью отменяла антиаритмический эффект их стимуляции. Однако сама по себе блокада κ -рецепторов не влияет на развитие как адреналовых, так и CaCl_2 -индуцированных аритмий, что позволяет исключить участие эндогенных агонистов κ -рецепторов в процессах тонической регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

Наиболее вероятным механизмом влияния агонистов κ -рецепторов на степень устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина или хлорида кальция является, на наш взгляд, их способность к взаимодействию с системой внутриклеточных мессенджеров. Вполне возможно, что κ -агонисты способны подавлять активность аденилатциклазы и снижать уровень внутриклеточного кальция путем блокады транспорта Ca^{2+} в клетку, либо усиливая работу Са-насосов, удаляющих избыток Ca^{2+} из цитоплазмы кардиомиоцитов. В то же время нельзя исключать и возможное участие вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических эффектов, имеющих место после стимуляции κ -рецепторов.

3.2. ЗНАЧЕНИЕ ЦЕНТРАЛЬНЫХ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПРОЦЕССАХ РЕГУЛЯЦИИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕРДЦА К АРИТМОГЕННЫМ ВОЗДЕЙСТВИЯМ

Хорошо известно, что в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям огромную роль играет центральная нервная система. Из клинических наблюдений была обнаружена взаимосвязь между повреждением и раздражением различных структур головного мозга с одной стороны и нарушениями сердечного ритма с другой [43]. Так, например, при раздражении и повреждении коры головного мозга наблюдали брадикардию, неполную атриовентрикулярную блокаду, предсердные экстрасистолы [43]. При раздражении гипоталамуса и четверохолмия, где расположены высшие вегетативные центры, наблюдали желудочковые нарушения сердечного ритма [145]. Вместе с тем, известно, что опиатные рецепторы широко представлены в головном мозге, в том числе и в тех структурах мозга, которые регулируют функциональное состояние сердечно-сосудистой системы [39,127,167,211]. Сопоставление этих фактов, позволило нам предположить, что центральное звено опиатергической системы может играть значительную роль в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Из литературы известно, что агонисты опиатных рецепторов, проникающие через гемато-энцефалический барьер морфин, фентанил, мептазиол при внутривенном введении уменьшают частоту и длительность желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции в условиях острой ишемии миокарда [85,90].

Однако в литературе еще не сложились ясные представления о роли различных типов центральных опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Кроме того, большое значение для понимания природы опиатергической регуляции этих процессов, по нашему мнению, имеет учет проницаемости гематоэнцефалического барьера для опиоидов, поскольку эффекты, связанные с активацией центральных или периферических опиатных рецепторов могут быть различными. В связи с этим, мы решили

исследовать значение центральных μ -, δ - и κ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

3.2.1. Резистентность сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и хлорида кальция на фоне стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов

Для стимуляции центральных μ -рецепторов мы использовали интрацеребровентрикулярное введение селективных μ -агонистов: DAGO, DALDA и PL017.

Как следует из рис.9, активация центральных μ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к воздействию аритмогенной дозы адреналина. Так, при введении селективного агониста μ -опиатных рецепторов DAGO в боковой желудочек мозга на 27% увеличилось количество животных абсолютно устойчивых к адреналовым аритмиям, тогда как в группе контроля практически у всех животных развивались желудочковые нарушения ритма. Кроме того, у животных, получавших DAGO, в 2 раза снизилась частота возникновения желудочковой экстрасистолии, а наиболее тяжелые формы желудочковых аритмий - тахикардия и фибрилляция - не возникали.

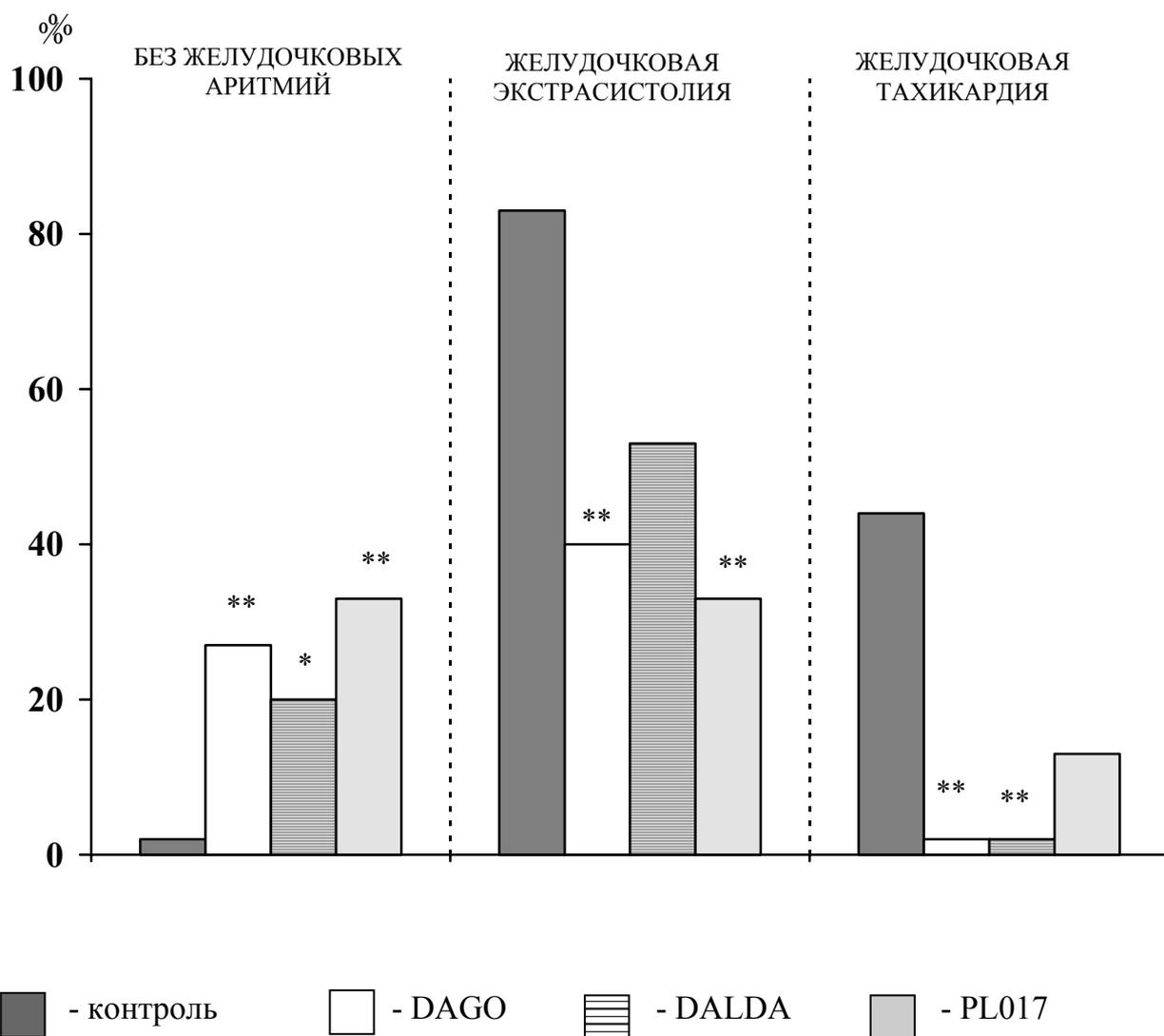


Рис. 9. Резистентность сердца к аритмогенной дозе адреналина при стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов селективными агонистами.

Примечание: * - $p < 0.025$, ** - $p < 0.01$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). Агонисты μ -рецепторов (DAGO, DALDA, PL017) вводили в боковой желудочек мозга в дозе 20 нмоль. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Стимуляция центральных μ -рецепторов другим селективным агонистом DALDA также способствовала предупреждению развития желудочковой тахикардии и фибрилляции в ответ на введение адреналина ($p < 0.01$), при этом

наблюдалась четкая тенденция к уменьшению процента животных с желудочковой экстрасистолией (рис.9). Активация опиатных рецепторов μ -типа с помощью селективного агониста PLO17 также приводила к повышению устойчивости миокарда к аритмогенным воздействиям (рис.9). Введение этого препарата в боковой желудочек мозга способствовало увеличению процента животных без нарушений сердечного ритма на 33%, а также в два раза уменьшало процент животных с желудочковой экстрасистолией (рис.9).

Эти данные наглядно свидетельствуют о том, что все использованные нами селективные агонисты μ -опиатных рецепторов независимо от своей химической структуры повышали резистентность миокарда к действию аритмогенных факторов, что косвенно свидетельствует о рецепторной специфичности обнаруженного нами эффекта. Различная антиаритмическая активность пептидов, возможно, связана с тем, что DAGO отличается от DALDA и PL017 более высокой липофильностью [197], что, по-видимому, позволяет ему глубоко диффундировать в стенки желудочков головного мозга и связаться с большим количеством рецепторов. Полученные нами результаты согласуются с данными Rabkin [181,182], который также обнаружил увеличение устойчивости миокарда к аритмогенному действию адреналина при интрацеребровентрикулярном введении других агонистов μ -опиатных рецепторов (морфина и морфицептина). Эти факты позволяют нам утверждать, что активация центральных μ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному воздействию адреналина. Использование разных моделей аритмий позволяет выявить некоторые механизмы повышения электрической стабильности сердца. Исходя из этой предпосылки, мы попытались выяснить, как влияет стимуляция центральных μ -опиатных рецепторов на устойчивость сердца к другим аритмогенным воздействиям, например, к CaCl_2 -индуцированным аритмиям. Как видно из рис.10, наиболее активный в предупреждении адреналовых аритмий μ -агонист DAGO, оказался в данном случае индифферентен, не предупреждал, и не потенцировал аритмии, индуцированные аритмогенной дозой хлорида кальция. Активация же центральных μ -рецепторов селективным лигандом DALDA, напротив, потенцировала аритмогенное действие CaCl_2 . При введении этого лиганда

повышалась частота возникновения желудочковой тахикардии на 28% по сравнению с группой контроля (рис.10).

Почему же центральное введение DALDA потенцирует хлоридкальциевые аритмии? Для того, чтобы ответить на этот вопрос, мы попытались сопоставить результаты наших собственных исследований с имеющимися в литературе данными о кардиоваскулярных эффектах опиоидов.

Общеизвестно, что активация одних и тех же опиатных рецепторов, но в различных структурах головного мозга может приводить к разным физиологическим эффектам, вплоть до противоположного [86,130,144,170]. Можно предположить, что выявленные нами различия между эффектами DAGO и DALDA связаны с их различной химической структурой и липофильностью этих пептидов [197]. Как мы уже отмечали, DAGO является более липофильным соединением [197] и, по-видимому, способен более глубоко диффундировать из боковых желудочков в ткань мозга. Вероятно, эти два пептида взаимодействуют с μ -рецепторами в различных структурах мозга, что и приводит к разным физиологическим эффектам. Однако это только предположение, требующее отдельных доказательств.

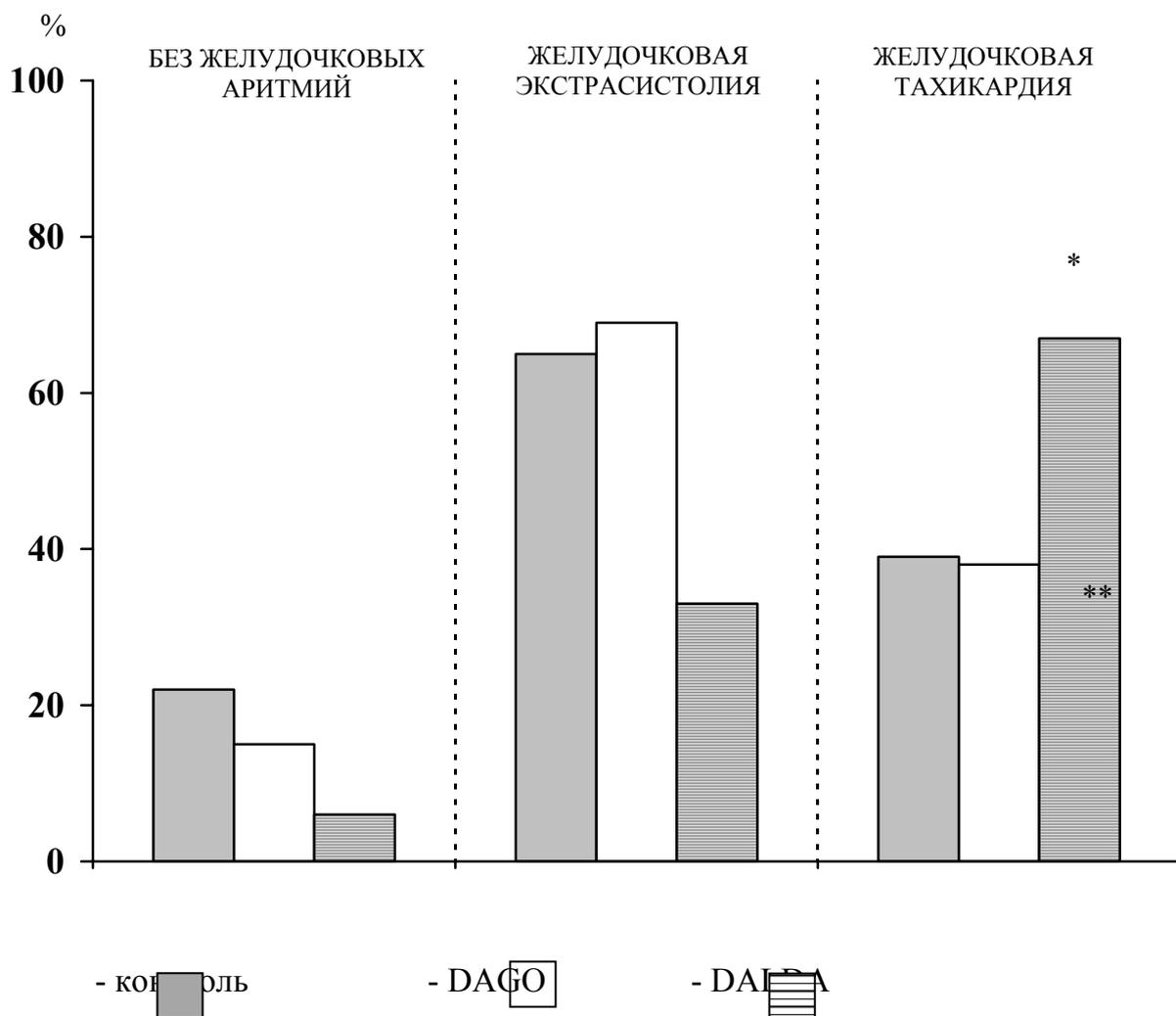


Рис. 10. Резистентность сердца к аритмогенной дозе хлорида кальция при стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов селективными агонистами.

Примечание: * - $p < 0.05$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). Агонисты μ -рецепторов (DAGO, DALDA) вводили в боковой желудочек мозга в дозе 20 нмоль. В каждой группе не менее 15 животных. По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Механизм обнаруженных нами антиаритмического или, наоборот, проаритмогенного эффектов, связанных со стимуляцией центральных μ -

рецепторов, при моделировании адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий, пока остается неизвестным. Внутримозговое введение лигандов опиатных рецепторов исключает эффект прямого влияния опиоидов на рецепторы миокарда, поскольку в боковой желудочек мозга мы вводили пептиды в весьма незначительных дозировках (20 pmol).

Кроме того, гемато-энцефалический барьер практически не проницаем для опиоидных пептидов [154,155], поэтому поступление использованных нами опиоидов из ликвора в общий кровоток можно исключить. Следовательно, воздействие лигандов опиатных рецепторов на функциональное состояние сердца может осуществляться только опосредованно, через влияние на вегетативные центры головного мозга, либо через какие-то гуморальные факторы. Исходя из вышесказанного, мы предположили, что увеличение резистентности миокарда к аритмогенным воздействиям при стимуляции центральных морфиновых рецепторов связано с торможением симпатической активности, либо с активацией тонуса парасимпатической нервной системы, функциональная уравновешенность этих двух отделов вегетативной нервной системы во многом предопределяет электрическую стабильность сердца [4,92].

Если предположить, что повышение резистентности сердца к аритмогенным воздействиям, сопровождающее активацию центральных μ -рецепторов реализуется через их влияние на вегетативную нервную систему (усиление тонического влияния вагуса на миокард или снижение симпатической активности), то индифферентность DAGO при CaCl_2 -индуцированных аритмиях вполне объяснима. Известно, что аритмогенный эффект катехоламинов связан с активацией аденилатциклазы и увеличением уровня внутриклеточного цАМФ, а также с цАМФ-зависимым усилением поступления ионов кальция в саркоплазму [137,138,156,171]. Возможно, опиатергическое повышение функциональной активности парасимпатической нервной системы приводит к освобождению ацетилхолина из терминалей вагуса в миокарде с последующей активацией периферических М-холинорецепторов [4,16]. М-холинорецепторы, как известно, через G-белки связаны с аденилатциклазой и способны ее ингибировать [4,16]. В связи с этим, снижается образование эндогенного аритмогенного фактора - цАМФ [80,138], и повышается устойчивость сердца к аритмогенному воздействию

[138,192]. При CaCl_2 -индуцированных аритмиях аритмогенный эффект связан с накоплением ионов кальция в кардиомиоцитах, которые “запускают” ряд процессов, приводящих к повышению проницаемости сарколеммы для различных ионов [73]. В результате чего происходит снижение электрической стабильности миокарда [33].

По данным некоторых исследователей [107], при стимуляции центральных μ -рецепторов, с помощью интрацеребровентрикулярного введения DAGO наблюдается одновременное увеличение тонической активности *p.vagus* и симпатического отдела вегетативной нервной системы. Вполне очевидно, что в условиях введения токсических доз адреналина избыточная DAGO-индуцированная секреция эндогенных катехоламинов не может оказать сколь-нибудь значимый эффект на характер адреналовых аритмий. В этом случае ключевое значение приобретает опиатергическое повышение тонуса *p.vagus*, которое предопределяет повышение резистентности миокарда к аритмогенному действию адреналина в условиях стимуляции центральных μ -рецепторов. При моделировании CaCl_2 -индуцированных аритмий наблюдается прямо противоположная ситуация. В этом случае ключевое значение приобретает μ -рецептор-зависимое повышение активности симпатoadреналовой системы, что способствует усилению адренергических эффектов CaCl_2 . Исходя из этих предпосылок, нам представляется уместным предположить, что прямо противоположные эффекты агонистов μ -опиатных рецепторов на устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям в условиях моделирования адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий связаны со способностью этих пептидов активировать оба отдела вегетативной нервной системы.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, проведенные нами экспериментальные исследования показали, что центральные μ -опиатные рецепторы играют важную роль в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, так как стимуляция этих рецепторов повышает устойчивость сердца к адренал-индуцированным

аритмиям и в то же время потенцирует аритмогенный эффект CaCl_2 . Представленные в этом разделе данные не позволяют нам детально обсудить роль вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических эффектов, связанных со стимуляцией центральных μ -рецепторов. Более подробно этот вопрос будет изложен в следующих разделах диссертации.

3.2.2. Воздействие активации центральных δ -опиатных рецепторов на возникновение нарушений сердечного ритма, вызванных адреналином и CaCl_2

В литературе мы не встречали данных о роли центральных δ -опиатных рецепторов в аритмогенезе. Однако существуют данные о том, что δ -рецепторы делятся на субтипы: δ_1 -и δ_2 -рецепторы [9], которые способны вызывать разные физиологические ответы [9]. В предыдущем исследовании мы обнаружили, что стимуляция периферических δ -рецепторов не влияет на развитие адреналовых и CaCl_2 -индуцированных аритмий, однако преимущественный агонист δ -рецепторов BW373U86, проникающий через ГЭБ, при системном введении повышал устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям. В связи с этим мы предположили, что этот эффект опиоида реализуется через активацию центральных δ -рецепторов.

В настоящем разделе диссертационной работы мы использовали пептидные лиганды δ -рецепторов: преимущественные агонисты δ -рецепторов DADLE и даларгин, селективный δ -агонист DTLET, селективный δ_1 -агонист DPDPE и селективный агонист δ_2 -рецепторов DSLET.

Как видно из табл. 9, активация центральных δ -опиатных рецепторов с помощью интрацеребровентрикулярного введения преимущественного агониста δ -опиатных рецепторов DADLE способствовала повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. При введении этого синтетического аналога энкефалинов в боковой желудочек мозга на 27% увеличилось количество животных абсолютно устойчивых к адреналовым аритмиям по сравнению с группой контроля, а также в два раза уменьшилась частота возникновения

желудочковой экстрасистолии. Известно, что этот агонист не является высокоселективным лигандом и частично способен активировать и μ -опиатные рецепторы [241], поэтому его антиаритмический эффект может быть связан со стимуляцией как μ -, так и δ -рецепторов. Исходя из этого, в дальнейших исследованиях мы использовали высокоселективные лиганды δ -ОР.

Наиболее выраженное повышение устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина наблюдалось при стимуляции δ -рецепторов путем внутрижелудочкового введения селективного агониста δ -рецепторов DTLET (табл. 9). Интрацеребровентрикулярное введение этого пептида сопровождалось увеличением процента животных без желудочковых нарушений ритма сердца на 41%, по сравнению с контрольной группой, при этом частота возникновения желудочковой экстрасистолии была в 2 раза ниже, а развитие желудочковой тахикардии уменьшалось в 5 раз по сравнению с группой животных без введения DTLET (табл. 9).

Таблица 9.

Резистентность сердца к аритмогенному действию адреналина после стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов

Группы животных	n	Количество животных			
		Без ЖА n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	35	2(6)	25(69)	13(36)	1(3)
DADLE (20 нмоль)	15	5***(33)	4**(27)	0	0
DTLET (15 нмоль)	15	7(47)***	5(33)*	1(7)*	0

Примечание. n - число животных в эксперименте. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ достоверное различие по сравнению с контрольной группой.

Таким образом, стимуляция центральных δ -рецепторов, также как и центральных μ -рецепторов, способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина.

Исследование роли различных субтипов центральных δ -рецепторов позволило установить следующие факты. Стимуляция δ_1 -опиатных рецепторов при помощи внутримозговой инъекции селективного агониста DPDPE в дозе 15 нмоль на крысу не приводила к значимым изменениям частоты возникновения адреналовых аритмий, однако использование 80 нмоль пептида способствовало достоверному снижению количества животных с нарушениями ритма сердца на 21%, по сравнению с контрольной группой (рис. 11).

Кроме того, имелась отчетливая тенденция к уменьшению частоты возникновения желудочковой тахикардии. Такие же результаты были получены и в экспериментах с селективным δ_2 -агонистом DSLET, который в дозе 15 нмоль на крысу (рис. 11) не влиял на возникновение адреналовых аритмий, а в дозе 80 нмоль способствовал увеличению числа животных без желудочковых аритмий в 4.5 раза.

Таким образом, стимуляция как δ_1 -, так и δ_2 -рецепторов способствует увеличению резистентности миокарда к аритмогенному действию адреналина. Из полученных результатов видно, что противоаритмическая активность селективных агонистов δ_1 - и δ_2 -опиатных рецепторов (DPDPE, DSLET) слабее по сравнению с агонистом DTLET, так как эти пептиды способны предупреждать только возникновение желудочковой экстрасистолии, но не развитие тяжелых форм нарушений желудочного ритма - желудочковую тахикардию, тогда как DTLET способствовал уменьшению как желудочковой экстрасистолии, так и желудочковой тахикардии.

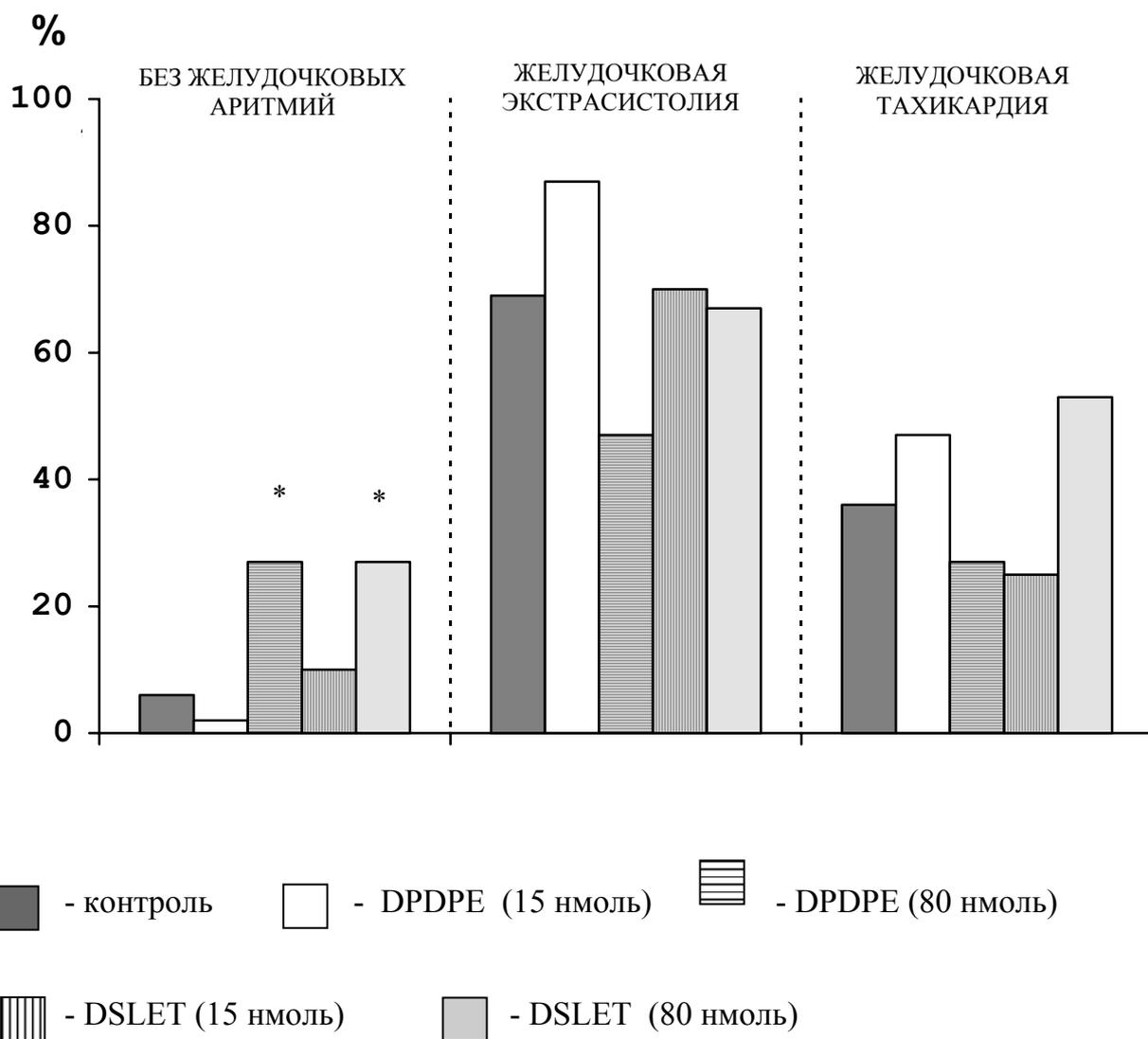


Рис.11. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина на фоне стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов селективными агонистами.

Примечание. * - $p < 0.05$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). Агонисты δ -рецепторов (DPDPE, DSLET) вводили в боковой желудочек мозга. В каждой группе животных не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма

В литературе мы не встретили работ, в которых бы указывалась избирательность DTLET к δ_1 - или δ_2 -рецепторам, возможно, этот пептид

взаимодействует с обоими подтипами δ -опиатных рецепторов. Можно предположить, что более высокая антиаритмическая активность этого препарата обусловлена тем, что DTLET обладает в несколько раз большим сродством к δ -рецепторам, чем DPDPE и DSLET [241].

Повышение электрической стабильности сердца к аритмогенному действию адреналина на фоне стимуляции центральных δ -рецепторов агонистом DTLET не происходило после предварительной блокады этих рецепторов селективным антагонистом ICI 174,864 (рис. 12).

Селективный блокатор δ -опиатных рецепторов ICI 174,864 введенный за 15 мин до DTLET в боковой желудочек мозга полностью устранил антиаритмическое действие последнего (рис. 12), что указывает на рецепторную специфичность данного эффекта. Сам по себе ICI 174,864, в использованной нами дозе, не оказывал влияния на возникновение адреналовых аритмий (рис. 12).

Следовательно, антиаритмический эффект DTLET связан с активацией δ -опиатных рецепторов.

Исследование роли δ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенному действию хлорида кальция выявило следующие результаты. Интрацеребровентрикулярное введение преимущественного агониста δ -рецепторов DADLE (рис. 13) достоверно увеличивало процент животных абсолютно устойчивых к желудочковым нарушениям ритма сердца.

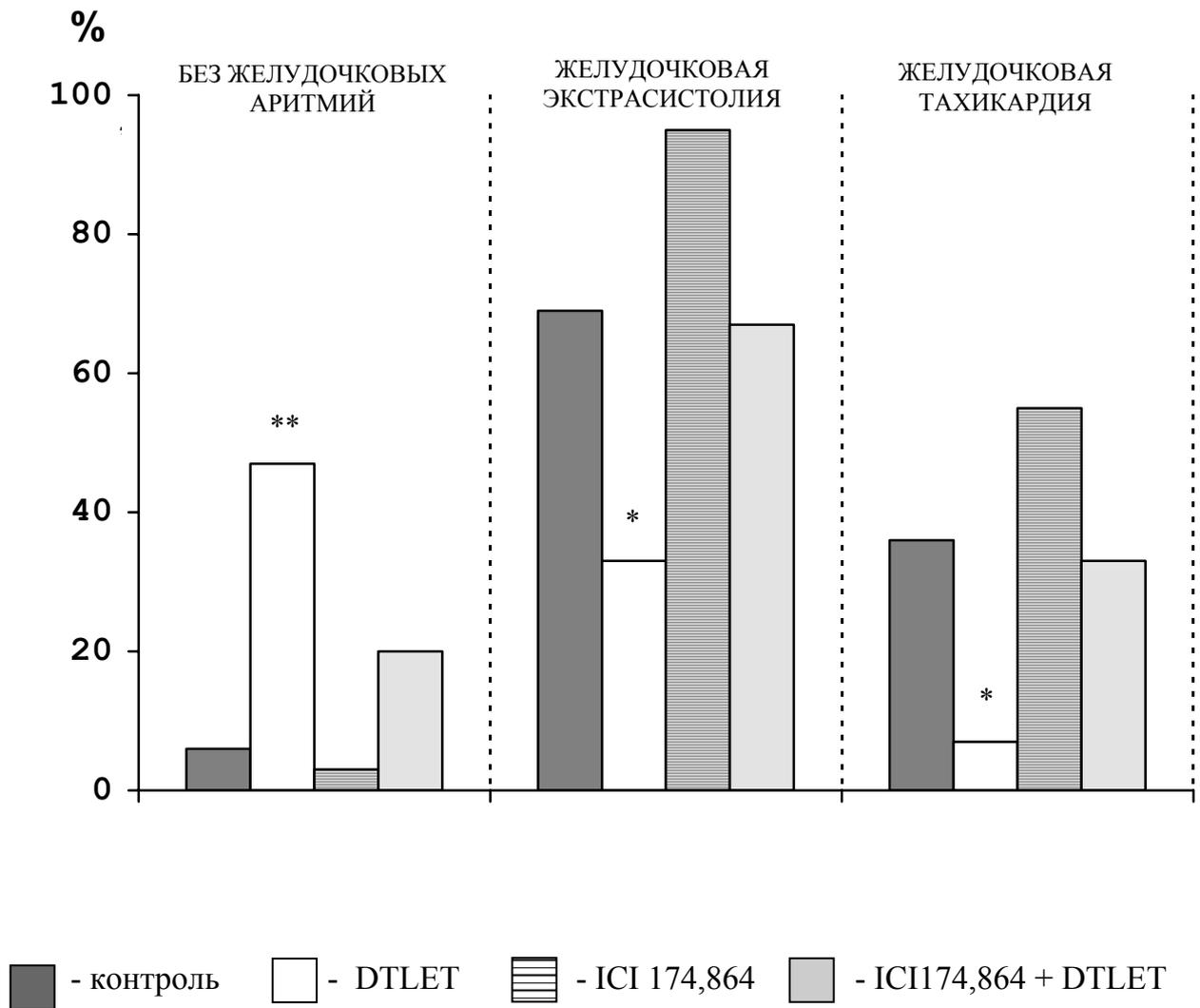


Рис.12. Влияние блокады центральных δ -опиатных рецепторов антагонистом ICI 174,864 на антиаритмический эффект селективного агониста DTLET

Примечание. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.001$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). DTLET вводили интрацеребровентрикулярно в дозе 15 нмоль и ICI 174,864 - в дозе 30 нмоль. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Так, в контрольной группе животных только у 18% животных не возникали нарушения сердечного ритма, тогда как в группе, леченных DADLE, этот

показатель достиг 67%. Кроме того, частота возникновения желудочковой экстрасистолии была ниже на 52%, по сравнению с контрольной группой животных. Наряду с этим, имелась тенденция к снижению процента животных с желудочковой фибрилляцией. Введение в боковой желудочек мозга другого неселективного агониста δ -рецепторов даларгина способствовало предупреждению развития желудочковой фибрилляции, при этом в 3 раза снижался процент животных в группе, у которых возникала ЖФ.

Однако, следует отметить, что селективный δ_2 -агонист DSLET, в использованной нами дозе (15 нмоль/крысу), достоверных изменений в провоцирование желудочковых нарушений ритма хлоридом кальция не внес, хотя имелась четкая тенденция к уменьшению частоты развития желудочковых тахикардии и фибрилляции.

Индифферентность этого селективного агониста может быть обусловлена использованием малой дозировки (15 нмоль/крысу), так как в предыдущих исследованиях было обнаружено, что этот пептид, на модели адреналовых аритмий, в дозе 15 нмоль/крысу оказался не активным, однако при повышении дозы до 80 нмоль/крысу проявлял антиаритмические свойства.

Следует отметить по поводу полученных данных, что использованные в нашей работе неселективные агонисты δ -опиатных рецепторов DADLE и даларгин могут взаимодействовать не только с δ -рецепторами, но и с μ -опиатными рецепторами [12,13].

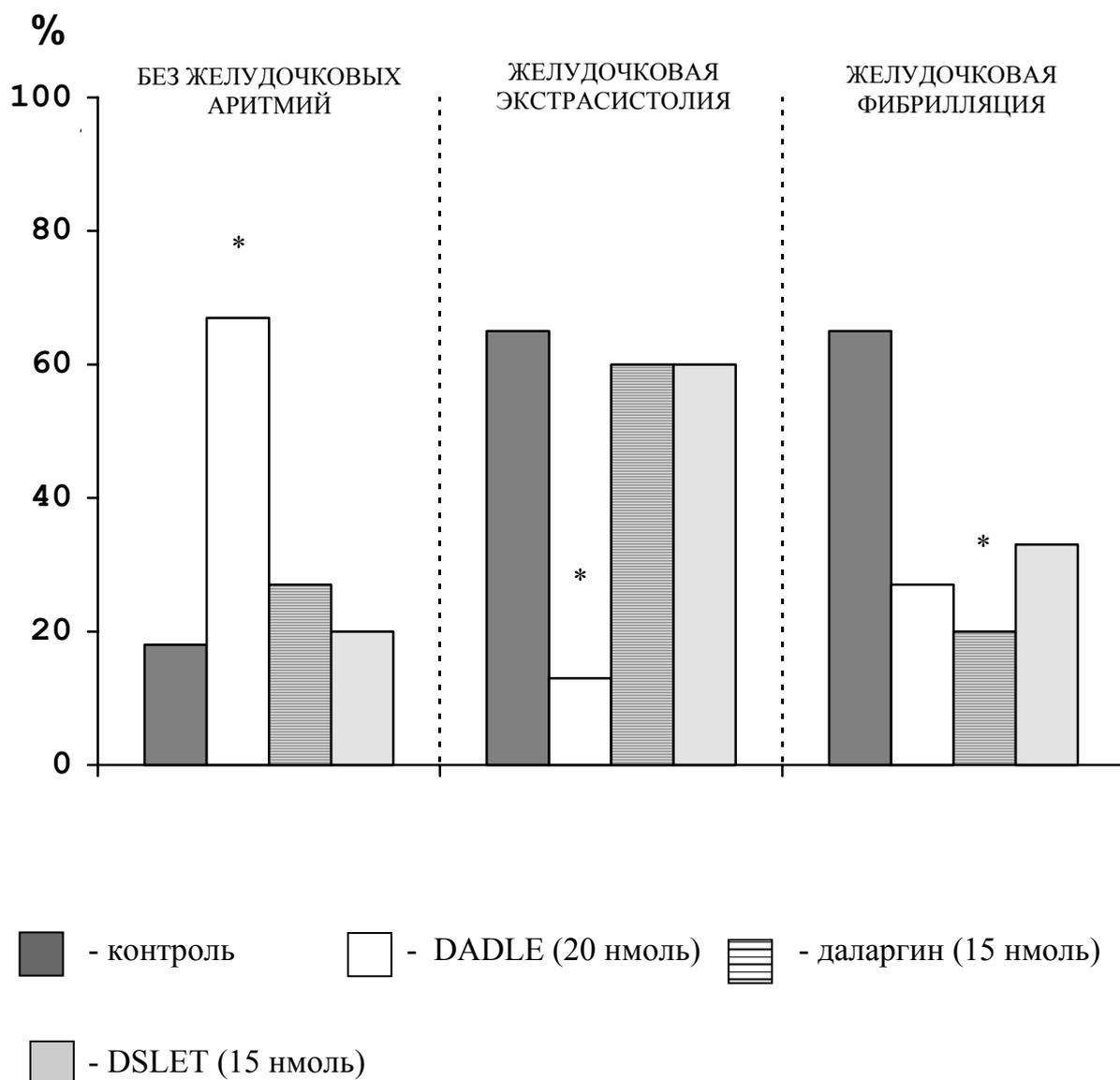


Рис.13. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям хлорида кальция на фоне стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов.

Примечание. * - $p < 0.01$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Однако, согласно нашим данным, стимуляция центральных μ -опиатных рецепторов селективными агонистами не влияет на возникновение хлоридкальциевых аритмий или даже способствует усилению аритмогенного

действия CaCl_2 , поэтому, вероятнее всего, антиаритмический эффект данных пептидов может быть опосредован активацией центральных δ -опиатных рецепторов. Более выраженный антиаритмический эффект DADLE чем у DSLET при CaCl_2 -индуцированных аритмиях, по-видимому, связан с тем, что DADLE обладает большей аффинностью к δ -опиатным рецепторам чем DSLET [241].

Механизмы, обуславливающие повышение электрической стабильности сердца на фоне стимуляции центральных δ -рецепторов при адреналовых и хлоридкальциевых аритмиях пока неизвестны. Как мы уже отмечали, прямое воздействие опиоидных пептидов на сердце при интрацеребровентрикулярном введении можно исключить, так как, во-первых, в полость бокового желудочка мозга мы вводили пептиды в весьма незначительных дозировках (20 pmol), во-вторых, гемато-энцефалический барьер практически не проницаем для опиоидных пептидов [154], что исключает возможность поступления использованных нами опиоидов из ликвора в общий кровоток. Вместе с тем, известно, что большая плотность опиатных рецепторов имеется в тех структурах головного мозга, где расположены высшие вегетативные центры [39,127,167,211]. В связи с этим, вполне вероятно, что опиоидные пептиды способны модулировать состояние вегетативной нервной системы [29,32,107,122,142], которая, как известно, играет огромную роль в аритмогенезе [43,78,83,103,135,164,209]. Роль вегетативной нервной системы в реализации повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям в условиях стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов будет более подробно обсуждаться в последующих главах диссертационной работы.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, полученные нами экспериментальные данные свидетельствуют, что центральных δ -опиатные рецепторы имеют важное значение в механизмах регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, так как активация этих рецепторов способствует снижению аритмогенного эффекта адреналина и CaCl_2 . В тоже время, представленные в данном разделе результаты не позволяют нам детально обсудить возможность участия вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических эффектов, связанных со стимуляцией

центральных δ -рецепторов. Более подробно этот вопрос будет изложен в следующих разделах диссертации.

3.2.3. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям токсических доз адреналина и хлорида кальция при стимуляции центральных κ -опиатных рецепторов

В настоящее время было опубликовано только две работы, посвященные роли центральных κ -опиатных рецепторов в аритмогенезе [182]. Эти исследования выполнены канадским исследователем S.Rabkin с использованием неселективных агонистов κ -рецепторов динорфина (Dynorphine A(1-13)) и этилкетоциклозоцина (ethylketocyclazocine) [182]. При внутримозговом введении динорфина повышается устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина. В другой же обнаружил, что активация центральных κ -опиатных рецепторов этилкетоциклозоцином, напротив, снижает устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина. Разноречивость имеющихся данных послужила для нас основанием для более детального изучения вопроса о роли центральных κ -рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

Из литературы известно, что κ -опиатные рецепторы подразделяются на субтипы κ_1 - и κ_2 -рецепторы [143]. В нашей работе мы использовали кроме неселективного лиганда κ_1 -опиатных рецепторов динорфин ([D-Ala²]-Dynorphine

A(1-13)), высоко селективный κ_1 -агонист U-50,488 и κ_2 -агонист бремазоцин ((-)-bremazocine).

Как видно из рис.14, неселективный агонист κ_1 -рецепторов динорфин потенцирует возникновение желудочковых аритмий, индуцированных аритмогенной дозой адреналина. У животных, получавших этот пептид чаще развивались наиболее тяжелые формы нарушений ритма сердца - желудочковая фибрилляция ($p < 0.01$) по сравнению с группой контроля.

Известно, что динорфин способен вызывать эффекты, не связанные с активацией опиатных рецепторов [216]. В связи с этим, мы провели серию экспериментов с введением неселективного блокатора опиатных рецепторов налоксона перед инъекцией указанного лиганда опиатных рецепторов. Налоксон в использованной дозе полностью предупреждал потенцирующий эффект динорфина в отношении адренал-индуцированной фибрилляции желудочков.

Данный факт подтверждает, что проаритмогенный эффект использованного нами агониста κ_1 -рецепторов является результатом стимуляции опиатных рецепторов.

Сам по себе блокатор опиатных рецепторов налоксон не оказывал влияния на характер адреналовых аритмий в наших экспериментах (рис.14). Вместе с тем, динорфин не является селективным агонистом κ_1 -рецепторов, поэтому в дальнейших экспериментах мы использовали высокоселективный агонист κ_1 -рецепторов U-50,488 [225].

Как показано в табл.10, стимуляция κ_1 -рецепторов U-50,488 способствовала усилению аритмогенных эффектов адреналина, увеличивая в 16 раз частоту возникновения желудочковой тахикардии.

Кроме того, в экспериментальной группе крыс, которым вводили U-50,488, у 56% животных развивалась фибрилляция желудочков, тогда как в группе контроля ни у одного животного желудочковая фибрилляция не возникла (табл.10). Предварительное интрацеребровентрикулярное введение селективного антагониста κ -рецепторов нор-биналторфимина позволило нам полностью купировать проаритмическое действие U-50,488 (табл.10).

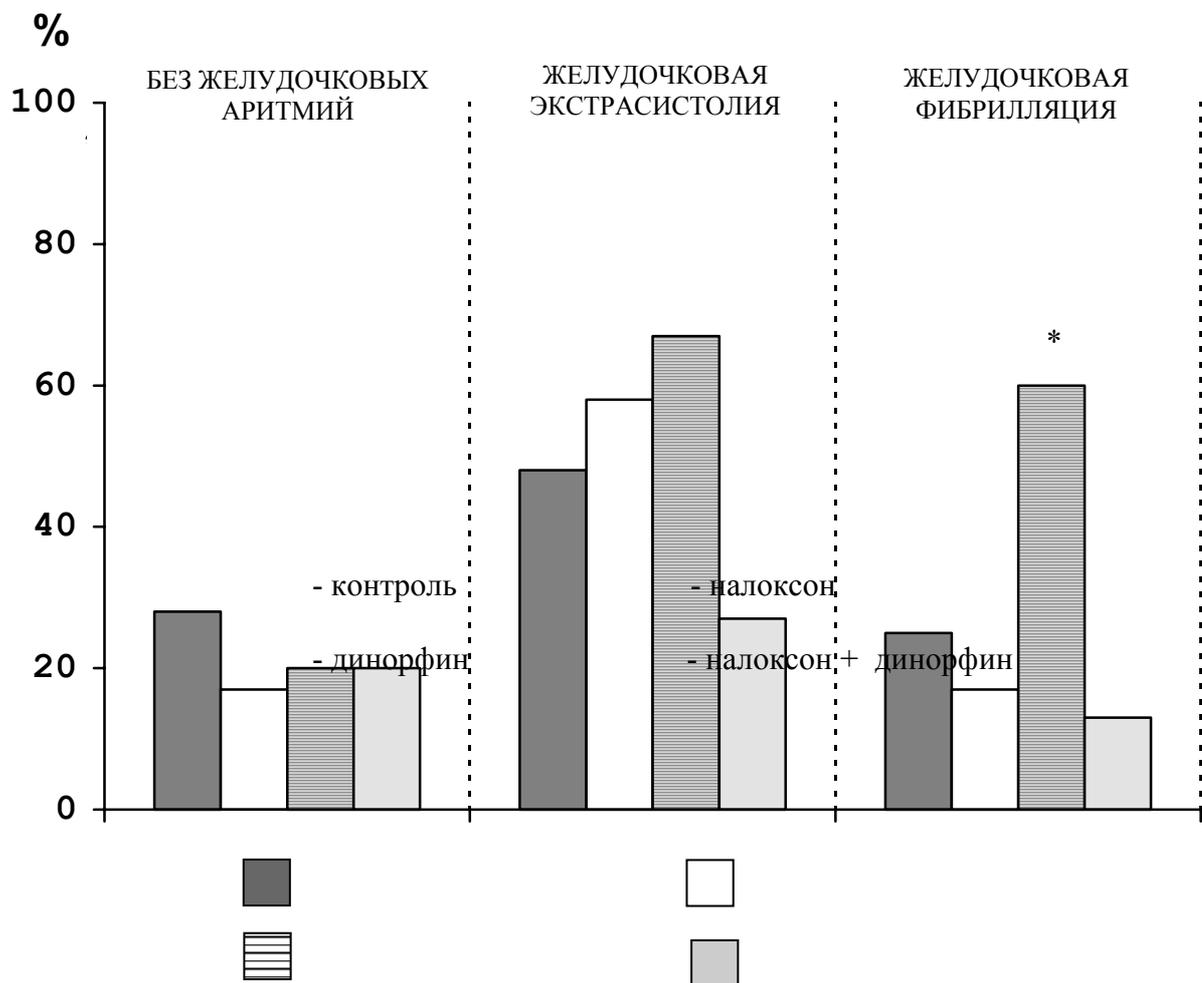


Рис.14. Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина на фоне стимуляции центральных κ -рецепторов динарфином и предварительной блокаде опиатных рецепторов налоксоном.

Примечание. * - $p < 0.01$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). Интрацеребровентрикулярное введение динарфина производили в дозе 20 нмоль и налоксона - 55 нмоль на крыск. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Таблица 10.

Устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям токсических доз адреналина при стимуляции и блокаде центральных κ -опиатных рецепторов селективными лигандами

Группы животных	n	Количество животных			
		Без ЖА n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	20	1(5)	17(85)	1(5)	0
U-50,488 (100 нмоль)	15	0	15(100)	12***(78)	8***(56)
контроль	15	0	12(80)	8(53)	4(27)
НБФ (14 нмоль)	15	0	13(92)	2*(14)	1**(7)
НБФ + U-50,488	15	2(13%)	9(60%)	1**(7%)	0*

Примечание. *- $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$; *** - $p < 0.001$ достоверность различий по отношению к контролю (метод χ^2). n - число животных в эксперименте. Для каждой серии экспериментов контроль набирался отдельно.

Интересно, что сам по себе НБФ также способствовало снижению частоты возникновения у животных как желудочковой тахикардии на 39%, так и фибрилляции желудочков на 20% по сравнению с контрольной группой.

Результаты этих исследований позволяют предполагать, что эндогенные κ -агонисты участвуют в тонической регуляции электрической стабильности сердца. Следовательно, стимуляция центральных κ_1 -рецепторов приводит к снижению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, а блокада этих рецепторов предупреждает возникновение адреналовых аритмий.

Изучение роли κ_2 -рецепторов в генезе адреналовых аритмий выявило аналогичные закономерности (табл.11). Так, активация центральных κ_2 -опиатных рецепторов бремасоцином ((-)-bremazocine) способствовала повышению степени

тяжести адреналовых аритмий, увеличивая количество животных, у которых развивалась фибрилляция желудочков (табл.11).

Таблица 11.

Резистентность сердца к аритмогенным воздействиям токсических доз адреналина при стимуляции и блокаде центральных κ -опиатных рецепторов селективными лигандами

Группы животных	n	Количество животных				
		Без ЖА n (%)	ЕЖЭ n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	22	0	2(9)	20(90)	16(73)	2(9)
бремазоцин (10 мкг/кр)	15	0	1(6)	17(94)	16(89)	6*(33)

Примечание. * - $p < 0.025$ достоверность различий по отношению к контролю (метод χ^2). n - число животных в эксперименте.

На основании этих результатов можно отметить, что активация центральных κ_1 - и κ_2 -опиатных рецепторов сопровождается снижением устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина, при этом агонисты κ -рецепторов потенцируют развитие злокачественных желудочковых аритмий.

При моделировании хлоридкальциевых аритмий агонист κ -рецепторов динорфин также потенцировал нарушения сердечного ритма. Введение этого пептида в боковой желудочек мозга достоверно увеличивало процент животных с развившейся желудочковой тахикардией на 35%, по сравнению с контрольной группой (рис.15).

Говоря о механизме обнаруженного нами проаритмогенного эффекта, связанного со стимуляцией центральных κ-рецепторов следует сказать, что наиболее вероятным нам представляется участие вегетативной нервной системы в реализации проаритмогенных эффектов κ-агонистов при интрацеребровентрикулярном введении.

По данным литературы известно, что опиатные рецепторы локализованы в центральных отделах вегетативной нервной системы [39,127,167,211]. Кроме того, многие кардиоваскулярные эффекты опиоидных пептидов реализуют свое действие благодаря модуляции физиологической активности вегетативной нервной системы [29,32,107,122,142], которая как известно, играет огромную роль в патогенезе аритмий [43,78,83,103,135, 164,209].

Учитывая эти факты, можно предположить, что проаритмогенный эффект агонистов κ-рецепторов может быть связан с повышением тонуса симпатической нервной системы или/и со снижением активности парасимпатической нервной системы, поскольку этот эффект проявляется как на модели адреналин-индуцированных, так и хлоридкальциевых аритмий. Более подробный анализ роли вегетативной нервной системы в реализации проаритмогенных эффектов агонистов κ-опиатных рецепторов будет изложен в следующих разделах диссертационной работы.

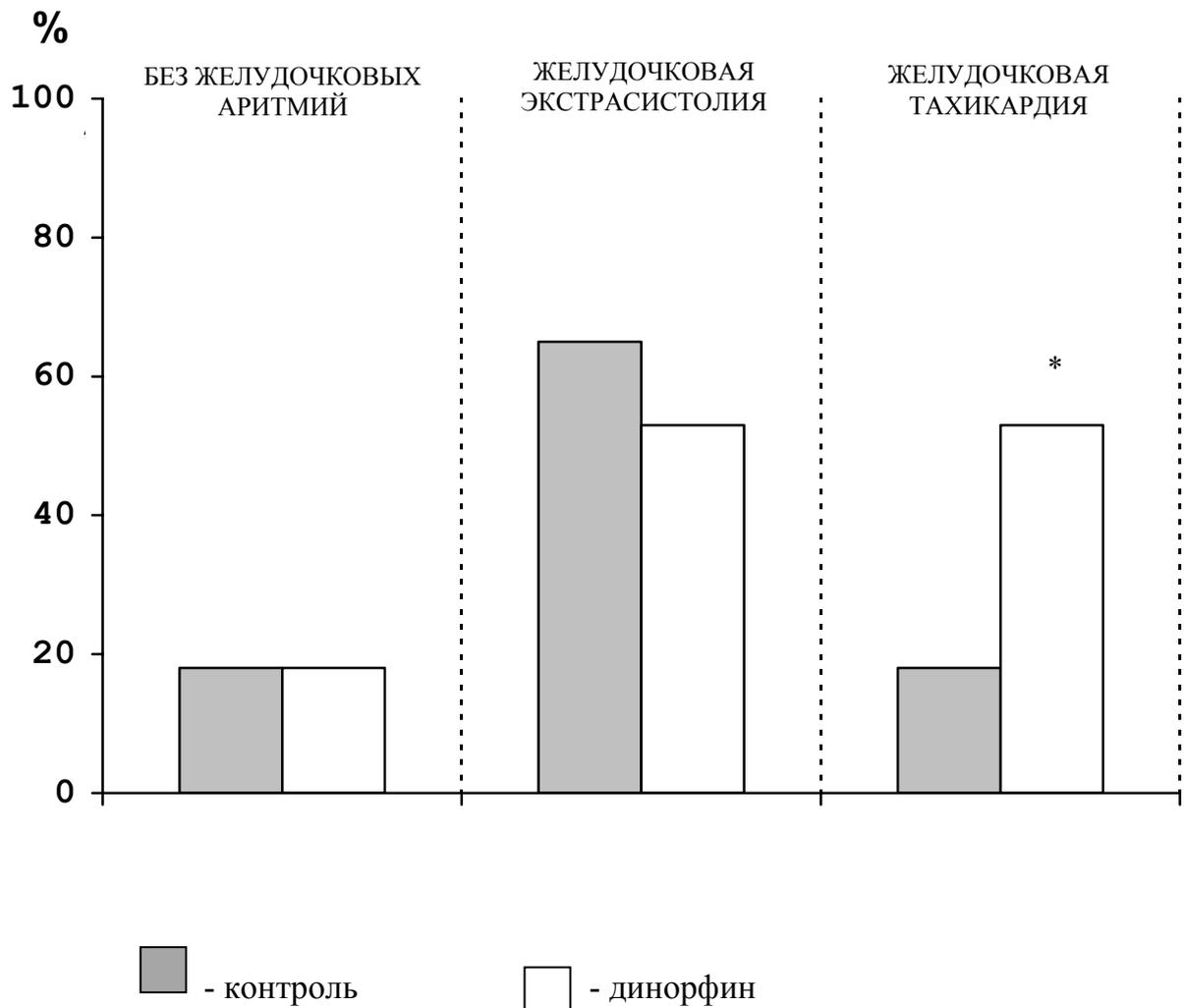


Рис.15. Устойчивость сердца к аритмогенному действию токсических доз хлорида кальция на фоне стимуляции центральных к-рецепторов динорфином.

Примечание. * - $p < 0.01$ достоверность различий по отношению к контрольной группе животных (метод χ^2). Динорфин вводили в боковой желудочек мозга в дозе 20 нмоль. В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, полученные экспериментальные данные показывают, что центральные κ_1 и κ_2 -опиатные рецепторы играют немаловажную роль в формировании устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Так на фоне стимуляции этих рецепторов происходит снижение электрической стабильности сердца как при адреналовых, так и при хлоридкальциевых аритмиях. Агонисты κ -рецепторов усугубляют тяжесть, индуцированных аритмий, поскольку потенцируют развитие злокачественных нарушений сердечного ритма. Эндогенные агонисты κ -опиатных рецепторов принимают участие в тонической регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, так как блокада этих рецепторов снижает частоту возникновения аритмий.

3.3. РОЛЬ ВЕГЕТАТИВНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ В РЕАЛИЗАЦИИ АНТИАРИТМИЧЕСКИХ ИЛИ АРИТМОГЕННЫХ ЭФФЕКТОВ, СВЯЗАННЫХ С АКТИВАЦИЕЙ ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

3.3.1. Значение вегетативной нервной системы в механизмах антиаритмического эффекта, вызываемого активацией периферических μ - и κ -опиатных рецепторов

В предыдущих экспериментах мы обнаружили, что активация периферических μ - и κ -опиатных рецепторов повышала устойчивость сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина и CaCl_2 . До настоящего момента мы не могли определенно сказать связан ли такой антиаритмический эффект агонистов опиатных рецепторов с модулирующим воздействием на вегетативную нервную систему или он обусловлен прямым влиянием опиоидов на рецепторы миокарда. Между тем, в литературе имеются многочисленные данные о том, что кардиоваскулярные эффекты опиоидов при системном введении связаны почти исключительно с изменением функциональной активности вегетативной нервной системы [106,229,231]. Кроме того, есть данные о локализации опиатных рецепторов непосредственно на симпатических и парасимпатических афферентных и эфферентных волокнах [67,106], что также позволяет нам предположить модулирующее воздействие активации периферических μ - и κ -опиатных рецепторов на вегетативную нервную систему. Так, по данным некоторых исследователей внутривенное введение опиоидных пептидов и опиатов приводит к снижению артериального давления и брадикардии [106,155,185], что позволяет думать об усилении вагусного влияния на миокард. Однако, другими исследователями было обнаружено, что активация периферических опиатных рецепторов приводит к повышению тонической активности симпатической

нервной системы и в конечном итоге - к увеличению частоты сердечных сокращений [95, 193].

Поэтому в дальнейших экспериментах мы поставили перед собой задачу изучить участие вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических эффектов опиоидов при системном введении.

В результате наших исследований было обнаружено, что предварительная блокада периферических вегетативных ганглиев гексаметонием не отменяла антиаритмический эффект агонистов μ -опиатных рецепторов DAGO и DALDA (табл.12). Введение животным одного гексаметония (10 мг/кг за 15 мин до инъекции опиоидов) вызывало слабый антиаритмический эффект (табл.12), снижалась частота возникновения желудочковых экстрасистол по сравнению с контрольной группой животных.

Блокада периферических M-холинорецепторов атропином (внутривенно 1 мг/кг за 15 мин до инъекции опиоидов) также не отражалась на эффекте DAGO и способствовала незначительному ослаблению действия DALDA, не устраняя его полностью. После предварительного введения атропина активация периферических μ -рецепторов способствовала достоверному увеличению количества животных без нарушений сердечного ритма, но при этом частота возникновения желудочковой экстрасистолии и желудочковой тахикардии оставалась на уровне контроля.

Возможно, что вклад вагусного компонента в обеспечение повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям после стимуляции периферических μ -ОР хотя и имеет место, но весьма не велик. Таким образом, вопреки ожиданию, вегетативная нервная система практически не участвует в механизме предупреждения адренал-индуцированных аритмий при активации μ -рецепторов.

Таблица 12

Влияние атропина и гексаметония на устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина при стимуляции периферических μ -опиатных рецепторов

Группы	n	Количество животных			
		Без ЖА	ЖЭ	ЖТ	ЖФ

животных		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
контроль	34	3(9)	14(41)	15(44)	2(6)
DAGO (0.1 мг/кг)	18	11 ^{###} (61)	0 [#]	7(39)	0
DALDA (0.1 мг/кг)	32	22 ^{###} (69)	2 ^{##} (6)	4 [#] (13)	4(13)
DALDA + атропин	23	14 ^{###} (61)	6 [*] (26)	6(26)	1(4)
атропин (1 мг/кг)	20	2(10)	10(50)	10(50)	4(20)
DAGO + гексаметоний	23	13 ^{###} (57)	3 [#] (13)	8(34)	0
DALDA + гексаметоний	20	12 ^{###} (60)	2 [#] (10)	5(25)	2(10)
гексаметоний (10 мг/кг)	19	4(21)	2 [#] (10)	12(63)	1(5)

Примечание. # - $p < 0.05$, ## - $p < 0.01$, ### - $p < 0.001$ - достоверность различий по отношению к контролю; * - $p < 0.05$ - достоверность различий по сравнению с группой крыс, которым вводили DAGO или DALDA (метод χ^2). n - число животных в эксперименте.

Косвенным подтверждением того, что вегетативная нервная система не играет существенной роли в μ -ОР-зависимом повышении резистентности сердца к аритмогенным факторам послужили наши следующие эксперименты. Как мы выяснили, данные опиоидные пептиды способны предупреждать не только адреналовые, но и хлоридкальциевые аритмии. Важную роль в генезе адреналовых

аритмий, как известно, имеет увеличение пула цАМФ в кардиомиоцитах, и связанное с этим увеличение медленного тока кальция внутрь клеток [138]. Таким образом, в генезе адренал-индуцированных аритмий немаловажное значение имеют ионы кальция. Поскольку на модели хлоридкальциевых нарушений ритма сердца стимуляция μ -опиатных рецепторов также способствовала снижению частоты возникновения аритмий, то, возможно, что активация периферических μ -ОР способна либо ограничивать поступление ионов кальция в клетку, либо усиливать его транспорт из цитоплазмы кардиомиоцитов в саркоплазматический ретикулум.

В дальнейших экспериментах на модели CaCl_2 -индуцированных аритмий нами был получен аналогичный результат как и при адреналовых аритмиях. В таблице 13 показано, что ни ингибитор М-холинорецепторов атропин (1 мг/кг внутривенно за 15 мин до инъекции спирадолина), ни блокатор периферических вегетативных ганглиев гексаметоний (10 мг/кг внутривенно за 15 мин до инъекции μ -агонистов) не влияли на антиаритмические эффекты μ -агонистов DAGO и DALDA, что собственно и следовало ожидать данном случае. Введение одного гексаметония не вызывало ни каких изменений в частоте возникновения нарушений желудочкового ритма. Однако инъекция хлорида кальция на фоне атропина потенцировала развитие фибрилляции желудочков (табл.13). Антиаритмический эффект μ -агонистов при периферическом введении на фоне атропина полностью также полностью сохраняется.

Таблица 13

Влияние атропина и гексаметония на антиаритмические эффекты агонистов μ -рецепторов при периферическом введении на модели CaCl_2 -индуцированных аритмий

Группы животных	n	Количество животных			
		Без ЖА n (%)	ЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	25	3(12)	15(60)	8(32)	5(20)
гексаметоний	20	4(20)	9(45)	11(55)	4(20)

(10 мг/кг)					
атропин (1 мг/кг)	24	7(29)	8(33)	7(29)	12*(50)
DAGO (0.1 мг/кг)	20	16*** (80)	4** (20)	2(10)	4(20)
DAGO + атропин	21	12*** (57)	4*** (19)	7(33)	2+(10)
DAGO + гексаметоний	20	11*** (55)	5** (25)	6 (30)	5 (25)
DALDA (0.1 мг/кг)	25	12*** (48)	4*** (16)	8 (32)	2 (8)
DALDA + атропин	20	12*** (60)	3*** (15)	7 (35)	1+ (5)
DALDA + гексаметоний	19	10** (53)	4*** (21)	6 (32)	2 (11)

Примечание. Достоверность по отношению к контролю: * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.025$, *** - $p < 0.01$. Достоверность по отношению к группе животных, которым вводили атропин: + - $p < 0.01$. n - количество животных.

Таким образом, результаты наших исследований показали, что ни ганглиоблокада гексаметонием, ни блокада М-холинорецепторов при хлоридкальциевых аритмиях не влияют на антиаритмический эффект DAGO и DALDA.

Следовательно, повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям после активации периферических μ -опиатных рецепторов не связано с изменением тонической активности симпатического и парасимпатического звена вегетативной системы, что позволяет нам предполагать прямое влияние опиоидных пептидов на кардиомиоциты, либо на какие-то гуморальные факторы,

обеспечивающие повышение электрической стабильности сердца, например, простаноиды. Так известно, что некоторые простаноиды, и в первую очередь, простациклин способны оказывать антиаритмический эффект [17]. В то же время, имеются данные о том, что активация периферических μ -опиатных рецепторов способствует увеличению уровня простациклина в миокарде и плазме крови [17]. Однако мы склонны полагать, что антиаритмический эффект опиоидных пептидов связан с активацией μ -опиатных рецепторов, расположенных непосредственно в миокарде, поскольку этот эффект сохраняется и в экспериментах на изолированном сердце [17].

В предыдущей главе мы уже рассматривали некоторые возможные механизмы повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям при стимуляции периферических κ -опиатных рецепторов, однако вопрос о возможности участия вегетативной нервной системы в реализации этого эффекта требует специального исследования и анализа.

Изучение участия автономной нервной системы в антиаритмическом эффекте агониста κ -опиатных рецепторов спирадолина (U-62066E) позволило получить следующие результаты. На модели адреналовых аритмий предварительное введение блокатора М-холинорецепторов атропина не влияла на антиаритмический эффект спирадолина, фармакологическое "отключение" вегетативной нервной системы с помощью гексаметония также не оказывало влияния на эффект этого опиоида (табл.14).

Таблица 14.

Влияние атропина и гексаметония на антиаритмический эффект спирадолина (U-62066E) на фоне адренал-индуцированных аритмий

Группы животных	n	Количество животных				
		Без ЖА n (%)	ЕЖЭ n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	25	3(12)	4(16)	14(56)	16(64)	2(8)

спирадолин (8 мг/кг)	22	13 ^{***} (68)	3(14)	1 ^{***} (5)	4 ^{**} (18)	0
спирадолин + атропин (1 мг/кг)	18	13 ^{***} (72)	0	1 ^{***} (6)	4 ^{**} (22)	2(11)
спирадолин + гексаметоний (10 мг/кг)	20	14 ^{***} (70)	2(10)	0 ^{***}	6 [*] (30)	2(10)

Примечание. Достоверность по отношению к контролю: * - $p < 0.025$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ (метод χ^2). n - количество животных.

Следовательно, вегетативная нервная система и в этом случае не принимает участие в реализации антиаритмического эффекта селективного агониста к-опиатных рецепторов спирадолина.

В этом случае можно предположить, что обнаруженное нами увеличение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям после стимуляции к-рецепторов, связано с активацией опиатных рецепторов локализованных непосредственно в миокарде, или же является следствием увеличения синтеза и секреции гуморальных факторов, повышающих электрическую стабильность сердца, как мы уже обсуждали выше для периферических μ -ОР. Однако мы склонны полагать, что увеличение резистентности миокарда к аритмогенным факторам связано с возбуждением к-рецепторов, локализованных в миокарде, поскольку наши предварительные эксперименты выполненные на изолированном сердце свидетельствуют, что антиаритмический эффект к-агонистов сохраняется *in vitro*.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, в результате проведенных экспериментальных исследований было обнаружено, что в механизмах μ - и κ -рецептор-зависимого повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям вегетативная нервная система не играет существенной роли, поскольку предварительная блокада вегетативных ганглиев гексаметонием и М-холинорецепторов атропином не изменяет антиаритмический эффект стимуляции периферических μ - и κ -рецепторов.

3.3.2. Участие парасимпатической нервной системы в реализации антиаритмического эффекта, связанного со стимуляцией центральных μ - и δ -опиатных рецепторов

Несмотря на то, что в вопросе патогенеза аритмий еще много ”белых пятен”, участие вегетативной нервной системы в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям не вызывает сомнений [113,125,172]. Как уже было подробно описано в литературном обзоре, активация n.vagus способствует предупреждению аритмий [113, 125,180,228], а стимуляция симпатической нервной системы, наоборот, вызывает желудочковые нарушения сердечного ритма [134,157,172]. Учитывая способность опиоидных пептидов оказывать модулирующее влияние на вегетативную нервную систему, мы предположили, что антиаритмические или аритмогенные эффекты опиоидов могут быть опосредованы влиянием нейропептидов на симпатическую или парасимпатическую нервную систему.

Как мы уже отмечали, стимуляция центральных опиатных рецепторов при интрацеребровентрикулярном введении нейропептидов исключает возможность их прямого воздействия на миокард, поэтому мы исследовали роль вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических или аритмогенных эффектов опиоидов.

Как следует из результатов предыдущих экспериментов, возбуждение центральных μ - и δ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости

сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина, поэтому мы предположили, что при стимуляции этих рецепторов повышается тоническое влияние вагуса на миокард. Для подтверждения этой гипотезы мы провели следующее исследование. Перед стимуляцией μ -рецепторов при помощи внутримозговой инъекцией агониста DAGO мы заблокировали M-холинорецепторы внутривенным введением атропина, "отключив", тем самым, влияние вагуса на миокард (рис. 16).

Исходя из нашей гипотезы, на фоне фармакологической блокады парасимпатической нервной системы стимуляция μ -рецепторов не должна приводить к повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Действительно, блокатор M-холинорецепторов атропин полностью отменял антиаритмический эффект μ -агониста DAGO (рис.16), так как при введении атропина все изучаемые параметры оставались на уровне контрольных значений. Сам по себе этот холинолитик не влиял на адренал-индуцированные аритмии (рис.16).

Результаты данных экспериментов подтверждают нашу гипотезу о том, что повышение резистентности сердца к аритмогенным воздействиям после возбуждения центральных μ -рецепторов, обусловлено повышением тонуса парасимпатической нервной системы.

В качестве дополнительного аргумента в пользу этого утверждения служат наши данные о влиянии опиоидных пептидов на частоту сердечных сокращений. У интактных животных частота сердечных сокращений составляла 400 ± 16 уд/мин ($n=11$), а после введения DAGO ЧСС достоверно снизилась до 322 ± 21 уд/мин ($n=10$), $p < 0.01$. Таким образом, стимуляция μ -рецепторов после внутримозгового введения DAGO вызывала брадикардию (измерения проводили на наркотизированных эфиром животных непосредственно перед инъекцией адреналина). На фоне предварительного введения атропина наблюдалось отсутствие опиатергической брадикардии, что свидетельствует о вагусной природе последней.

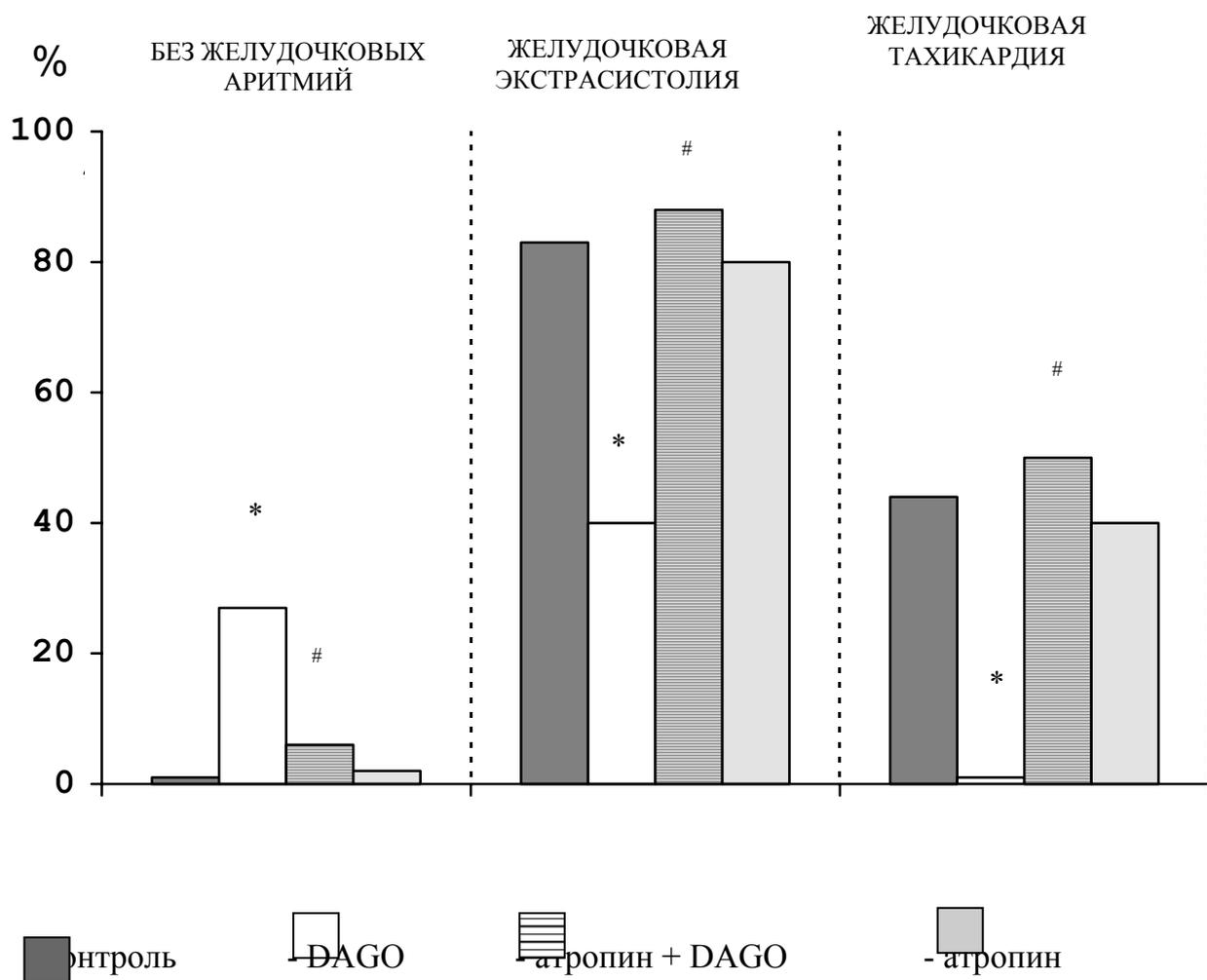


Рис.16. Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов агонистом DAGO при адренал-индуцированных аритмиях.

Примечание. * - $p < 0.01$ достоверное различие по отношению к контролю, # - $p < 0.01$ достоверное различие по отношению к группе животных с инъекцией DAGO (метод χ^2). В каждой группе не менее 15 животных.

По оси ординат: процент животных в группе с нарушениями или без нарушений желудочкового ритма.

Повышение электрической стабильности сердца, вызванное стимуляцией центральных δ -опиатных рецепторов селективным агонистом DTLET и преимущественным δ -агонистом DADLE, полностью ингибировалось предварительным введением блокатора М-холинорецепторов атропина (рис.17).

Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что антиаритмический эффект δ -агонистов при интрацеребровентрикулярном введении также опосредован повышением тонуса *n.vagus*.

Как и в случае стимуляции μ -рецепторов, частота сердечных сокращений при активации δ -рецепторов соответствующими опиоидными пептидами достоверно снижалась, что указывает на ключевую роль парасимпатической нервной системы в антиаритмических эффектах опиоидов при центральном введении.

Введение DADLE в боковой желудочек мозга способствовало снижению ЧСС с 400 ± 16 уд/мин ($n=11$) до 341 ± 18 уд/мин ($n=14$), $p < 0,05$, что является косвенным доказательством повышения тонической активности *n.vagus*.

Таким образом, стимуляция как μ -, так и δ -опиатных рецепторов после внутримозгового введения агонистов, по-видимому, возбуждают центральные структуры парасимпатической нервной системы, что и приводит к повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина.

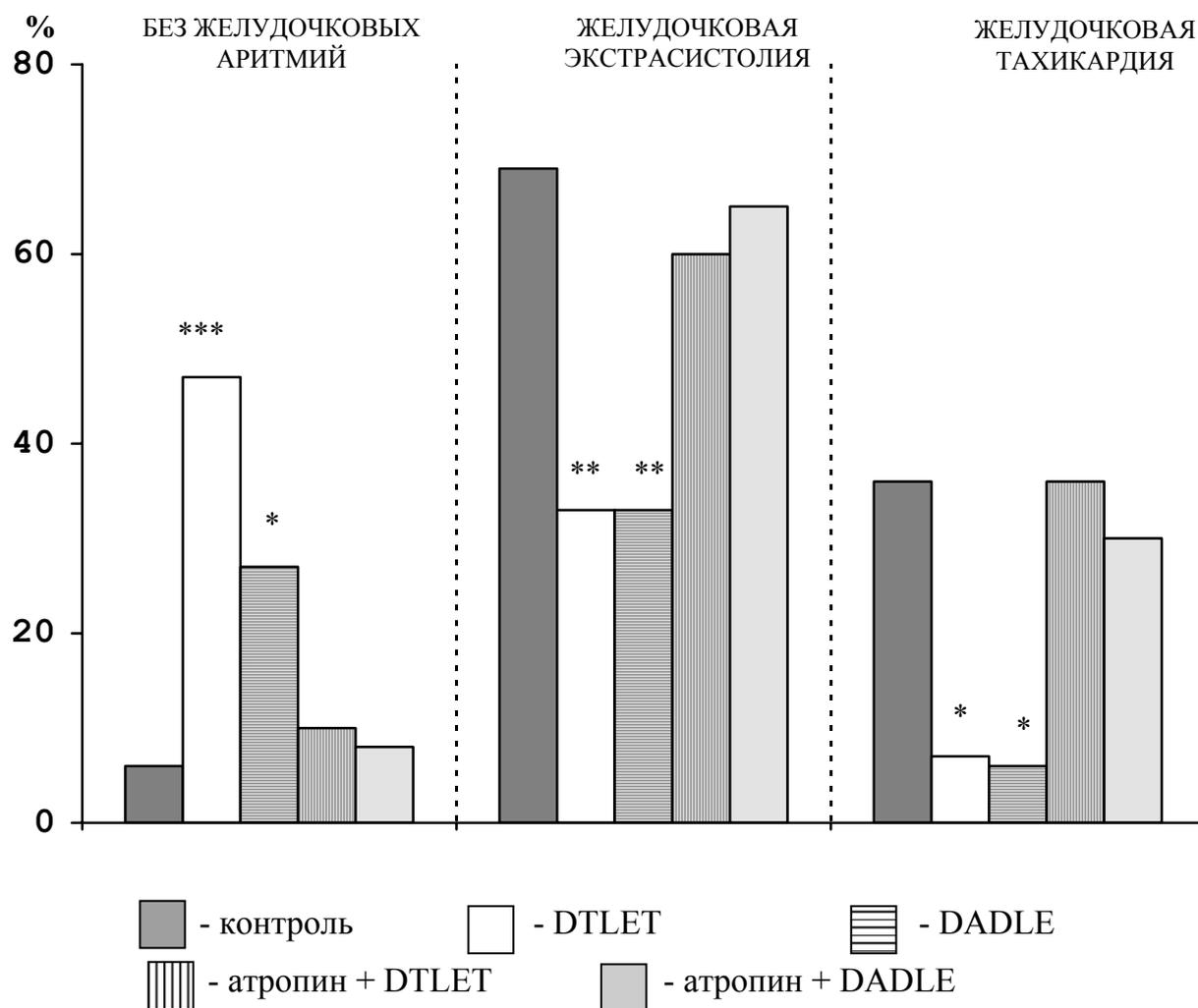


Рис.17. Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов агонистами DTLET и DADLE при адреналовых аритмиях

Примечание. * - $p < 0.05$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.001$ - достоверное различие по отношению к контролю (метод χ^2). Внутримозговое введение DTLET (15 нмоль) и DADLE (20 нмоль) производили за 15 мин до внутривенной инъекции атропина (1 мг/кг). В каждой группе не менее 18 животных.

По оси ординат: процент животных без нарушений или с нарушениями сердечного ритма.

В процессе предыдущих исследований мы выяснили, что повышение устойчивости сердца к аритмогенному действию избыточного количества ионов кальция связано только с возбуждением центральных δ -рецепторов. Предварительная блокада М-холинорецепторов атропином ослабляла антиаритмический эффект δ -агониста DADLE на модели CaCl_2 -индуцированных аритмий (табл.15). На фоне атропина сохранялось DADLE-зависимое снижение частоты возникновения желудочковой экстрасистолии, но при этом в 3 раза увеличилась частота возникновения более тяжелых аритмий - желудочковой тахикардии ($p < 0.01$), а развитие фибрилляции желудочков достигало уровня контроля. В связи с этим, есть все основания полагать, что атропин не только отменяет повышение электрической стабильности сердца, связанное со стимуляцией δ -рецепторов при помощи DADLE, но и усугубляет при этом тяжесть возникающих аритмий. Сам по себе атропин не оказывал достоверного влияния на характер и тяжесть CaCl_2 -индуцированных нарушений сердечного ритма, хотя имелась тенденция к увеличению числа животных с зарегистрированными случаями желудочковой фибрилляции (табл.15).

Как следует из вышепредставленных результатов, активация центральных δ - или μ -опиатных рецепторов равнозначно способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина. Это, безусловно, связано с повышением тонуса парасимпатической нервной системы, поскольку фармакологическая ваготомия устраняет указанный эффект опиоидов. Подтверждением тому могут служить многочисленные литературные данные о том, что активация центральных μ -рецепторов способствуют повышению функциональной активности парасимпатического отдела вегетативной нервной системы [107,142,162,185,206].

Таблица 15

Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных δ -рецепторов агонистом DADLE при CaCl_2 -индуцированных аритмиях

Группы животных	n	Количество животных		
		ЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	17	11(65)	3(18)	11(65)
DADLE (20 нмоль/кр)	15	2** (13)	0	4* (27)
атропин (1 мг/кг)	16	8(50)	2(13)	15(93)
атропин + DADLE	15	2** (13)	8 ⁺ * (53)	8(53)

Примечание: n - число животных в группе; * - $P < 0.05$ и ** - $P < 0.01$ - достоверность различий по отношению к контролю; ⁺ - $P < 0.001$ - достоверность различий по отношению к группе животных, получавших DADLE (метод χ^2).

Можно предположить, что стимуляция центральных δ - и μ -рецепторов в наших опытах также сопровождалась повышением тонуса n.vagus. Если встать на эту точку зрения то, результатом активации центральных δ - и μ -рецепторов и связанной с этим ваготонии должно быть ограничение выброса эндогенных катехоламинов [4,35,114,226], торможение активности аденилатциклазы [4] и повышение уровня цГМФ в кардиомиоцитах [4] с одновременным уменьшением количества цАМФ, являющегося функциональным антагонистом циклического гуанитидин-монофосфата [97]. Каждый из перечисленных факторов уже сам по себе способен ослабить аритмогенное действие адреналина, не говоря уже об их комбинации.

Кроме того, следует отметить, что цГМФ активирует фосфорилирование кальциевых каналов L-типа и тем самым ингибирует поступление внеклеточного кальция в саркоплазму [213]. Этот эффект также может способствовать повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, связанным с перегрузкой кардиомиоцитов ионами кальция [41,158]. В наших экспериментах как раз и было показано, что стимуляция центральных δ -рецепторов способствует увеличению устойчивости сердца к аритмогенному действию CaCl_2 .

Вполне очевидно, что в механизме этого феномена имеет немаловажное значение и повышение тонуса *n.vagus*, поскольку блокада М-холинорецепторов полностью устраняла эффект стимуляции центральных δ -рецепторов.

РЕЗЮМЕ

Таким образом, в ходе проведенных экспериментальных исследований было обнаружено, что в механизме повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и CaCl_2 при стимуляции центральных μ - и δ -рецепторов большую роль играет повышение тонуса парасимпатического звена вегетативной нервной системы.

3.3.3. Роль вегетативной нервной системы в реализации проаритмогенного действия, обусловленного активацией центральных κ -опиатных рецепторов

В предыдущих экспериментах мы обнаружили, что активация центральных κ -опиатных рецепторов потенцирует возникновение нарушений сердечного ритма, а также усугубляет тяжесть возникающих как адреналовых, так и CaCl_2 -индуцированных аритмий. При этом блокада названных рецепторов норбиналторфимином оказывает выраженное антиаритмическое действие, что указывает на участие эндогенных агонистов центральных κ -рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Однако каковы же механизмы снижения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям после стимуляции центральных κ -опиатных рецепторов? Взаимодействие опиоидных лигандов с рецепторами миокарда после интрацеребровентрикулярного введения можно исключить, поскольку гемато-энцефалический барьер практически непроницаем для опиоидных пептидов [174], а конечная концентрация U-50,488 в

крови после внутримозговой инфузии настолько незначительна, что препарат не способен оказать сколько-нибудь значимого воздействия на периферические органы [146, 225]. Поэтому мы предположили, что проаритмический эффект агонистов κ-опиатных рецепторов при интрацеребровентрикулярном введении связан с их модулирующим влиянием на вегетативную нервную систему, которая играет важную роль в регуляции электрической стабильности сердца [135].

Действительно, введенный экспериментальным животным гексаметоний в дозе 10 мг/кг, достаточной для полной блокады нейротрансмиссии в периферических вегетативных ганглиях [8], не только полностью предупреждал проаритмический эффект агониста κ₁-рецепторов U-50,488, но и достоверно увеличивал процент животных без желудочковых аритмий (p<0.05) (табл.16). На фоне предварительного введения крысам гексаметония стимуляция центральных κ-рецепторов при помощи внутримозговой инъекции диноρφина также не приводила к снижению электрической стабильности миокарда, что выразилось снижением почти в 2 раза частоты возникновения желудочковой тахикардии (p<0.05) относительно контрольной группы (табл.16).

Таблица 16

Влияние гексаметония на проаритмогенный эффект агонистов κ-опиатных рецепторов при интрацеребровентрикулярном введении

Группы животных	n	Количество животных			
		Без ЖА n (%)	МЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	14	0	12(86)	3(21)	0
гексаметоний (10 мг/кг) + U-50,488 (35 мкг)	15	5* (33)	10(67)	2(13)	0
контроль	20	3(15)	16(80)	12(60)	3(15)
гексаметоний +					

динорфин (30 мкг)	15	0	11(73)	4*(27)	1(7)
контроль	34	3(9)	13(38)	15(44)	2(6)
гексаметоний	19	2(10)	2*(10)	11(58)	1(5)

Примечание: n - число животных в эксперименте. * - P<0.05 достоверность различий по отношению к контролю (метод χ^2).

Можно предположить, что в данном случае мы наблюдаем два эффекта: неспецифическую блокаду проаритмогенного влияния агонистов - κ_1 -опиатных рецепторов и слабый антиаритмический эффект самого гексаметония. Однако в наших экспериментах инъекция этого препарата приводила к достоверному снижению частоты возникновения желудочковых экстрасистол ($p<0.05$) (табл.16).

В связи с этим можно думать, что антиаритмический эффект динорфина и U-50,488, наблюдаемый на фоне предварительного введения гексаметония (табл.16), по всей видимости, связан с антиаритмической активностью самого ганглиоблокатора.

РЕЗЮМЕ

Снижение естественной резистентности сердца к аритмогенным воздействиям адреналина и хлорида кальция при активации центральных κ -опиатных рецепторов опосредуется через изменение функциональной активности вегетативной нервной системы.

3.3.2. Участие парасимпатической нервной системы в реализации антиаритмического эффекта, связанного со стимуляцией центральных μ - и δ -опиатных рецепторов

Несмотря на то, что в вопросе патогенеза аритмий еще много "белых пятен", участие вегетативной нервной системы в аритмогенезе не вызывает сомнений [Podzuweit T., James R.G.G., Kolman B.S.]. Как уже было подробно описано в литературном обзоре, активация n.vagus способствует предупреждению аритмий [James R.G.G., Rabinowitz S.H., Waxman M.B., Kolman B.S.], а стимуляция симпатической нервной системы, наоборот, вызывает желудочковые нарушения сердечного ритма [Lombarde F., Opie L.H., Podzuweit T.]. Учитывая способность опиоидных пептидов оказывать модулирующее влияние на вегетативную нервную систему, мы предположили, что антиаритмические или аритмогенные эффекты опиоидов могут быть опосредованы влиянием нейропептидов на симпатическую или парасимпатическую нервную систему.

Как мы уже отмечали, стимуляция центральных опиатных рецепторов при интрацеребровентрикулярным введением нейропептидов исключает возможность их прямого воздействия на миокард, поэтому мы исследовали роль вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических или аритмогенных эффектов опиоидов.

Как следует из результатов предыдущих экспериментов, возбуждение центральных μ - и δ -рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина, поэтому мы предположили, что при стимуляции этих рецепторов повышается тоническое влияние вагуса на миокард. Для подтверждения этой гипотезы мы провели следующее исследование. Перед стимуляцией μ -рецепторов при помощи внутримозговой инъекцией агониста DAGO мы заблокировали M-холинорецепторы внутривенным введением атропина, "отключив", тем самым, влияние вагуса на миокард (рис. 16).

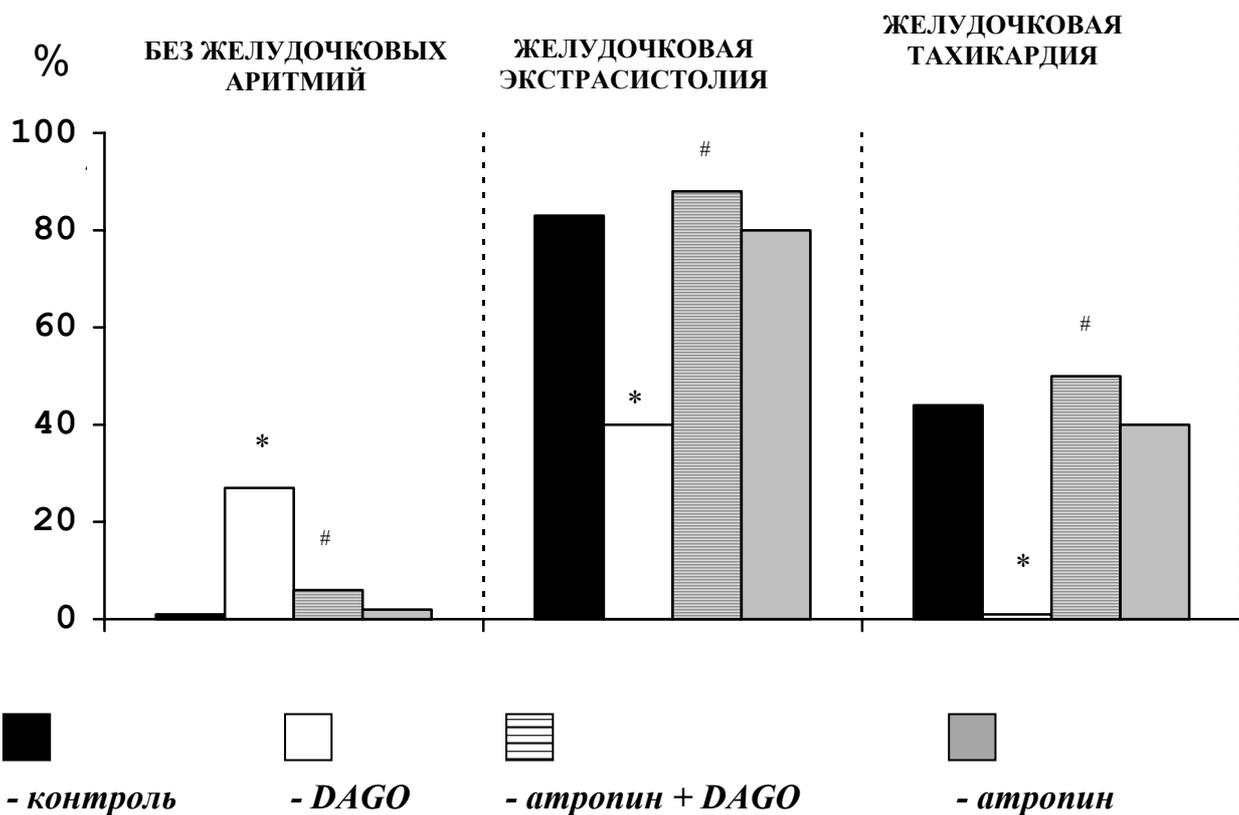


Рис.16. Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов агонистом DAGO при адренал-индуцированных аритмиях
 Примечание. * - $p < 0.01$ достоверное различие по отношению к контролю, # - $p < 0.01$ достоверное различие по отношению к группе животных с инъекцией DAGO (метод χ^2). В каждой группе не менее 20 животных.

Исходя из нашей гипотезы, на фоне фармакологической блокады парасимпатической нервной системы стимуляция μ -рецепторов не должна приводить к повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Действительно, блокатор М-холинорецепторов атропин полностью отменял антиаритмический эффект μ -агониста DAGO (рис.16), так как при ведении атропина все изучаемые параметры оставались на уровне контрольных значений. Сам по себе этот холинолитик не влиял на адренал-индуцированные аритмии (рис.16). Результаты данных экспериментов подтверждают нашу гипотезу о том, что повышение резистентности сердца к аритмогенным воздействиям после возбуждения центральных μ -рецепторов, обусловлена повышением тонуса

парасимпатической нервной системы. В качестве дополнительного доказательства этого аргумента свидетельствуют наши данные о влиянии опиоидных пептидов на частоту сердечных сокращений. У интактных животных частота сердечных сокращений (ЧСС) составляла 400 ± 16 уд/мин ($n=11$), а после введения DAGO ЧСС достоверно снизилась до 322 ± 21 уд/мин ($n=10$), $p < 0.01$. Таким образом, стимуляция μ -рецепторов после внутримозгового введения DAGO вызывала брадикардию (измерения проводили на наркотизированных эфиром животных непосредственно перед инъекцией адреналина). На фоне предварительного введения атропина возникновение опиатергической брадикардии не происходило, что свидетельствует о вагусной природе последней.

Предварительная блокада М-холинорецепторов атропином также предупреждала повышение электрической стабильности сердца после стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов селективным агонистом DTLET и преимущественным δ -агонистом DADLE (рис.17). Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что антиаритмический эффект δ -агонистов при интрацеребровентрикулярном введении также опосредован повышением тонуса *n.vagus*. Как и в случае стимуляции μ -рецепторов, частота сердечных сокращений при активации δ -рецепторов соответствующими опиоидными пептидами достоверно снижалась, что указывает на ключевую роль парасимпатической нервной системы в антиаритмических эффектах опиоидов при центральном введении.

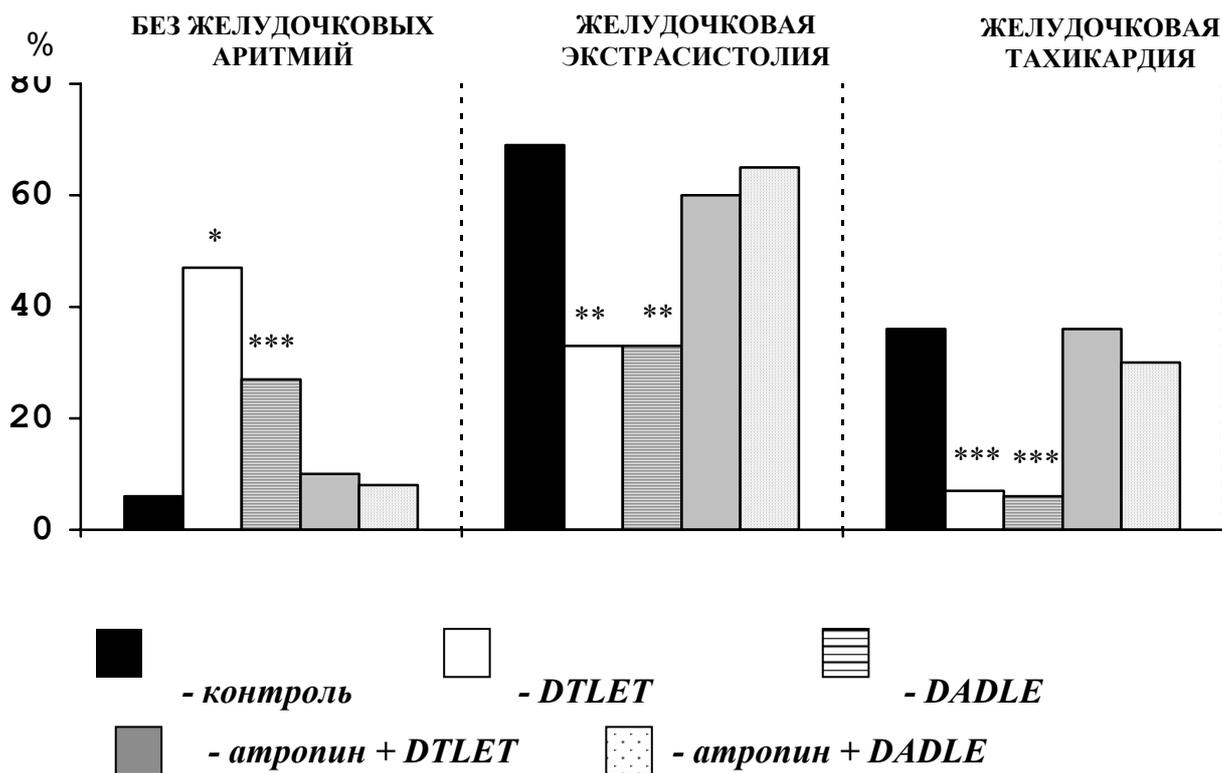


Рис.17. Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов агонистами DTLET и DADLE при адреналовых аритмиях

Примечание. * - $p < 0.001$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.05$ достоверное различие по отношению к контролю (метод χ^2). В каждой группе не менее 20 животных.

Введение DADLE в боковую желудочек мозга способствовало снижению ЧСС с 400 ± 16 уд/мин ($n=11$) до 341 ± 18 уд/мин ($n=14$), $p < 0,05$, что является косвенным доказательством повышения тонической активности $n.vagus$. Таким образом, стимуляция как μ -, так и δ -опиатных рецепторов после внутримозгового введения агонистов, по-видимому, возбуждают центральные структуры парасимпатической нервной системы, что и приводит к повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина.

В процессе предыдущих исследований мы выяснили, что повышение устойчивости сердца к аритмогенному действию избыточного количества ионов кальция связано только с возбуждением центральных δ -рецепторов. Предварительная блокада М-холинорецепторов атропином ослабляла

антиаритмический эффект δ -агониста DADLE на модели CaCl_2 -индуцированных аритмий (табл.15).

Таблица 15

Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных δ -рецепторов агонистом DADLE при CaCl_2 -индуцированных аритмиях

Группы животных	n	Количество животных		
		ЖЭ n (%)	ЖТ n (%)	ЖФ n (%)
контроль	17	11(65)	3(18)	11(65)
DADLE (10 мк/кг)	15	2** (13)	0	4* (27)
атропин (1 мг/кг)	16	8(50)	2(13)	15(93)
атропин (1 мг/кг) + DADLE (10 мк/кг)	15	2** (13)	8 ⁺ * (53)	8(53)

Примечание: n - число животных в группе; * - $P < 0.05$ и ** - $P < 0.01$ - достоверность различий по отношению к контролю; ⁺ - $P < 0,001$ - достоверность различий по отношению к группе животных, получавших DADLE (метод χ^2). В каждой группе не менее 18 животных.

На фоне атропина сохранялось DADLE-зависимое снижение частоты возникновения желудочковой экстрасистолии, но при этом в 3 раза увеличилась частота возникновения более тяжелых аритмий - желудочковой тахикардии ($p < 0.01$), а развитие фибрилляции желудочков достигало уровня контроля. В связи с этим, есть все основания полагать, что атропин не только отменяет повышение электрической стабильности сердца, связанное со стимуляцией δ -рецепторов при помощи DADLE, но и усугубляет при этом тяжесть возникающих аритмий. Сам по себе атропин не оказывал достоверного влияния на характер и тяжесть CaCl_2 -индуцированных нарушений сердечного ритма, хотя имелась тенденция к увеличению числа животных с зарегистрированными случаями желудочковой фибрилляции (табл.15).

Полученные нами экспериментальные данные показывают, что стимуляция центральных δ - и μ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости

сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина, что безусловно связано с повышением тонуса парасимпатической нервной системы, поскольку атропин полностью устранял этот эффект опиоидов. Подтверждением тому могут служить многочисленные литературные данные о том, что активация центральных μ -рецепторов способствуют повышению тонической активности парасимпатического отделов вегетативной нервной системы [Paakari, Randich, May, Siren, Van Loon]. В то же время, известно, что адреналин вызывает аритмии благодаря активации β -адренорецепторов с последующим увеличением внутриклеточной концентрации цАМФ [Podzuweit T.]. Как мы выяснили, стимуляция центральных δ - и μ -рецепторов способна повышать тонус *n.vagus*, что, согласно данным литературы, приводит к следующим эффектам: ограничивается выброс эндогенных катехоламинов, ингибируется активность аденилатциклазы, локализованной на сарколемме, и одновременно в кардиомиоцитах повышается уровень внутриклеточного цГМФ, являющегося функциональным антагонистом цАМФ [Goldberg N.D.]. Все эти факторы снижают аритмогенное действие адреналина. Кроме того, следует отметить, что цГМФ активирует фосфорилирование кальциевых каналов L-типа и тем самым ингибирует поступление внеклеточного кальция в саркоплазму [Sperelakis]. Этот эффект может способствовать повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию CaCl_2 , поскольку в этом случае триггером желудочковых аритмий является перегрузка кардиомиоцитов ионами кальция [Сперелакис или Opie]. Вполне очевидно, что в случае CaCl_2 -индуцированных аритмий δ -рецептор-зависимое повышение тонуса *n.vagus* также может сказаться на характере желудочковых аритмий. Действительно, стимуляция центральных δ -рецепторов способствует увеличению устойчивости сердца к аритмогенному действию CaCl_2 .

Таким образом, в ходе проведенных экспериментальных исследований было обнаружено, что в реализации повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям при стимуляции центральных μ - и δ -рецепторов ключевую роль играет вегетативная нервная система. Так, стимуляция центральных μ - и δ -

опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина и CaCl_2 .

3.3.2. Участие парасимпатической нервной системы в реализации антиаритмического эффекта стимуляции центральных μ - и δ -опиатных рецепторов

Несмотря на то, что в вопросе патогенеза аритмий еще много "белых пятен", участие вегетативной нервной системы в аритмогенезе не вызывает сомнений [Podzuweit T., James R.G.G., Kolman B.S.]. Как уже было подробно описано в литературном обзоре, активация n.vagus способствует предупреждению аритмий [James R.G.G., Rabinowitz S.H., Waxman M.B., Kolman B.S.], а стимуляция симпатической нервной системы, наоборот, вызывает желудочковые нарушения сердечного ритма [Lombarde F., Opie L.H., Podzuweit T.]. Учитывая способность опиоидных пептидов оказывать модулирующее влияние на вегетативную нервную систему, мы предположили, что антиаритмические или аритмогенные эффекты опиоидов могут быть опосредованы влиянием нейропептидов на симпатическую или парасимпатическую нервную систему.

Как мы уже отмечали, стимуляция центральных опиатных рецепторов при интрацеребровентрикулярном введении нейропептидов исключает возможность их прямого воздействия на миокард, поэтому мы исследовали роль вегетативной нервной системы в реализации антиаритмических или аритмогенных эффектов опиоидов.

Как следует из результатов предыдущих экспериментов, возбуждение центральных μ - и δ -рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина, поэтому мы предположили, что при стимуляции этих рецепторов повышается тоническое влияние вагуса на миокард. Для подтверждения этой гипотезы мы провели следующее исследование. Перед стимуляцией μ -рецепторов при помощи внутримозговой инъекцией агониста DAGO мы заблокировали M-холинорецепторы внутривенным введением атропина, "отключив", тем самым, влияние вагуса на миокард. Исходя из нашей гипотезы, на фоне фармакологической блокады парасимпатической нервной системы стимуляция μ -рецепторов не должна приводить к повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Действительно, блокатор M-холинорецепторов атропин полностью отменял антиаритмический эффект μ -

агониста DAGO (рис.16), так как при ведении атропина все изучаемые параметры оставались на уровне контрольных значений. Сам по себе этот холинолитик не влиял на адренал-индуцированные аритмии (рис.16). Результаты данных экспериментов подтверждают нашу гипотезу о том, что повышение резистентности сердца к аритмогенным воздействиям после возбуждения центральных μ -рецепторов, обусловлена повышением тонуса парасимпатической нервной системы. В качестве дополнительного доказательства этого аргумента свидетельствуют наши данные о влиянии опиоидных пептидов на частоту сердечных сокращений. У интактных животных частота сердечных сокращений (ЧСС) составляла 400 ± 16 уд/мин ($n=11$), а после введения DAGO ЧСС достоверно снизилась до 322 ± 21 уд/мин ($n=10$), $p < 0.01$.

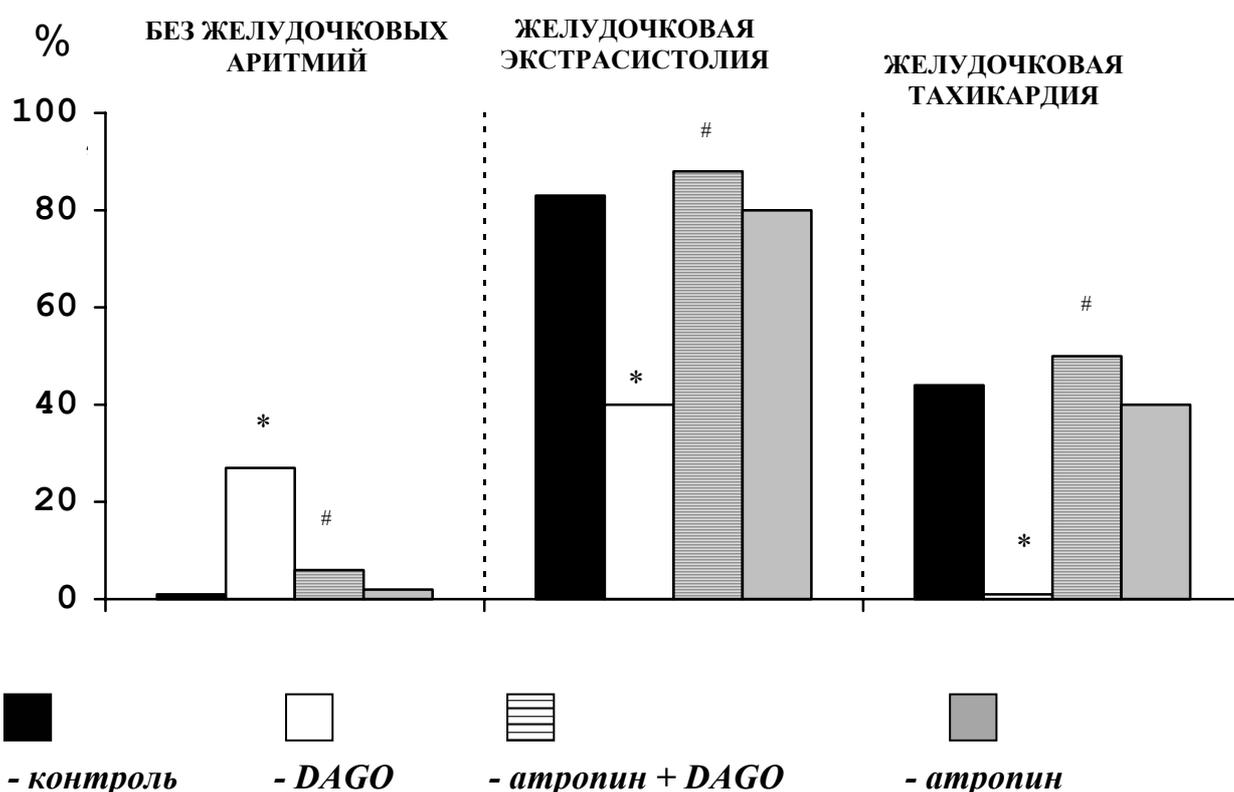


Рис.16. Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных μ -опиатных рецепторов агонистом DAGO при адренал-индуцированных аритмиях
 Примечание. * - $p < 0.01$ достоверное различие по отношению к контролю, # - $p < 0.01$ достоверное различие по отношению к группе животных с инъекцией DAGO (метод χ^2). В каждой группе не менее 20 животных.

Таким образом, стимуляция μ -рецепторов после внутримозгового введения DAGO вызывала брадикардию (измерения проводили на наркотизированных эфиром животных непосредственно перед инъекцией адреналина). На фоне предварительного введения атропина возникновение опиатергической брадикардии не происходило, что свидетельствует о вагусной природе последней.

Предварительная блокада М-холинорецепторов атропином также предупреждала повышение электрической стабильности сердца после стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов селективным агонистом DTLET и преимущественным δ -агонистом DADLE (рис.17). Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что антиаритмический эффект δ -агонистов при интрацеребровентрикулярном введении также опосредован повышением тонуса n.vagus. Как и в случае стимуляции μ -рецепторов, частота сердечных сокращений при активации δ -рецепторов соответствующими опиоидными пептидами достоверно снижалась, что указывает на ключевую роль парасимпатической нервной системы в антиаритмических эффектах опиоидов при центральном введении.

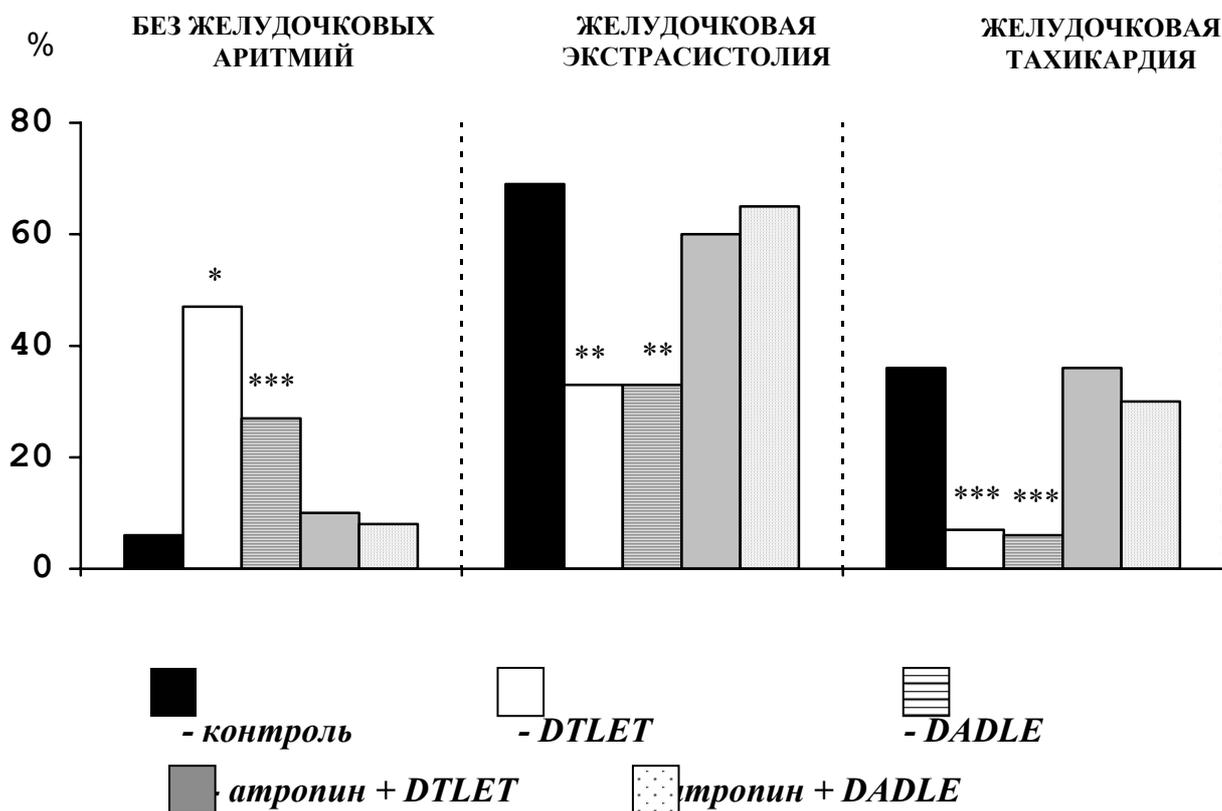


Рис.17. Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных δ -опиатных рецепторов агонистами DTLET и DADLE при адреналовых аритмиях

Примечание. * - $p < 0.001$, ** - $p < 0.01$, *** - $p < 0.05$ достоверное различие по отношению к контролю (метод χ^2). В каждой группе не менее 20 животных.

Введение DADLE в боковой желудочек мозга способствовало снижению ЧСС с 400 ± 16 уд/мин ($n=11$) до 341 ± 18 уд/мин ($n=14$), $p < 0,05$, что является косвенным доказательством повышения тонической активности *n.vagus*. Таким образом, стимуляция как μ -, так и δ -опиатных рецепторов после внутримозгового введения агонистов, по-видимому, возбуждают центральные структуры парасимпатической нервной системы, что и приводит к повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию адреналина.

В процессе предыдущих исследований мы выяснили, что повышение устойчивости сердца к аритмогенному действию избыточного количества ионов кальция связано только с возбуждением центральных δ -рецепторов. Предварительная блокада М-холинорецепторов атропином ослабляла антиаритмический эффект δ -агониста DADLE на модели CaCl_2 -индуцированных аритмий (табл.15).

Таблица 15

Блокада М-холинорецепторов атропином на фоне стимуляции центральных δ -рецепторов агонистом DADLE при CaCl_2 -индуцированных аритмиях

<i>Группы животных</i>	<i>n</i>	<i>Количество животных</i>		
		<i>ЖЭ n (%)</i>	<i>ЖТ n (%)</i>	<i>ЖФ n (%)</i>
<i>контроль</i>	17	11(65)	3(18)	11(65)
<i>DADLE (10 мк/кг)</i>	15	2 ^{**} (13)	0	4 [*] (27)
<i>атропин (1 мг/кг)</i>	16	8(50)	2(13)	15(93)
<i>атропин (1 мг/кг) +</i>	15	2 ^{**} (13)	8 ⁺ (53)	8(53)

DADLE (10 мк/кр)				
-------------------------	--	--	--	--

*Примечание: n - число животных в группе; * - $P < 0.05$ и ** - $P < 0.01$ - достоверность различий по отношению к контролю; + - $P < 0,001$ - достоверность различий по отношению к группе животных, получавших DADLE (метод χ^2). В каждой группе не менее 18 животных.*

На фоне атропина сохранялось DADLE-зависимое снижение частоты возникновения желудочковой экстрасистолии, но при этом в 3 раза увеличилась частота возникновения более тяжелых аритмий - желудочковой тахикардии ($p < 0.01$), а развитие фибрилляции желудочков достигало уровня контроля. В связи с этим, есть все основания полагать, что атропин не только отменяет повышение электрической стабильности сердца, связанное со стимуляцией δ -рецепторов при помощи DADLE, но и усугубляет при этом тяжесть возникающих аритмий. Сам по себе атропин не оказывал достоверного влияния на характер и тяжесть CaCl_2 -индуцированных нарушений сердечного ритма, хотя имелась тенденция к увеличению числа животных с зарегистрированными случаями желудочковой фибрилляции (табл.15).

Полученные нами экспериментальные данные показывают, что стимуляция центральных δ - и μ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина, что безусловно связано с повышением тонуса парасимпатической нервной системы, поскольку атропин полностью устранял этот эффект опиоидов. Подтверждением тому могут служить многочисленные литературные данные о том, что активация центральных μ -рецепторов способствует повышению тонической активности парасимпатического отделов вегетативной нервной системы [Paakari, Randich, May, Siren, Van Loon]. В то же время, известно, что адреналин вызывает аритмии благодаря активации β -адренорецепторов с последующим увеличением внутриклеточной концентрации цАМФ [Podzuweit T.]. Как мы выяснили, стимуляция центральных δ - и μ -рецепторов способна повышать тонус *n.vagus*, что, согласно данным литературы, приводит к следующим эффектам: ограничивается выброс эндогенных катехоламинов, ингибируется активность аденилатциклазы, локализованной на сарколемме, и одновременно в

кардиомиоцитах повышается уровень внутриклеточного цГМФ, являющегося функциональным антагонистом цАМФ [Goldberg N.D.]. Все эти факторы снижают аритмогенное действие адреналина. Кроме того, следует отметить, что цГМФ активирует фосфорилирование кальциевых каналов L-типа и тем самым ингибирует поступление внеклеточного кальция в саркоплазму [Sperelakis]. Этот эффект может способствовать повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию CaCl_2 , поскольку в этом случае триггером желудочковых аритмий является перегрузка кардиомиоцитов ионами кальция [ссылка на Сперелакиса или Orie]. Вполне очевидно, что в случае CaCl_2 -индуцированных аритмий δ -рецептор-зависимое повышение тонуса *n.vagus* также может сказаться на характере желудочковых аритмий. Действительно, стимуляция центральных δ -рецепторов способствует увеличению устойчивости сердца к аритмогенному действию CaCl_2 .

Таким образом, в ходе проведенных экспериментальных исследований было обнаружено, что в реализации повышения устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям при стимуляции центральных μ - и δ -рецепторов ключевую роль играет вегетативная нервная система. Так, стимуляция центральных μ - и δ -опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию токсических доз адреналина и CaCl_2 .

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Вопрос о природе неспецифической резистентности сердца к аритмогенным воздействиям остается до настоящего времени, по существу, открытым. Относительно хорошо изученными среди факторов, участвующих в регуляции сердечного ритма и устойчивости сердца к аритмогенным влияниям являются реакции вегетативной нервной системы [43,78,83,103,135,164,209]. Другие же механизмы, вовлекаемые в эти процессы, изучены явно недостаточно. При этом особо актуальным следует признать поиск путей стимулирующего воздействия на эндогенные механизмы поддержания ритмической деятельности миокарда.

В связи с вышесказанным, несомненный интерес представляет эндогенная опиоидная система, стимуляция тех или иных звеньев которой сопровождается, в ряде случаев, выраженными антиаритмическими эффектами [140, 181, 182,183,184, 207].

Однако до настоящего исследования еще не существовало ясного представления о роли опиоидной системы в регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Накопленный фактический материал имеет противоречивый характер, так как данные литературы говорят как о повышении, так и снижении устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям после стимуляции различных типов опиатных рецепторов [84,85,90, 181,182,235].

Так, было показано, что активация опиатных рецепторов с помощью синтетического аналога энкефалинов даларгина повышает электрическую стабильность сердца [140]. В то же время, блокада опиатных рецепторов налоксоном также предупреждала нарушения сердечного ритма, как на уровне целого организма, так и на уровне изолированного сердца [85,242].

Авторы одних работ заявляют о том, что активация центральных μ -опиатных рецепторов с помощью морфина, фентанила, мептазинола сопровождается уменьшением частоты и длительности желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции, индуцированных острой ишемией миокарда [85,90]. Однако результаты экспериментов *in vitro* на модели изолированного перфузируемого сердца, свидетельствуют, что активация кардиальных опиатных

рецепторов, наоборот, способствует возникновению желудочковых экстрасистол, устраняемых с помощью предварительного введения налоксона [235].

Анализируя эти и другие данные, мы выдвинули рабочую гипотезу о неоднозначной роли различных типов опиатных рецепторов в регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. В нашем исследовании мы изучали роль трех основных типов опиатных рецепторов (μ , δ и κ) в этих процессах.

В ходе проведенных исследований было обнаружено, что периферические μ -рецепторы играют наиболее важную роль в указанных процессах. Так, стимуляция этих рецепторов способствовала повышению резистентности сердца к возникновению как адреналовых, так и CaCl_2 -индуцированных аритмий, а предварительная селективная блокада μ -рецепторов полностью устраняла опиатергическое повышение электрической стабильности сердца. Вместе с тем, селективная блокада μ -ОР, если она не сочеталась с введением активаторов морфиночувствительных рецепторов, не изменяла характер и частоту индуцированных аритмий, что позволяет говорить об отсутствии тонической регуляции электрической стабильности сердца со стороны эндогенных агонистов вышеназванных рецепторов.

Таким образом, нам удалось экспериментально доказать, что стимуляция периферических μ -опиатных рецепторов способствует повышению резистентности сердца к аритмогенным воздействиям.

Кроме того, мы обнаружили, что блокада периферических вегетативных ганглиев не влияет на μ -рецептор-зависимое увеличение устойчивости сердца к аритмогенным влияниям. Исходя из этого, мы пришли к выводу о том, что вегетативная нервная система не играет существенной роли в реализации данного эффекта.

Следовательно, есть основания предполагать, что опиатергическое увеличение электрической стабильности сердца связано с активацией μ -рецепторов, локализованных на сарколемме кардиомиоцитов. Об этом свидетельствуют и предварительные эксперименты, выполненные в нашей лаборатории на модели изолированного перфузируемого сердца крыс. Так,

введение агонистов μ -ОР повышает устойчивость сердца крыс к ишемическим и реперфузионным аритмиям [17].

Активация периферических κ -опиатных рецепторов с помощью спирадолина также в значительной мере противодействовала аритмогенным эффектам адреналина или CaCl_2 . Поскольку в результате экспериментов с "фармакологической денервацией" миокарда нам не удалось устранить противоаритмический эффект стимуляции κ -рецепторов, то можно предположить, что опиоиды оказывают прямое влияние на рецепторы кардиомиоцитов, приводящее к повышению естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Немаловажное значение, по-видимому, имеет и тот факт, что κ -рецепторы являются преобладающей субпопуляцией опиатных рецепторов в миокарде [221,234].

Дальнейшее изучение опиатергической модуляции процессов, связанных с поддержанием оптимальной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, показало, что роль периферических рецепторных звеньев в этом процессе также неоднозначна. Так, стимуляция периферических δ -ОР не влияла на устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина или CaCl_2 , что дает основание не рассматривать эти рецепторы в качестве звена, участвующего в регуляции антиаритмической устойчивости сердца.

Подводя итог вышесказанному, можно утверждать, что активация периферических μ - и κ -рецепторов, локализованных на сарколемме кардиомиоцитов, способствует повышению естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. В то же время, периферические δ -рецепторы не играют существенной роли в модуляции вышеуказанных процессов.

Анализ полученных результатов и сопоставление их с литературными данными дали нам основания предположить, что в основе механизмов опиатергической регуляции неспецифической устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям лежит способность опиоидов взаимодействовать с системой внутриклеточных мессенджеров. Об этом свидетельствуют, в частности, факты ингибирующего влияния агонистов основных типов ОР на активность аденилатциклазы [241,112]. Кроме того, известна способность опиоидов снижать

уровень ионов кальция в кардиомиоцитах, за счет модулирующего воздействия на функцию $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -насоса сарколеммы [81,190] и Ca^{2+} -каналов саркоплазматического ретикулула [215].

Вместе с тем, учитывая большую плотность опиатных рецепторов в головном мозге, мы предположили, что не только периферические рецепторы, но и центральное звено опиатергической системы также имеет большое значение в процессах регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

В ходе проведенных исследований нами было обнаружено, что стимуляция центральных μ - и δ -опиатных рецепторов с помощью селективных агонистов повышает устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям адреналина или CaCl_2 . Вполне очевидно, что в данном случае опиатергическое увеличение электрической стабильности сердца может быть только следствием изменений нейро-гуморальной регуляции сердца. По нашему мнению, на роль посредника, обеспечивающего повышение устойчивости сердца к токсическому действию адреналина и CaCl_2 может претендовать вегетативная нервная система.

Действительно, по мнению ряда авторов [29,32,107,122,142], опиоидные пептиды способны модулировать базальный тонус вегетативной нервной системы, которая, как известно, играет огромную роль в поддержании ритмической активности сердца. Так, например, введение опиоидов в четвертый мозговой желудочек вызывает усиление тонуса *n. vagus* и, как следствие, брадикардию [86].

Исходя из этих данных, мы попытались исследовать роль вегетативной нервной системы в механизмах антиаритмических эффектов, связанных с активацией центральных μ - и δ -опиатных рецепторов. В ходе экспериментов мы обнаружили, что предварительная блокада М-холинорецепторов атропином или фармакологическое “выключение” вегетативных ганглиев гексаметонием полностью устраняли антиаритмические эффекты, связанные с возбуждением центральных опиатных рецепторов. На основании этих данных можно говорить о том, что антиаритмический эффект опиоидов опосредован через их модулирующее влияние на вегетативную нервную систему. Полученные нами факты позволяют утверждать, что в реализации μ - и δ -рецептор-зависимого увеличения

электрической стабильности сердца ключевую роль играет парасимпатическая нервная система.

Вместе с тем, известно, что, наряду с μ - и δ -опиатными рецепторами в головном мозге широко представлены κ -рецепторы, которые подразделяются на субтипы: κ_1 и κ_2 , [143]. Нами было обнаружено, что активация центральных κ_1 -ОР и κ_2 -ОР усугубляет тяжесть как адреналовых, так и CaCl_2 -индуцированных аритмий. При этом стимуляция κ -опиатных рецепторов, в основном, потенцировала развитие злокачественных нарушений ритма сердца (желудочковая тахикардия и фибрилляция). Поскольку блокада этих рецепторов селективным антагонистом не только устраняла проаритмогенный эффект, связанный с их активацией, но и сама по себе способствовала повышению устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, то можно предположить, что обнаруженный нами эффект является рецептор-специфическим, а эндогенным агонистам центральных κ -рецепторов принадлежит негативная роль в тонической регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям.

Таким образом, в отличие от центральных μ - и δ -рецепторов, активация κ -рецепторов головного мозга имеет проаритмическую направленность, а блокада этих рецепторов повышает устойчивость сердца к аритмогенным воздействиям.

Более того, в зависимости от локализации одного и того же типа опиатных рецепторов эффекты их лигандов могут в корне отличаться. Так, если возбуждение центральных κ -рецепторов снижает устойчивость сердца к аритмогенным факторам, то стимуляция периферических рецепторов этого же типа, наоборот, повышает резистентность сердца к аритмогенным воздействиям.

В ходе выполнения дальнейших исследований мы изучили роль вегетативной нервной системы в генезе проаритмогенных феноменов, связанных с активацией κ -рецепторов. Выполненные нами эксперименты показали, что предварительная блокада вегетативных ганглиев гексаметонием полностью устраняет эти эффекты.

Учитывая полученные результаты, можно констатировать, что κ -рецептор-зависимое снижение электрической стабильности сердца обусловлено модулирующим влиянием опиоидов на вегетативную нервную систему. При этом общеизвестно, что стимуляция симпатической нервной системы способствует

повышению вероятности возникновения аритмий, а повышение тонуса n.vagus увеличивает электрическую стабильность сердца [113,125,171]. Исходя из этого, нам представляется логичным предположить, что проаритмогенный эффект активации центральных κ -рецепторов связан с повышением тонуса симпатического отдела вегетативной нервной системы.

Таким образом, мы убедились, что центральные μ -, δ -, κ -опиатные рецепторы принимают активное участие в регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Одним из путей реализации ритмотропных эффектов, вызываемых экзогенными и эндогенными агонистами опиатных рецепторов, можно считать наблюдаемое при этом изменение функционального состояния автономной нервной системы.

Заключая обсуждение нашей работы, посвященной изучению роли опиатных рецепторов в регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, необходимо подчеркнуть, что различные типы опиатных рецепторов играют неоднозначную роль в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, а результат взаимодействия лигандов с опиатными рецепторами, во многом, зависит от локализации последних.

Активация центральных μ - и δ -опиатных рецепторов или периферических μ - и κ -рецепторов повышает, а стимуляция центральных κ -рецепторов, наоборот, снижает резистентность сердца к аритмогенным воздействиям. Обнаруженные эффекты, связанные со стимуляцией центральных опиатных рецепторов, реализуются при непосредственном участии вегетативной нервной системы. В то же время, антиаритмический феномен, наблюдаемый при активации периферических μ - и κ -рецепторов, не зависит от вегетативной нервной системы, а определяется иными, в достаточной мере неизученными факторами.

Так, остаются неизвестными тонкие молекулярные механизмы, обеспечивающие воздействие опиоидных пептидов на процессы регуляции резистентности миокарда к аритмогенным влияниям. Мы не знаем в каких структурах мозга локализованы опиатные рецепторы, участвующие в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Не определены нейротрансмиттерные системы, принимающие участие в реализации проаритмического или антиаритмического действия опиоидов.

Полученные на сегодня данные и нарастающий поток публикаций по проблеме опиатергической регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям дают нам все основания надеяться, что дальнейшие исследования позволят нам получить ответы на поставленные вопросы и расширить существующие представления о механизмах регуляции неспецифической резистентности миокарда к воздействиям аритмогенных факторов. Использование полученных нами результатов в лабораториях экспериментальной фармакологии может создать предпосылки для разработки новых антиаритмических препаратов на основе лигандов опиатных рецепторов.

ВЫВОДЫ

1. Периферические μ - и κ -опиатные рецепторы играют важную роль в процессах повышения естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям, на что указывает факт значительного ослабления аритмогенных воздействий адреналина и хлорида кальция на фоне стимуляции этих рецепторов. Изменение функциональной активности периферических δ -опиатных рецепторов достоверно не влияет на процесс регуляции электрической стабильности миокарда.

2. Стимуляция центральных μ - и δ -опиатных рецепторов сопровождается повышением устойчивости сердца к действию аритмогенных доз адреналина и хлорида кальция, тогда как возбуждение центральных κ -рецепторов, наоборот, потенцирует развитие нарушений сердечного ритма в указанных условиях.

3. Антиаритмические эффекты, наблюдаемые при стимуляции периферических μ - и κ -опиатных рецепторов, реализуются независимо от реакции вегетативной нервной системы на введение адреналина и CaCl_2 .

4. Обусловленное стимуляцией центральных μ - и δ -опиатных рецепторов повышение естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям опосредуется развитием ваготонии, а проаритмогенные эффекты, связанные с активацией центральных κ -рецепторов, реализуются за счет тонизирующего влияния на симпатическое звено вегетативной нервной системы.

ЛИТЕРАТУРА

1. Аничков С.В. Нейрофармакология.- Л. : Медицина,1982.- 384 с.
2. Баканов М.И., Бокерина Л.А., Тернова Т.И., Бершова Т.В., Михайлова И.А. Содержание ионизированного кальция в крови и ткани миокарда больных с эктопическими видами нарушения ритма сердца // Обмен кальция в физиологии и патофизиологии сердечно-сосудистой системы. Тез. докл. Всесоюзн.конф., ч.2.- 1988.-С.27-28.
3. Бурашников А.Ю., Перцов А.М., Медвинский А.Б., Кинский В.И. Повышение концентрации ионов калия в реперфузионном растворе с сопутствующим учащением стимуляции предотвращает реперфузионные аритмии // Кардиология.- 1994.- №4.- С.111-115.
4. Ватанабе А.М., Линдерман Дж.П. Механизмы адренергической и холинергической регуляции сократимости миокарда // В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1990.- Т. 2.- С.124-168.
5. Венцлавская Т.А., Куликова Н.Н., Коржова В.В., Стажадзе Л.Л. Состояние электролитного баланса при профилактике хлоридкальциевой аритмии новым препаратом // Ранняя диагностика и профилактика сердечно-сосудистых заболеваний. Тез. докл. Всесоюзн. конф. Новосибирск 8-10 июня 1983, ч.2.-С.78-80.
6. Генес В.С. Таблицы достоверных различий между группами наблюдений по качественным признакам.- М.: Медицина, 1964.- 80 с.
7. Грекова Т.И., Резников К.М., Винокурова О.В., Киреева А.А., Таратинова Т.И., Николаевский В.А., Щетинкина Н.А. Влияние даларгина на течение экспериментальные аритмии сердца // Эксперим. клин. фармакол.- 1994.- Т.57.- № 2.- С.24-26.
8. Денисенко П.П. // В кн.: Ганглиолитики и блокаторы нервно-мышечных синапсов.- Л., 1958.- С. 21-49.
9. Дикенсон Э. О локализации и механизмах действия опиоидов // Эксп. клинич. фармакол. - 1994.- Т.57.- №6.- С.3-12.

10. Журавлева Н.В. Основы клинической электрокардиографии.- Л.: Ленинградский комитет литераторов, кооп. "Кардиотест", 1990.- 94 с.
11. Касс Р.С. Ионные основы электрической активности сердца// В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1990.- Т.1.- С.128-149.
12. Коробов Н.В. Опиоидные свойства даларгина и его фрагментов// Нейропептиды: их роль в физиологии и патологии.- Томск, 1985.- С.73-74.
13. Коробов Н.В. Даларгин - опиоидоподобный пептид периферического действия// Фармакол. и токсикол.- 1988.- N 4.- С.35-38.
14. Кушаковский М.С., Журавлева Н.В. Аритмии и блокады сердца (атлас электрокардиограмм).- Л.: Медицина, 1981.- 340 с.
15. Кушаковский М.С. Аритмии сердца.- С-Петербург: Фолиант.- 1998.- 638 с.
16. Линдеман Д.П. Механизмы адренергической и холинергической регуляции сократимости миокарда// В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1990.- Т. 2.- С.124-168.
17. Лишманов Ю.Б., Маслов Л.Н. Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца.- Томск, 1994.- 352 с.
18. Мазур Н.А. Внезапная смерть больных ишемической болезнью сердца.- М.: Медицина, 1985.- 192 с.
19. Мазур Н.А., Абдалла А. Фармакотерапия аритмий.- М: Оверлей, 1995.- 224 с.
20. Мареев В.Ю. Сердечная недостаточность и желудочковые нарушения ритма сердца: проблемы лечения// Кардиология.- 1996.- № 12.- С.4-12.
21. Машковский М.Д. Лекарственные средства. I т.- М.: Медицина, 1993.- С.259-263.
22. Медведев О.С., Вальдман А.В., Титов М.И. Влияние энкефалинов на процессы центральной регуляции гемодинамики// Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1981.- № 5.- С.574-576.
23. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца.- М.: Медицина, 1984.- 272 с.
24. Михайлова С.Д., Сторожаков Г.И., Бебякова Н.А., Семушкина Т.М. О роли блуждающих нервов в антиаритмическом эффекте DAGO при острой ишемии миокарда// Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1997.- № 10.- С.377-379.

25. Мовчан Л.А. Электролиты крови при нарушениях сердечного ритма// Казанский мед.ж.- 1971.-№1.-С.13-15.
26. Мурашко В.В., Струтынский А.В. Электрокардиография.- М.: Медицина, 1991.- 288 с.
27. Нейлер В.Г., Дейли М.Дж. Кальций и повреждение кардиомиоцитов// В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1990.- Т.1.- С.556- 578.
28. Ноздрачев А.Д. Физиология вегетативной нервной системы.- Л.: Медицина, 1983.- 296 с.
29. Осадчий О.Е., Покровский В.М. Пептидергические механизмы в парасимпатической регуляции ритма сердца// Успехи физиол. наук.- 1993.- Т.24.- № 3.- С. 71-88.
30. Паппано А.Дж. Развитие постсинаптических рецепторов вегетативной нервной системы в сердце и их роль в регуляции работы сердца в ходе эмбрионального развития// В кн.: Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах. М.: Медицина, 1990.- Т.2.- С.91-123.
31. Петухова Н.И. О показателях гемодинамики и сдвигов электролитов при некоторых аритмиях// Казанский мед. ж.- 1971.- №1.- С.15-17.
32. Покровский В.М., Осадчий О.Е., Курзанов А.Н. Пептидергическая модуляция вагусного влияния на сердечный ритм// Бюлл. эксперим. биологии и медицины.- 1991.- №12.- С.565-567.
33. Поротиков В.И., Лазарев А.В., Глезер Г.А. Современные представления об ионных механизмах аритмий сердца и возможных механизмах действия сердечных антиаритмиков// Успехи физиол. наук.- 1984.- Т.15.-№3.- С.42-63.
34. Розен М.Р. Антиаритмические вещества: обучение врачей и фармакологов// Кардиология.- 1996.- № 6.- С.19-27.
35. Розенштраух Л.В., Зайцев А.В. Роль блуждающих нервов в развитии суправентрикулярных аритмий// Кардиология.- 1994.- Т.34.- N 4.- С.47-53.
36. Селье Г. Концепция стресса как мы ее представляем в 1976 году// Новое о гормонах и механизме их действия.- Киев: Наукова Думка, 1977.- С.27-51.
37. Сергеев П.В., Шимановский Н.Л. Рецепторы физиологически активных веществ.- М.: Медицина, 1987.- 400 с.

38. Синг С.Н. Внезапная смерть и аритмии, осложняющие течение сердечной недостаточности. Международное руководство по сердечной недостаточности.- М.: Медиа Сфера.- 1995.- С.57- 64.
39. Смагин В.Г., Виноградов В.А., Булгаков С.А. Лиганды опиатных рецепторов.- М.: Наука,1983.-272 с.
40. Сперелакис Н. Медленный потенциал действия и свойства медленных каналов миокардиальных клеток. Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1990.- Т. 1.- С.241-295.
41. Сперелакис Н. Электрические характеристики клеток в покое и поддержание распределения ионов. Физиология и патофизиология сердца. Под ред. Н.Сперелакиса. В 2-х томах.- М.: Медицина, 1990.- Т. 1.- С.90-127.
42. Ульянинский Л.С., Бескровнова Б.А., Кузнецова Б.А. Влияние двигательной активности на электрическую нестабильность сердца при экспериментальном эмоциональном стрессе// Внезапная смерть. Материалы III сов.-амер. симп., Каунас.- Вильнюс: Мокслас, 1984.- С.318-332.
43. Федоров Б.М. Механизмы нарушения и восстановления сердечной деятельности.- М.: Медицина,1968.- 312 с.
44. Филлипов А.К., Поротиков В.И., Кузнецов В.И. Анализ возникновения повторной активности трабекул предсердия лягушки методом фиксации потенциала.- Препринт, Пущино.- 1976.- С.3-14.
45. Чазов Е.И. Эмоциональные стрессы и сердечно-сосудистые заболевания// Вестник АМН СССР.- 1975.- N 8.- С.3-8.
46. Чинкин А.С. Соотношения адреналин :норадреналин и альфа-:бета-адренорецепторы в миокарде и адренергические хроно- и инотропные реакции при экстремальных состояниях и адаптации// Успехи физиол. наук.- 1992.- Т. 23.- № 3.- С.97-106.
47. Шварц Ю.Г., Киричук В.Ф. Прогноз осложнений, развившихся вследствие введения антиаритмических препаратов при пароксизмальных наджелудочковых тахиаритмиях на догоспитальном этапе лечения// Кардиология.- 1997.- № 8.- с.31-35

48. Шульман В.А., Ганкин И.М. Патогенетическая и прогностическая роль электролитных сдвигов крови в возникновении аритмий при инфаркте миокарда// Кардиология.- 1971.- Т.14.- № 3.- С.59-63.
49. Янушкевичус З.И., Бредикис Ю.Ю., Лукошявичюте А.Й., Забела П.В. Нарушения ритма и проводимости сердца.- М.: Медицина, 1984.- 288 с.
50. Allessie M.A., Wijffels M.C., Kirchhof C.J. Experimental models of arrhythmias: toys or truth? // Eur. Heart J.- 1994.- V.15.- Suppl.A.- P.2-8.
51. Anderson K.E., Dart A.M., Woodcock E.A. Reperfusion following myocardial ischaemia enhances inositol phosphate release in the isolated perfused rat heart// Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.- 1994.- V.21.- N 2.- P.141-144.
52. Arakawa K., De-Long W., Mulder A.N., Versteeg D.H. The electrically stimulated release of [3H]-noradrenaline from nucleus tractus solitarii slices in vitro is modulated via mu-opioid receptors// Eur. J. Pharmacol.- 1991.- V.192.- N 2.- P.311-6.
53. Baamonde A., Dauge V., Gacel G., Roques B.P. Systemic administration of (Tyr-D-Ser(O-Tert-Butyl)-Gly-Phe-Leu-Thr(O-Tert-Butyl), a highly selective delta opioid antagonist, induces mu receptor-mediated analgesia in mice// J.Pharmacol. Exp. Therap.- 1991.- Vol.257(2).- P. 767-773.
54. Baker P.F. Transport and metabolism of calcium ions in nerve// In: Calcium movement in excitable cells/Eds Baker P.F., Reuter H. Oxford: Pergamon Press, 1975.- P.7-53.
55. Benfey B.G. Cardiac α -adrenoceptors// Can. J. Physiol. Pharmacol.- 1980.- V.58.- P.1145-1157.
56. Benfey B.G. Function of myocardial α -adrenoceptors// Life Sci.- 1982.- V.31.- P.101-112.
57. Benfey B.G., Elfellah M.S., Ogilvie R.I. Antiarrhythmic effects of prazosin and propranolol during coronary artery occlusion and reperfusion in dogs and pigs// Br. J. Pharmacol.- 1984.- V.82.- P.717-725.

58. Bennett B., Singh S. Management of ventricular arrhythmias: then and now// Am. J. Crit. Care.- 1992.- V.1.- N 3.- P.107-114.
59. Billman G.E. The effect of adrenergic receptor antagonists on cocaine-induced ventricular fibrillation: alpha but not beta adrenergic receptor antagonists prevent malignant arrhythmias independent of heart rate// J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1994.- V.269.- N 1.- P. 389-401.
60. Bobrov V.A., Frolov A.I., Mitchenko K.I. Ventricular tachycardia: the role of adrenergic stimulation in the prognosis of fatal arrhythmia// Grud. Serdechnosudistaia Khir.- 1992.- N 3-4.- P.21-22.
61. Bolme P., Flusce K., Agnati L.F. Cardiovascular effects of morphine and opioid peptides following intracisternal administration in chloralose-anesthetized rats// Eur. J. Pharmacol.- 1978.- V.48.- P.319-324.
62. Bonhorst D. Sudden cardiac death: its definition and mechanisms// Rev. Port. Cardiol.- 1994.- V.13.- N 7-8.- P.609-614.
63. Bralet J., Didier J.P., Moreau D. Effect of α -adrenoceptor antagonists (phentolamine, nicergoline and prazosin) on reperfusion arrhythmias and noradrenaline release in perfused rat heart// Br. J. Pharmacol.- 1985.- V.84.- P.9-18.
64. Bristow M.R., Ginsburg R. Beta₂-receptors on myocardial cells in human ventricular myocardium// Amer. J. Cardiol.- 1986.- V.57.- N 12.- P.3-6.
65. Bruckner R., Mugge A., Scholz H. Existence and functional role of alpha ₁-adrenoreceptors in the mammalian heart// J. Mol. Cell. Cardiol.- 1985.- V.17.- P.639-645.
66. Bruckner R., Scholz H. Effects of α -adrenoceptor stimulation with phenylephrine in the presence of propranolol on force of contraction, slow inward current and cyclic AMP content in the bovine heart// Br. J. Pharmacol.- 1984.- V.82.- P.223-232.
67. Caffrey J.L. Enkephalin/catecholamine interactions in cardiac, skeletal, and intestinal muscle// J. Amer. Osteopath. Assoc.- 1984.- V.84.- N 1.- Suppl.- P.135-142.
68. Chang K.J., Rigdon G.C., Howard J.L., McNutt R.W. A novel, potent and selective nonpeptidic δ -opioid receptor agonist BW373U86// J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1993.- V.267.- N 2.- P.852-857.

69. Charpentier F., Baudet S., Le Marec. H. Triggered activity as a possible mechanism for arrhythmias in ventricular hypertrophy// *Pacing Clin. Electrophysiol.*- 1991.- V.14.- N 11. P.1735-1741.
70. Cheng C.Y., Wu S.C., Hsin L.W., Tam S.W. Selective reversible and irreversible ligands for the kappa opioid receptor// *J. Med. Chem.*- 1992.- V.35.- N 12.- P.2243-2247.
71. Coetzee W., Biermans G., Callewaert G., Vereecke J., Opie L.H., Carmeliet E. The effect of inhibition of mitochondrial energy metabolism on the transient inward current of isolated guinea-pig ventricular myocytes// *J. Mol. Cell Cardiol.*- 1988.- V.20.- N 3.- P.181-185.
72. Corr P.B., Cain M.E., Witkovski F.X., Price D.A., Sobel B.E. Potential arrhythmogenic electrophysiological derangements in canine Purkinje fibers induced by lysophosphoglycerides// *Circulat. Res.*- 1979.- V.44.-N 6.- P.822-832.
73. Corr P.B., Gillis R.A. Autonomic neural influence on the dysrhythmias resulting from myocardial infarction// *Circ. Res.*- 1978.- V.43.- N 1.- P.1-9.
74. Coumel P., Leenhardt A. Antiarrhythmic drugs: how to evaluate them?// *Am. Heart J.*- 1994.- V.127.- N4(2).- P.1119-1125.
75. Cowan A., Zhu X.Z., Mosberg H.I., Omnoas J.R., Porreca F. Direct dependence studies in rats with agents selective for different types of opioid receptor// *J. Pharmacol. Exp. Therap.*- 1988.- V.246.- N 3.- P.950-955.
76. De Jonge A., Timmermans P.B., van Zwieten P.A. Participation of cardiac presynaptic α_2 -adrenoreceptors in bradycardic effects of clonidine and analogues// *Naunyn-Schmied.Arch. Pharmacol.*- 1981.- V.317.-P.8-12.
77. DeLorenzo R.J., Freedman S.D., Wendly B.C. Stimulation of Ca^{+} -dependent neurotransmitter release and presynaptic nerve terminal proteine phosphorylation of calmoduline and calmodulin-like proteine isolated from synaptic// *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*- 1979.- V.76.- P.1838-1842.
78. Dietz R., Osterziel K.J. Role of the sympathetic nervous system in heart failure// *Z. Kardiol.*- 1991.-V.80.- Suppl.8.- P.31-36.
79. Dennis S.C., Coetzee W.A., Cragoe E.J., Opie L.H. Effects of proton buffering and of amiloride derivatives on reperfusion arrhythmias in isolated rat hearts. Possible

- evidence for an arrhythmogenic role of Na(+)-H⁺ exchange// *Circ. Res.*- 1990.- V.66.- N 4.- P.1156-1159.
80. Ehlert F.J. Coupling of muscarinic receptors to adenylate cyclase in the rabbit myocardium: effects of receptor inactivation// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1987.- V.240.- N 1.- P.23-30.
81. Eiden L.D., Ruth J.A. Enkephalins modulate the responsiveness of rat atria in vitro to norepinephrine// *Peptides.*- 1982.- V.3.- P.271-281.
82. Endoh M., Blinks J.R. Regulation of the intracellular Ca⁺⁺ transient and Ca⁺⁺-sensitivity of myofibrils via α and β -adrenoceptors in the rabbit papillary muscle// *Cell Calcium.*- 1984.- V.5.- 301 Abstract.
83. Esler M. The autonomic nervous system and cardiac arrhythmias// *Clin. Auton. Res.*- 1992.- V.2.- N 2.- P.133-135.
84. Fagbemi O., Lepran I., Parratt J.R. Naloxone inhibits early arrhythmias resulting from coronary ligation// *Brit. J. Pharmacol.*- 1982.- V.76.- P.504-506.
85. Fagbemi O., Kane K.A., Lepran I. Antiarrhythmic actions of meptasinol, a partial agonist at opiate receptors, in acute myocardial ischemia// *Brit. J. Pharmacol.*- 1983.- V.78.- P.455-460.
86. Feldberg W., Wei E. Central cardiovascular effects of enkephalins and C-fragment of lipotropin// *J. Physiol. (London).*- 1978.- V.280.- P.18.
87. Ferrier G.R. Digitalis arrhythmias: Role of oscillatory afterpotentials.- *Prog. Cardiovasc. Dis.*- 1977.- V.19.- P.459-474.
88. Fisch C., Knoebel S.B., Feigenbaum H. Potassium and the monophasic action potential, electrocardiogram conduction and arrhythmias// *Prog. Cardiovasc. Dis.*- 1966.- V.8.- P.387- 418.
89. Forfar J.C. Neuroendocrine activation in congestive heart failure// *Am. J. Cardiol.*- 1991.- V.6.- N 67(12).- P.3C-5C.
90. Frey E., Avril G., Hartung E. Les effets antiarrhythmiques des opiates// *Cahiers d'anesthesiologie.*- 1981.- T.29.- N 5.- P.591-598.
91. Gacel G., Fournie-Zaluski M-C., Roques B.P. D-TyrSer-Gly-Phe-Leu-Thr, a highly preferential ligand for δ -opiate receptors// *FEBS Letters.*- 1980.- V.118.- N 2.- P.245-250.

92. Gardner R.M., Allen D.o. The relationship between cyclic nucleotide levels and glycogen phosphorylase activity in isolated rat hearts perfused with epinephrine and acetylcholine// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*-1977.- V.202.- P.346-353.
93. Gettes L.S., Surawicz B., Kim K.H. Role of myocardial K^+ and Ca^{++} in initiation and inhibition of ventricular fibrillation// *Am. J. Physiol.*- 1966.- V.211.- P.699-702.
94. Giagnoni G., Parolaro D., Casiraghi L. et al. Dermorphin interaction with peripheral opioid receptors// *Neuropeptides.*-1984.- V.5.- № 1-3.- P.157-160.
95. Giles T.D., Sander G.E. Comparative cardiovascular responses to intravenous capsaicin, phenyldiguanidine, veratrum alkaloids, and enkephalins in the conscious dog// *J. Auton.Pharmacol.*- 1985.- V.40.- P.711-714.
96. Gintant G.A. Advances in cardiac cellular electrophysiology: Implications for automacity and therapeutics// *Annu. Rev. Pharmacol. Toxicol.*- 1988.- V.28.- P.61-81.
97. Goldberg N.D., Haddox M.K. Cyclic GMP metabolism and involvement in biological regulation// *Annual Review in Biochemistry.*- Palo Alto: Annual Reviews inc., 1977.- V.46.- P.823-896.
98. Grossman P., Karemaker J., Wieling W. Prediction of tonic parasympathetic cardiac control using respiratory sinus arrhythmia: the need for respiratory control// *Psychophysiology.*- 1991.- V.28.- N 2.- P.201-216.
99. Grover G.J., McCulloch J.R., DAlonzo A.J., Sargent C.A., Atwal K.S. Cardioprotective profile of the cardiac-selective ATP-sensitive potassium channel opener BMS-180448 // *J.Cardiovasc. Pharmacol.*- 1995.- N25.- P.40-50.
100. Grumbach L., Howard J.W., Merrill V.L. Factors related to the irritation ventricular fibrillation in the isolated heart. Effect of calcium and potassium// *Circ. Res.*- 1954.- N 2.- P.452-459.
101. Handa B.K., Lane A.C., Lord J.A.H., Morgan B.A., Rance M.J., Smith C.F.C. Analogues of beta-LPH 61-64 possessing selective agonist activity at mu-opiate receptors// *Eur. J. Pharmacol.*- 1981.- V.706.- P. 531- 540.
102. Handler C.M., Mongock D.J., Zhao S.F., Geller E.B., Adler M.W. Interaction between opioid agonists and neurotensin on thermoregulation in the rat. I. Body temperature// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1995.- V.274.- P.284-292.
103. Hayashi Y., Sumikawa K., Maze M., Yamatodani A., Kamibayashi T., Kuro M., Yoshiya I. Dexmedetomidine prevents epinephrine-induced arrhythmias through

- stimulation of central alpha 2 adrenoceptors in halothane-anesthetized dogs// *Anesthesiology*.- 1991.- V.75. N 1. P.113-117.
104. Hayashi Y., Sumikawa K., Kamibayashi T., Yamatodani A., Mammoto T., Kuro M., Yoshiya I. Selective beta 1 and beta 2 adrenoceptor blockade on epinephrine-induced arrhythmias in halothane anaesthetized dogs// *Can. J. Anaesth.*- 1992.- V.39.- N 8.- 873-876.
105. Heijna M.H., Hogenboom F., Portoghese P.S., Mulder A.N., Schoffelmeer A.N. Mu- and delta-opioid receptor-mediated inhibition of adenylate cyclase activity stimulated by released endogenous dopamine in rat neostriatal slices; demonstration of potent delta-agonist activity of bremazocine// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1989.- V.249.- N 3. P.864-868.
106. Holaday J.W. Cardiorespiratory effects of mu and delta opiate agonists following third or fourth ventricular injections// *Peptides*.- 1982.- V.3.- N 6.- P.1023-1029.
107. Houdi A.A., Marson L., Davenport K.E., Van Loon G.R. Effect of β -FNA on sympathoadrenal, cardiovascular, and analgetic responses to DAMPGO at rest and during stress// *Pharmacol. Biochem. Behav.*- 1996.- V.53.- N 4.- P.927-933.
108. Huang X.D., Lee A.Y.S., Wong T.M. Naloxone inhibits arrhythmias induced by coronary artery occlusion and reperfusion in anaesthetized dogs// *Br. J. Pharmacol.*- 1986.- V.87.- P.475-477.
109. Huang M.H., Wolf S.G., Armour J.A. Ventricular arrhythmias induced by chemically modified intrinsic cardiac neurones// *Cardiovasc. Res.*- 1994.- V.28.- N 5.- P.636-642.
110. Hurwitz J.L., Josephson M.E. Sudden cardiac death in patients with chronic heart disease// *Circulation*.- 1992.- V.85.- N 1.- P.43-49.
111. Imai N., Kashiki M., Woolf P.D., Liang C.S. Comparison of cardiovascular effects of mu- and delta-opioid receptor antagonists in dogs with congestive heart failure// *Am. J. Physiol.*- 1994.- V.267.- N 3.- P.H912-H917.
112. Izenwasser S., Buzas B., Cox B.M. Differential regulation of adenylyl cyclase activity by mu and delta opioids in rat caudate putamen and nucleus accumbens// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1993.- V.267.- N 1.- P.145-152.

113. James R.G.G., Arnold J.M.O., Allen J.D. The effects of heart rate, myocardial ischemia and vagal stimulation on the threshold for ventricular fibrillation// *Circulation*.- 1977.- V.55.- N 2.- P.311-317.
114. January C.T., Fozzard H.A. Delayed after depolarizations in heart muscle: Mechanisms and relevance// *Pharmacol. Rev.*- 1988.- V.40.- P.219-227.
115. Jin W.-Q., Tai K.K., Chan T.K.Y. Further characterization of [³H]U69593 binding sites in the rat heart// *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1995.- V.27.- N 8.- P.1507-1511.
116. Jones D.N., Holtzman S.G. Long term kappa-opioid receptor blockade following nor-binaltorphimine// *Eur. J. Pharmacol.*- 1992.- V.215.- N 2-3.- P.345-348.
117. Kane K.A., Parrat J.R., Williams F.M. An investigation into the characteristics of reperfusion-induced arrhythmias in the anaesthetized rat and their susceptibility to antiarrhythmic agents// *Br. J. Pharmacol.*- 1984.- V.82.- P.349 -357.
118. Kantor P.F., Coetzee W.A., Carmeliet E.E., Dennis S.C., Opie L.H. Reduction of ischemic K⁺ loss and arrhythmias in rat hearts. Effect of glibenclamide, a sulfonylurea// *Circ. Res.*- 1990.- V.66.- N 2.- P.478-485.
119. Katz A., Messine F. Lipid membrane interactions and pathogenesis in ischemic damage in the myocardium// *Circulat. Res.*- 1981.- V.48.- N 1.- P.1-16.
120. Kent K.M., Smith E.R., Redwood D.R. Electrical stability of acutely ischemic myocardium// *Circulation*.- 1973.- V.49.- P.291-298.
121. Kerzner J., Wolf M., Kosowsky B.D. Ventricular ectopic rhythms following vagal stimulation in dogs with acute myocardial infarction// *Circulation*.- 1973.- V.47.- P.44-51.
122. Kiritsy-Roy R.J., Marson L., Van-Loon G.R. Sympathoadrenal, cardiovascular and blood gas responses to highly selective mu and delta opioid peptides// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1989.- V.251.- N 3.- P.1096-1103.
123. Kitaa J.M., Mitema E.S. Effects of antiarrhythmic drugs (verapamil, propranolol and lignocaine) on the electrocardiogram and haematology in adrenaline-induced arrhythmias in dogs anaesthetized with halothane// *Br. Vet. J.*- 1994.- V.150.- N 4.- P.365-376.
124. Kohlhard M., Haap K. 8-bromo-guanosine-3',5'-monophosphate mimics the effect of acetylcholine on slow response action potential and contractil force in mammalian atrial

- myocardium// *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1978.- V.10.- P. 573-576.
125. Kolman B.S., Verrier R.L., Lown B. The effect of vagus nerve stimulation upon vulnerability of the canine ventricle// *Circulation.*- 1975.- V.52.-P.578-585.
126. Kramer T.H., Shook J.E., Kazmierski W., Ayres E.A., Wire W.S., Hruby V.J., Bruks T.F. Novel peptidergic mu opioid antagonists: Pharmacologic characterization in vitro and in vivo// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1989. V.249.- N 2.- P.544-551.
127. Kuhar M., Pert C., Snyder S. Regional distribution of opiate receptor binding in monkey and human brain// *Nature.*- 1973.- V.245.- P.447-450.
128. Kurz T., Yamada K.A., Da Torre S.D., Corr P.B. Alpha 1-adrenergic system and arrhythmias in ischaemic heart disease// *Eur. Heart J.*- 1991.- V.12.- Suppl. F.- P.88-98.
129. Lai H., Carino M.A., Horita A., Guy A.W. Opioid receptor subtypes that mediate a microwave-induced decrease in central cholinergic activity in the rat// *Bioelectromagnetics.*- 1992.- V.13.- N 3.- P.237-246.
130. Laubie M., Schmitt H. Indication for central vagal endorphinergic control of heart rate in dogs// *Europ. J. Pharmacol.*- 1981.- V.71.- N 4.- P.401-409.
131. Lee A.Y.S., Zhan C.Y., Wong T.M. Effects of beta-endorphin on the contraction and electrical activity of the isolated perfused rat heart// *Intern. J. Peptide and Protein Res.*- 1984.- V.24.- P.525-528.
132. Lee A.Y.S., Wong T.M. Effects of dynorphin 1-13 on cardiac rhythm and cyclic adenosine monophosphate (cAMP) levels in the isolated perfused rat heart // *Neuroscience Lett.* -1987.- Vol.80.- P.345-352.
133. Lee A.Y.S. Endogenous opioid peptides and cardiac arrhythmias// *Int. J. Cardiol.*- 1990.- V.27.- N 2.- P.145-151.
134. Lombarde F., Verrier R., Lown B. Relationship between sympathetic neuronal activity, coronary dynamics and vulnerability to ventricular fibrillation during myocardial ischemia and reperfusion// *Am. Heart J.*- 1983.- V.105.- P.958-965.
135. Lown B., DeSilva R.A., Lenson R. Role of psychologic stress and autonomic nervous system changes in provocation of ventricular premature complexes// *Am. J. Cardiol.*- 1978.-V.41. - P.979-985.

136. Lown B., DeSilva R., Reich P. Psychophysiologic factors in sudden cardiac death// Amer. J. Psychiatr.-1980.- V.137.- N 11.- P.1325-1335.
137. Lubbe W.F., Gilchrist A.I., Holland R.K. Adenine nucleotides and ventricular fibrillation// J. Mol. Cell. Cardiol.- 1987.- V.19.- Suppl.- N 5.- P.23-33.
138. Lubbe W.F., Podzuweit T., Opie L.H. Potential arrhythmogenic role of cyclic adenosine monophosphate (AMP) and cytosolic calcium overload: implications for prophylactic effects of beta-blockers in myocardial infarction and proarrhythmic effects of phosphodiesterase inhibitors// J. Am. Coll. Cardiol.- 1992.-V.19.- N 7.- P.1622-33.
139. Manning A.S., Hearse D.J. Reperfusion-induced arrhythmias: mechanisms and prevention// J. Mol. Cell. Cardiol.- 1984.- V.16.- P.497-518.
140. Maslov L.N., Lishmanov Yu.B. The antiarrhythmic effect of D-Ala²,Leu⁵,Arg⁶-enkephalin and its possible mechanism// Int. J. Cardiology.- 1993.- V.40.- P.89-94.
141. Mattia A., Farmer S.C., Takemori A.E., Sultana M., Portoghese P.S., Mosberg H.I., Bowen W.D., Porreca F. Spinal opioid delta antinociception in the mouse: Mediation by a single subtypes of opioid delta receptor// J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1992.- V.260.- P.518-525,
142. May C.N., Dashwood M.R., Whitehead C.J., Mathias C.J. Differential cardiovascular and respiratory responses to central administration of selective opioid agonists in conscious rabbits: correlation with receptor distribution// Br. J. Pharmacol.- 1989.- V.98.- N 3.- P.903-913.
143. McIntosh T.K, Fernyak S., Yamakami I., Faden A.I. Central and systemic kappa-opioid agonists exacerbate neurobehavioral response to brain injury in rats// Am. J. Physiol.- 1994.- V.267(3 Pt 2).-P.665-72.
144. Micevych P., Elde R. Relationship between enkephalinergic neurons and the vasopressin and oxitacin neuroendocrine system of the cat. Annual immunohistochemical study// J. Comp. Neurol.- 1980.- V.190.- P.135-146.
145. Micol J.A., Laorden M.L. Effects of mu-, delta- and kappa-agonists on isolated right atria of the rat// Neuropeptides.- 1994.- V.26.-N 6.- P.365-370.

146. Millan M.J., Czlonkowski A., Lipkowski A., Herz A. Kappa-opioid receptor-mediated antinociception in the rat. II. Supraspinal in addition to spinal sites of action// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1989.- V.251.- N 1.- P. 342-350.
147. Millan M.J., Colpaert F.C. Opioid systems in the response to inflammatory pain: sustained blockade suggests role of κ - but not μ -opioid receptors// *Neuroscience.*- 1991.- V.42.- N 2.- P.541-553.
148. Ming Z., Nordin C., Aronson R.S. Role of L-type calcium channel window current in generating current-induced early afterdepolarizations// *J. Cardiovasc. Electrophysiol.*- 1994.- V.5.- N 4.- P.323-334.
149. Motte G., Dinanian S., Sebag C., Gueniche C., Slama M. Mecanismes electrophysiologiques des arythmies ventriculaires de l'infarctus du myocarde// *Arch. Mal. Coeur. Vaiss.*- 1994.- V.87.- N 1.- P.55-60.
150. Moreau D., Rochette L., Didier J.P., Opie L.H., Bralet J. Effects of increased heart work on release of norepinephrine and ventricular arrhythmias following reperfusion in the isolated rat heart// *J. Cardiovasc. Pharmacol.*- 1990.- V.15.- N 6.- P.927-932.
151. Myerburg R.J., Kessler K.M., Castellanos A. Pathophysiology of sudden cardiac death. *PACE.*- 1991.-V.14.- P.935-943.
152. Nawrath H. Does cyclic GMP mediate the negative inotropic effect of acetylcholine in the heart? *Nature.*- 1977.- V.267.- P.72-74.
153. Nayler W.G., Ferrari R., Poole-Wilson P.A., Yepetz C.E. A protective effect of a mild acidosis on hypoxic heart muscle// *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1979.- V.11.-P.1053-1071.
154. Olson G.A., Olson R.D., Kastin A.J. Endogenous opiates:1985// *Peptides.*- 1986.- V.7.- N5.- P.907-933.
155. Olson R., Kastin A., Olson G. Behavioral effects after systemic injection of opiate peptides// *Psychoneuroendocrinology.*- 1980.- N 5.- P.47-52.
156. 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.- V.12.- P.63-69.
157. Opie L.H., Coetzee W.A. Role of calcium ions in reperfusion arrhythmias: relevance to pharmacologic intervention// *Cardiovasc. Drugs Ther.*- 1988.- V.2.-N 5.- P.623-636.

158. Opie L.H., Clusin W.T. Cellular mechanism for ischemic ventricular arrhythmias// *Annu. Rev. Med.*- 1990.- V.41.- P.231-238.
159. Oppenheimer S.M. Neurogenic cardiac effects of cerebrovascular disease// *Curr. Opin. Neurol.*- 1994.- V.7.- N 1.- P.20-24.
160. Osnes J., Refsum H., Skomedal T., Oye I. Qualitative difference between beta-adrenergic and alfa-effects on rat heart muscle// *Acta Pharmacol. Toxicol.*- 1978.- V.42.- P.253-247.
161. Osnes J.B., Skomedal T., Oye I. On the role of cyclic nucleotides in the heart muscle contraction and relaxation// *Progr. Pharmacol.*- 1980.- V.4.- P.47-62.
162. Paakkari P., Paakkari I., Feuerstein G., Siren A.L. Evidence for differential opioid μ_1 - and μ_2 -receptor-mediated regulation of heart rate in the conscious rat// *Neuropharmacol.*- 1992.- V.31.- N 8.- P.777-827.
163. Pardridge W. Transport of nutrients and hormones through the blood-brain barrier// *Diabetologia.*- 1981.- V.20.- N 3.- P.246-254.
164. Parker G.W., Michael L.H., Hartley C.J., Skinner J.E., Entman M.L. Central beta-adrenergic mechanisms may modulate ischemic ventricular fibrillation in pigs// *Circ. Res.*- 1990.- V.66.- N 2.- P.259-270.
165. Patel J., Lee W., Fusilli L., Regan T.J. Anti-arrhythmic efficacy of beta-adrenergic blockade during acute ischemia in myocardium with scar// *Am. J. Med. Sci.*- 1994.- V.307.- N 4.- P.259-263.
166. Paxinos G., Watson C. *The Rat Brain in Stereotaxic Coordinates.*- New York: Academic Press, 1982.-200 p.
167. Pert C., Snyder S. Opiate receptor: demonstration in nervous tissue// *Science.*- 1973.- N 179.- P.1011-1014.
168. Pfeiffer A., Feuerstein G., Zerbe R.L. Mu-receptors mediate opioid cardiovascular effects at anterior hypothalamic sites through sympath-adrenomedullary and parasympathetic pathways// *Endocrinology.*- 1983.- V.113.- N 3.- P.929- 938.
169. Pitt B. The role of beta-adrenergic blocking agents in preventing sudden cardiac death// *Circulation.*- 1992.- V.85.- Suppl.1.- P.1107-1111.
170. Plotnikoff N., Miller G. Enkephalins as immunomodulators// *Int. J. Immunopharm.*- 1983.- V.5.- N 5.- P.437-441.

171. Podzuweit T., Louw G., Shaley B. Catecholamine /cyclic AMP/ Ca^{2+} -induced arrhythmias in the healthy pig heart// *Advances in Myocardiology*.- Baltimore: Univ. Park Press, 1980.- V.2.- P.133-143.
172. Podzuweit T., Opie L.H., Lubbe W.F. Cyclic adenosine monophosphate, ventricular fibrillation, and antiarrhythmic drugs// *Lancet*.-1976.- V.1.- P.341-342.
173. Pogwizd S.M., Corr B. The contribution of nonreentrant mechanisms to malignant ventricular arrhythmias// *Basic Res. Cardiol.*- 1992.- V.87.- Suppl. 2.-P.115-129.
174. Portoghese P.S., Lipkowski A.W., Takemori A.E. Binaltorphimine and norbinaltorphimine, potent and selective κ -opioid receptor antagonists// *Life Sci.*- 1987.- V.40.- P.1287-1291.
175. Portolano F., Filippelli A., Marrazzo R., Susanna V., Russo S., Stella L., Losasso C., Budetta S.N., Molinario L., Angrisani M. Cardiovascular and respiratory effects of dermorphin in rats// *Res. Commun. Chem. Pathol. Pharmacol.*- 1991.- V.71.- N 2.- P. 131-152.
176. Priori S.G., Corr P.B. Variations in arrhythmogenic response to catecholamines in acute myocardial ischemia// *Cardiologia*.- 1991.- V. 36.- N3.- P.229-235.
177. Priori S.G., Napolitano C., Diehl L., Schwartz P.J. Dispersion of the QT interval. A marker of therapeutic efficacy in the idiopathic long QT syndrome// *Circulation*.- 1994.- V.89.- N 4.- P.1681-1689.
178. Puerto S. Cerebrally induced cardiac arrhythmias// *Heart-Lung*.- 1994.- V.23.- N 3.- P.251-258.
179. 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.- 261.- P.303-309.
180. Rabinowitz S.H., Verrier R.L., Lown B. Mu scarinic effect of vagosympathetic trunk stimulation on the repetitive extrasystole (RE) threshold// *Circulation*.- 1976.- V.53.- N 4.- P.622-627.
181. Rabkin S.W. Effect of DAGO on epinephrine-induced arrhythmias in the rat and the interrelationship to the parasympathetic nervous system// *Life Sci.*- 1989.- V.45.- P.1039-1047.

182. Rabkin S.W. Dynorphin A (1-13) in the brain suppresses epinephrine-induced ventricular premature complexes and ventricular tachyarrhythmias// *Regulatory Peptides*.- 1992.- V.41.- P.95-107.
183. Rabkin S.W. Morphine and morphiceptine increase the threshold for epinephrine-induced cardiac arrhythmias in the rat through brain mu opioid receptors// *Clin. Experim. Pharmacol. Physiol.*- 1993.- V.20.- P.95-102.
184. Rabkin S.W. Verapamil has antiarrhythmic effects that are mediated in brain through endogenous opioids// *J. Cardiovasc. Pharmacol.*- 1994.- V.23.- N 5.- P.814-821.
185. Randich A., Robertson J.D., Willingham T. The use of specific opioid agonists and antagonists to delineate the vagally mediated antinociceptive and cardiovascular effects of intravenous morphine// *Brain Res.*- 1993.- V.603.- N 2.- P.186-200.
186. Romer D., Buscher H., Hill R.C., Maurer R., Petcher T.J., Welle H.B., Bakel H.C., Akkerman A.M. Bremazocine: a potent, long-acting kappa-agonist// *Life Sci.*- 1980.- V.27.- P.971-978.
187. Ronken E., Mulder A.H., Schoffelmeer A.N. Chronic activation of mu- and kappa-opioid receptors in cultured catecholaminergic neurones from rat brain causes neuronal supersensitivity without receptor desensitization// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1994.- V.286.- N 2.- P.595-599.
188. Rosenshtraukh L., Danilo P. Jr., Anyukhovskiy E.P., Steinberg S.F., Rybin V., Brittain-Valenti K., Molina-Viamonte V., Rosen M.R. Mechanisms for vagal modulation of ventricular repolarization and of coronary occlusion-induced lethal arrhythmias in cats// *Circ. Res.*- 1994.- V.75.- N 4.- P.722-732.
189. Rothman R.B., Bykov V., Xue B.G., Xu H., De Costa B.R., Jacobson A.E., Rice K.C., Kleiman J.E., Brady L.S. Interaction of opioid peptides and other drugs with multiple kappa receptors in rat and human brain. Evidence for species differences// *Peptides*.- 1992.- V.13.- P.977-987.
190. Ruth J.A., Eiden L.E. Leucine-enkephalin modulation of catecholamine positive chronotropy in rat atria is receptorspecific and calcium-dependent// *Neuropeptides*.- 1984.- V.4.- P.101-108.

191. Ruiz-Gayo M., Baamonde A., Turcaud S. In vivo occupation of mouse brain opioid receptors by endogenous enkephalins: blockade of enkephalin degrading enzymes by RB 101 inhibits [³H]diprenorphine binding// *Brain Res.*- 1992.- V.571.- P.306-312.
192. Saman S., Coetzee W.A., Opie L.H. Inhibition by simulated ischemia or hypoxia of delayed afterdepolarizations provoked by cyclic AMP: significance for ischemic and reperfusion arrhythmias// *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1988.- 20(2).- P.91-5.
193. 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.- V.7.- N 2.- P.259-265.
194. Sapru H.N., Punnen S., Willette R.N. Role of enkephalins in ventrolateral medullary of blood pressure // *Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation.* Edited by J.P.Bruckley, C.M. Ferrario. New York: Raven Press, 1987.- P.153-168.
195. Sarne Y., Hochman I., Eshed M. Antiarrhythmic action of naloxone: direct, non-opiate effect on the rat heart// *Life Sci.*- 1988.- V.43.- N 10.- P.859-864.
196. Schaz K., Stock G., Simon W. Enkephalin effects on blood pressure, heart rate and baroreceptor reflex// *Hypertension.*- 1980.- V.2.- N 4.- P. 395-407.
197. Schiller P.W., Nguyen T.M., Chung N.N., Lemieux C. Dermorphin analogues carrying an increased positive net charge in their "message" domain display extremely high μ opioid receptor selectivity// *J. Med. Chem.*- 1989.- V.32.- N 3.- P.698-703.
198. Schulman H., Greengard P. Calcium-dependent proteine phosphorylation system in membranes from various tissues, and its activation by "calcium-dependent regulation"// *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A.*- 1978.-V.75.- N 11.- P.5432-5436.
199. Seipel L., Hoffmeister H.M. Inotropic and haemodynamic effects of d- and d,l-sotalol: comparison with other antiarrhythmics// *Eur. Heart J.*- 1993. V.14.- P.36-40.
200. Sharma A.D., Saffitz J.E., Lee B.J. Alpha adrenergicmediated accumulation of calcium in perfused myocardium// *J. Clin. Invest.*- 1983.- V.72.- P.802-818.
201. Shen R.S., Jennings R.B. Myocardial calcium and magnesium in acute ischemic injury// *Amer. J. Pathol.*- 1972.- V.67.- P.417- 440.
202. Sheng J.Z., Dong H., Wong T.M. Effects of U-50488H, a k-agonist, on action potentials of isolated ventricular papillary muscle of guinea pigs// *Acta Pharmacol. Sinica.*- 1994.- V.15.- N 1.- P.36-38.

203. Schiller P.W., Nguyen T.M.-D., Chung N.N., Dionne G., Martel R. Peripheral antinociceptive effect of an extremely mu selective polar dermorphin analog (DALDA)// The International Narcotic Research Conference (INRC)'89.- Alan R. Liss, Inc.- 1990.- P.53-56.
204. Schomig A., Rehmert G., Kurz T., Richardt G. Calcium antagonism and norepinephrine release in myocardial ischemia// J. Cardiovasc. Pharmacol.- 1992.- V.20.- Suppl.7.- P.S16-20.
205. Shih H.T. Anatomy of the action potential in the heart// Tex.Heart Inst.J.- 1994.- V.21.- N1.- P.30-41.
206. Siren A.L., Paakkari P., Goldstein D.S., Feuerstein G. Mechanisms of central hemodynamic and sympathetic regulation by mu opioid receptors: effects of dermorphin in the conscious rat// J. Pharmacol. Exp. Ther.- 1989.- V.248.- N 2.- P.596-604.
207. Sitsapen R., Paratt J.R. The effects of drugs interacting with opioid receptors on the early ventricular arrhythmias arising from myocardial ischaemia// Br. J. Pharmacol.- 1989.- V.97.- P.795-800.
208. Skinner J.E., Lie J.T., Eutman M.L. Modification of ventricular fibrillation latency following coronary artery occlusion in conscious pig: The effects of psychological stress and beta- adrenergic blockade// Circulation.- 1975.- V.51.- P.656-667.
209. Skinner J. Psychosocial stress and sudden cardiac death: brain mechanism// Stress and Heart Disease.- Boston: Martinus Nijhoff Publishing, 1985.- P.44-59.
210. Skinner J.E. Neurocardiology shows that the central, not peripheral, action of propranolol reduces mortality following acute coronary artery occlusion in the conscious pig// Integr. Physiol. Behav. Sci.- 1991.- V.26.- N 2.- P.85-97.
211. Snyder S. Brain peptides as neurotransmitters// Science.- 1980.- N 209.- P.976-983.
212. Sofuoglu M., Portoghese P.S., Takemori A.E.// Eur. J. Pharmacol.- 1992.- Vol.216.- P.273-277.
213. 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.- V.82.- P.19-28.

214. Taborsky G.J., Halter J.B., Porte D. Morphine suppresses plasma catecholamine responses to laparotomy but not to 2-deoxyglucose// *Amer. J. Physiol. (Endo-crinol. Metabol. 5)*.- 1982.- V.242.- P.E317-E322.
215. Tai K.K., Bian C.F., Wong T.M. K-opioid receptor stimulation increases intracellular free calcium in isolated rat ventricular myocytes// *Life Sci.*- 1992. V.51.- P.909-913.
216. Takemori A.E., Loh H.H., Lee N.M. Suppression by dynorphin A and [Des-Tyr¹]dynorphin A peptides of the expression of opiate withdrawal and tolerance in morphine-dependent mice// *J.Pharmacol. Exper. Therap.*- 1993.- V.266.- N 1.- P.121-124.
217. Ten Eick R., Nawrath H., McDonald T.F., Trautwein W. On the mechanism of the negative inotropic effect of acetylcholine// *Pflügers Arch.*- 1976.- V.361.- P.207-213.
218. Thandroyen F.T., Worthington M.G., Higginson L.M. The effect of alpha- nad beta-adrenoceptor antagonist agents on reperfusion ventricular fibrillation and metabolic status in the isolatedperfused rat heart// *J. Amer. Coll. Cardiol.*- 1983.- V.1.- P.1056-1066.
219. Tsien R.W. Cyclic AMP and contracile activity in heart// *Adv. Cyclic Nucleotide Res.*- 1977.- V.8.- P.363-420.
220. Varagic V.M., Prostran M.S., Stepanovic S., Savic J., Vujnov S. Transmitter interactions in the central cholinergic control of blood pressure regulation// *Drug Metabol. Drug Interact.*- 1991.- V.9.- N 1.- P.49-76.
221. Ventura C., Bastagli L., Bernardi P. Opioid receptors in rat cardiac sarcolemma: effect of phenylephrine and isoproterenol// *Biochem. Biophys. Acta.*- 1989.- V.987.- P.69-74.
222. Ventura C., Spurgeon H.A., Lakatta E.G., Capoglossi M.C. Specific opioid receptor agonist alter the twitch and cytosolic Ca²⁺ transport of rat myocytes// *Circulation.*- 1989.- Vol.80.- N4.- P.191-196.
223. Ventura C., Lakatta E.G., Sisini A., Campus M.P., Capogrossi M.C. Leucine-enkephalin increases the level of inositol (1,4,5) triphosphate and releases calcium from an intracellular pool in rat ventricular cardiac myocytes// *Boll. Soc. It. Biol. Sper.*- 1991.- V.67.- N 3.- P.261-266.

224. Ventura C., Spurgeon H.A., Lakatta E.G., Guarnieri C., Capogrossi M.C. κ - and δ -opioid receptor stimulation affects cardiac myocyte function and Ca^{2+} release from an intracellular pool in myocytes and neurons// *Circ. Res.*- 1992.- V.70.- P.66-81.
225. VonVoigtlander P.F., Lewis R.A. Analgesic and mechanistic evaluation of spiradoline, a potent kappa opioid// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1988.- V.246.- N 1.- P.259-262.
226. Wang Y.X., Jin J.B., Wang F.Z. Vagal nerve stimulation induced suppression of ventricular fibrillation in rabbits// *Acta Physiol. Sin.*- 1987.- V.39.- N 4.- P.396-400.
227. Watanabe A.M., Jones L.R., Manalan A.S., Besch H.R. Cardiac autonomic receptors: recent concepts From Radiolabelled ligand binding studies// *Circ.Res.*- 1982.- Vol.50.- P.161-174.
228. Waxman M.B., Wald R.W. Termination of ventricular tachycardia by an increase in vagal drive// *Circulation.*- 1977.- V.56.- N 3.- P. 385-391.
229. Wei E.T., Kiang J.G. Peripheral opioid receptors influencing heart rate in rats// Opioid peptides in the periphery. Proc. Intern. Symp. Rome.- Amsterdam, 1984.- P.95-102.
230. Wild K.D., McCormic J., Bilsky E.J., McNutt R., Chang K., Porecca F. Antinociceptive actions of BW373U86 in the mouse// *J. Pharmacol. Exp. Ther.*- 1993.- V.267.-N 2.- P.858-864,
231. Willet R.N., Punnen S., Krieger A.J., Sapru H.N. Cardiovascular control by cholinergic mechanisms in the rostral ventrolateral medulla// *J. Pharmacol. exper. therap.*- 1984.- V.231.-N.2.- P.457-463.
232. Wit A.L., Granefield P.F. Reentrant excitation as a cause of cardiac arrhythmias// *Amer. J. Physiol.*-1978.- V.235.- N 1.- P.H1-H17.
233. Wong P.Y.K., Cheung W.Y. Calmoduline stimulates human platelet phospholipase A_2 // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*- 1979.- V.90.- N 2.- P.473-480.
234. Wong T.M., Lee A.Y.S., Tai K.K. Effects of drugs interacting with opioid receptors during normal perfusion or ischemia and reperfusion in the isolated rat heart - an attempt to identify cardiac opioid receptor subtype(s) involved in arrhythmogenesis// *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1990.- V.22.- P.1167-1175.

235. Wong T.M., Lee A.Y.S., Zhan C.Y. Cardiac effects of beta-endorphin in the isolated perfused rat heart// *Neurosci. Lett.*- 1985.- Suppl.20.- P.538.
236. Worthington M.G., Opie L.H. Contrasting effects of cyclic AMP increase caused by beta-adrenergic stimulation or by adenylate cyclase activation on ventricular fibrillation threshold of isolated rat heart// *J. Cardiovasc. Pharmacol.*- 1992.- v.20.- N 4.- P.595-600.
237. Worthington M.G., Opie L.H. Effects of calcium channel agonism by Bay-K-8644 on ventricular fibrillation threshold of isolated heart// *Cardiovasc. Drugs Ther.*- 1992.- V.6.- N 6.- P.597-604.
238. Wu J.P., Chen Y.T., Lee A.Y. Opioids in myocardial ischaemia: potentiating effects of dynorphin on ischaemic arrhythmia, bradycardia and cardiogenic shock following coronary artery occlusion in the rat// *Eur. Heart J.*- 1993.- V.14.- N 9. P.1273-1277.
239. Xiao R.P., Pepe S., Spurgeon H.A., Capogrossi M.C., Lakatta E.G. Opioid peptide receptor stimulation reverses beta-adrenergic effects in rat heart cells// *Amer. J. Physiol.*- 1997.- V.272.- N 2.- P.H797-H805.
240. Xiao R-P., Spurgeon H.A., Capogrossi M.C., Lakatta E.G. Stimulation of opioid receptors on cardiac ventricular myocytes reduces L-type Ca^{2+} channel current // *J. Mol. Cell. Cardiol.*- 1993.- Vol.25.- P.661-666.
241. Zajac J-M., Gasel G., Petit F. Deltakephalin, Tyr-D-Thr-Gly-Phe-Leu-Thr: a new highly potent and fully specific agonist for opiate delta-receptors// *Biochem. Biophys. Res. Comm.*- 1983.- V.111.- N 2.- P.390-397.
242. Zhan Z.Y., Lee A.Y.S., Wong T.M. Naloxone blocks the cardiac effects of myocardial ischemia and perfusion in the rat isolated heart// *Clin. Exp. Pharmacol. Physiol.*- 1985.- V.12.- P.373-378.