

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
СИБИРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ
РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ МЕДИЦИНСКИХ НАУК
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ
ТОМСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КАРДИОЛОГИИ

На правах рукописи

Соленкова

Наталия Витальевна

УЧАСТИЕ K_{ATP} -КАНАЛОВ В РЕАЛИЗАЦИИ АНТИАРИТМИЧЕСКОГО ЭФФЕКТА
СТИМУЛЯЦИИ μ - И δ -ОПИАТНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПРИ ОСТРОЙ ИШЕМИИ,
РЕПЕРФУЗИИ И ПОСТИНФАРКТНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ

14.00.16 – патологическая физиология

14.00.06 – кардиология

Диссертация

на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук,
профессор В.Ю. Серебров
доктор медицинских наук,
Л.Н. Маслов

ОГЛАВЛЕНИЕ

	Стр
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ	5
ВВЕДЕНИЕ	6
Глава 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	13
1.1. Современные представления о патогенезе нарушений ритма сердца.	13
.	
1.2. Роль АТФ-зависимых K ⁺ -каналов в регуляции толерантности сердца к действию ишемии, реперфузии и аритмогенных факторов.	21
.	
1.3. Опиоидная система как модулятор устойчивости миокарда к ишемическим, реперфузионным и аритмогенным воздействиям.	31
Глава 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ	38
2.1. Объект исследования.	38
2.2. Характеристика методов исследования:	39
2.2.1. Моделирование острой ишемии с последующей реперфузией.	39
.	
2.2.2. Моделирование тотальной ишемии изолированного перфузируемого по Лангендорфу сердца с последующим восстановлением перфузии.	39
.	
2.2.3. Регистрация и оценка ишемических и реперфузионных нарушений ритма сердца.	40

2.2.4.	Моделирование постинфарктного кардиосклероза.	41
	
2.2.5.	Оценка электрической стабильности миокарда у крыс с постинфарктным кардиосклерозом.	41
	
2.3.	Характеристика используемых препаратов. . .	42

2.3.1. Лиганды опиатных рецепторов.	42
2.3.2. Модуляторы активности АТФ-зависимых K^+ -каналов.	43
2.3.3. Препараты для фармакологического изучения роли симпатической нервной системы в антиаритмическом эффекте опиоидов. .	44
2.4. Статистическая обработка	44
 Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ	 45
3.1. Исследование роли АТФ-зависимых K -каналов в аритмогенезе миокарда при острой ишемии/реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе.	45
3.1.1. Влияние активации сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов на устойчивость миокарда к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии.	46
3.1.2. Изменение электрической стабильности сердца при модуляции активности K_{ATP} -каналов в условиях постинфарктного кардиосклероза.	57
3.2. Участие μ - и δ -опиатных рецепторов в обеспечении устойчивости сердца к аритмогенному действию острой коронароокклюзии/реперфузии.	64
.	
3.2.1. Роль μ - и δ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости миокарда к аритмогенному действию острой	

ишемии/реперфузии.	65
.	
3.2.2. Вклад кардиальных μ - и δ -опиатных рецепторов в антиаритмический эффект опиоидов.	75
3.2.3. Участие АТФ-зависимых K^+ -каналов в опиатергическом повышении резистентности сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии/реперфузии.	78
.	
3.3. Влияние стимуляции μ - и δ -опиатных рецепторов на электрическую стабильность миокарда при постинфарктном кардиосклерозе.	84
3.3.1. Изменение порога фибрилляции желудочков под влиянием лигандов опиатных рецепторов при постинфарктном кардиосклерозе.	85
.	
3.3.2. Участие K_{ATP} -каналов в опиоид-опосредованном повышении электрической стабильности миокарда в условиях постинфарктного кардиосклероза.	92
.	
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	98
ВЫВОДЫ	108
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	109

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

- АД – артериальное давление
- АДФ – аденозиндифосфат
- АТФ – аденозинтрифосфат
- БЖА – без желудочковых аритмий
- ГЭБ – гематоэнцефалический барьер
- ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы
- ЖТ – желудочковая тахикардия
- ЖФ – желудочковая фибрилляция
- МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы
- НАДН⁺ – никотинамиддинуклеотид восстановленный
- НАДФН⁺ – никотинамиддинуклеотидфосфат восстановленный ОР – опиатные рецепторы
- ПФЖ – порог фибрилляции желудочков
- цАМФ – циклический аденозинмонофосфат
- цГМФ – циклический гуанозинмонофосфат
- ЧСС – частота сердечных сокращений
- HSP – белки теплового шока
- K⁺-каналы – калиевые каналы
- K_{АТФ}-каналы – АТФ-зависимые калиевые каналы
- Na⁺-каналы – натриевые каналы
- Na⁺, K⁺-АТФаза – натрий-калиевая АТФаза
- NO – оксид азота
- Ca²⁺-каналы – кальциевые каналы

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность проблемы. Изучение патогенетических особенностей нарушений ритма сердца остается одной из важных проблем современной патологической физиологии, клинической и экспериментальной кардиологии. В первую очередь, это связано с тем, что аритмии различного генеза являются наиболее частой причиной внезапной сердечной смерти кардиологических больных [13,24,58,60]. Кроме того, нарушения ритма сердца, возникая как осложнение многих патологических процессов в миокарде, значительно ухудшают течение основного заболевания и тяжесть состояния больного, что негативно сказывается на качестве жизни пациента [13,24,60]. При этом профилактика и терапия аритмий с помощью традиционных антиаритмических средств часто оказывается недостаточно эффективной, а иногда и небезопасной за счет проаритмогенного и отрицательного инотропного эффектов этих препаратов [13,24,58,60]. Одной из главных причин подобной ситуации является отсутствие патогенетически обоснованных методов профилактики и терапии нарушений сердечного ритма, что, в свою очередь, определяется ограниченностью наших знаний о генезе аритмий.

В связи с этим возникает необходимость поиска новых путей повышения электрической стабильности сердечной мышцы. Наиболее оптимальным в этом плане, на наш взгляд, является стимуляция эндогенных механизмов, способствующих повышению устойчивости миокарда к аритмогенным факторам.

В этом отношении определенного внимания заслуживает опиоидная система, которая, как известно, играет важную роль в аритмогенезе [1,3,20,21,32,102,109,111,120,121,122,140]. Она представлена опиатными рецепторами (ОР),

опиоидными пептидами - агонистами опиатных рецепторов, а также ферментами, осуществляющими посттрансляционный синтез опиоидных пептидов из высокомолекулярных предшественников и расщепление этих соединений до аминокислот [102,140]. В настоящее время установлена молекулярная структура четырех типов опиатных рецепторов: мю (μ), дельта (δ), каппа (κ) и opioid receptor like (ORL1-рецептор) [102]. Некоторые из этих рецепторов подразделены на субтипы, например, δ_1 и δ_2 , κ_1 и κ_2 [102]. Опиатные рецепторы принадлежат к семейству G-белок-сопряженных рецепторов и расположены на внешней поверхности клеточной мембраны [102,140]. Через $G_{i/o}$ -белок осуществляется передача сигнала от рецептора к ферментам, осуществляющим образование вторичных мессенджеров, например, аденилатциклазе, фосфолипазе C [102,140]. Стимуляция опиатных рецепторов приводит к увеличению синтеза NO, цГМФ [19,150], повышению активности протеинкиназы C [195,208], тирозинкиназы [208] и "открытие" АТФ-зависимых K^+ -каналов (K_{ATP} -каналов) [208].

Анализ данных литературы позволил нам предположить, что наиболее важную роль в регуляции электрической стабильности миокарда играют μ - и δ -опиатные рецепторы. Так, было показано, что внутривенное введение μ -агонистов, проникающих через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [113,149], а также их интрацеребровентрикулярная инфузия сопровождаются повышением устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [183,184,185]. Вместе с тем, стимуляция центральных μ -опиатных рецепторов не может использоваться в качестве подхода к профилактике или терапии нарушений сердечного ритма, поскольку активация этих рецепторов сопровождается формированием наркотической зависимости и угнетением дыхательного центра [140].

Исходя из этого, основное внимание в нашей лаборатории было сосредоточено на изучении антиаритмических эффектов стимуляции периферических опиатных рецепторов. Так, в 1993г нами были получены данные об антиаритмической активности пептидного агониста μ - и δ -рецепторов D-Ala²,Leu⁵,Arg⁶-энкефалина (даларгина), неспособного проникать через ГЭБ [150]. Этот факт позволил нам предположить, что стимуляция периферических опиатных рецепторов может использоваться для повышения электрической стабильности сердца. Однако было неизвестно, с активацией какого типа ОР (μ или δ) связано защитное действие даларгина. С одной стороны, μ -рецепторы до сих пор не обнаружены на сарколемме кардиомиоцитов [169], поэтому участие периферических μ -ОР в аритмогенезе оставалось спорным. Относительно роли δ -рецепторов в аритмогенезе известно, что активация δ_1 -субтипа этих рецепторов с помощью непептидного δ_1 -агониста TAN-67 сопровождается выраженным антиаритмическим эффектом [166], в развитии которого могут принимать участие δ -ОР, обнаруженные на сарколемме кардиомиоцитов [169]. Однако использованный в этих экспериментах δ_1 -лиганд TAN-67 проникает через ГЭБ, поэтому нельзя исключить возможность участия центральных δ_1 -ОР в реализации данного эффекта.

Исходя из вышесказанного, мы предположили, что стимуляция периферических μ - и δ -рецепторов может оказаться новым и перспективным подходом к профилактике и лечению аритмий сердца при острой и хронической ишемии миокарда, поскольку активация периферических опиатных рецепторов не вызывает формирование наркотической зависимости [140]. Основанием для этого предположения служат результаты наших предварительных исследований, свидетельствующие о высокой антиаритмической активности смешанного агониста μ - и δ -ОР

даларгина, не проникающего через ГЭБ, при острой коронароокклюзии и реперфузии [1,20,21,32,34]. Следует, однако, отметить, что в клинической практике антиаритмические средства используют не только для профилактики, но и для лечения аритмий, поэтому другим важным аспектом работы было изучение эффекта стимуляции μ - и δ -ОР на величину порога желудочковой фибрилляции при постинфарктном кардиосклерозе. Основанием для подобных экспериментов послужили наши предварительные исследования, в ходе которых удалось обнаружить повышение электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе в ответ на стимуляцию периферических опиатных рецепторов. Поскольку в данной работе также был использован неселективный агонист μ - и δ -рецепторов даларгин, то вклад каждого из этих типов рецепторов в отмеченный эффект оставался неизвестным.

Особый интерес исследователей вызывает изучение взаимодействия опиатных рецепторов и внутриклеточных сигнальных систем, опосредующих различные эффекты опиоидов на миокард. Известно, что стимуляция опиатных рецепторов приводит к изменению состояния многих сигнальных систем клетки [19,150,195,208]. Однако наиболее целесообразным нам представлялось изучение взаимодействия опиатных рецепторов и АТФ-зависимых K^+ -каналов (K_{ATP} -каналов). Это объясняется, с одной стороны, важным значением этих ионных каналов в аритмогенезе [208], а с другой, - их ключевой ролью в реализации кардиопротекторного эффекта опиоидов в условиях острой ишемии/реперфузии сердечной мышцы [208].

Цель исследования: Изучить участие АТФ-зависимых K^+ -каналов в реализации антиаритмического эффекта стимуляции

μ - и δ -опиатных рецепторов при острой ишемии, реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе.

Задачи исследования:

1. Изучить значение активации АТФ-зависимых K^+ -каналов в аритмогенезе миокарда при острой ишемии/реперфузии и при постинфарктном кардиосклерозе.
2. Исследовать эффект стимуляции периферических μ - и δ -опиатных рецепторов на частоту и характер окклюзионных и реперфузионных аритмий, а также величину порога желудочковой фибрилляции при постинфарктном кардиосклерозе.
3. Оценить значение кардиальных μ - и δ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенному действию ишемии и реперфузии *in vitro*.
4. Изучить участие АТФ-зависимых K^+ -каналов в изменениях устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям при стимуляции периферических μ - и δ -опиатных рецепторов.

Научная новизна. В работе впервые показано, что активация митохондриальных K_{ATP} -каналов способствует повышению электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе.

Впервые изучен вклад периферических μ -, δ_1 - и δ_2 -опиатных рецепторов в регуляцию устойчивости сердца к аритмогенному действию кратковременной коронароокклюзии и реперфузии.

Несомненную новизну представляют результаты, свидетельствующие, что стимуляция как μ -, так и δ_1 -

рецепторов обеспечивает повышение порога желудочковой фибрилляции при постинфарктном кардиосклерозе.

В работе впервые представлены свидетельства того, что антиаритмический эффект опиоидов может быть связан с активацией кардиальных опиатных рецепторов.

Принципиально новыми являются данные об участии $K_{ATФ}$ -каналов в реализации опиатергического повышения резистентности сердца к аритмогенным воздействиям.

Научно-практическая значимость. Результаты исследования расширяют и углубляют современные представления об аритмогенезе и дополняют их данными, с одной стороны, о важной роли периферических μ - и δ -опиатных рецепторов в регуляции электрической стабильности сердца, а с другой – о значении $K_{ATФ}$ -каналов в реализации антиаритмического действия опиоидов. Данная работа может быть использована при разработке новых антиаритмических препаратов, отличающихся от "классических" антиаритмиков прежде всего по внутриклеточным механизмам действия.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. АТФ-зависимые K^+ -каналы играют важную роль в регуляции процессов аритмогенеза при острой ишемии/реперфузии и в условиях постинфарктного кардиосклероза.
2. Активация периферических μ - и δ_1 -опиатных рецепторов повышает электрическую стабильность миокарда как на модели острой коронароокклюзии/реоксигенации, так и в условиях постинфарктного кардиосклероза.
3. Антиаритмический эффект стимуляции μ - и δ_1 -рецепторов при кратковременной коронароокклюзии и

постинфарктном кардиосклерозе обусловлен активацией митохондриальных АТФ-зависимых K^+ -каналов.

Апробация работы. Материалы диссертации представлены на I конгрессе молодых ученых Сибирского государственного медицинского университета «Науки о человеке» (Томск, 18-19 мая 2000); IV ежегодной осенней научной сессии Кемеровского научно-практического кардиологического центра СО РАМН «Актуальные проблемы кардиологии и сердечно-сосудистой хирургии» (Кемерово, 24 ноября 2000); втором ежегодном конкурсе молодых ученых и специалистов Сибирского государственного медицинского университета (Томск, 26 февраля 2001); втором ежегодном семинаре молодых ученых НИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН «Актуальные вопросы клинической и экспериментальной кардиологии» (Томск, 2001); II Российской конференции молодых ученых «Фундаментальные науки и прогресс клинической медицины» (Москва, 24-28 апреля 2001); II конгрессе молодых ученых Сибирского государственного медицинского университета «Науки о человеке» (Томск, 18-19 мая 2001); региональной научно-практической конференции «Диагностика и лечение фибрилляции предсердий» (Томск, 31 мая-1 июня 2001); Всероссийской конференции «Физиология организмов в нормальном и экстремальном состояниях» (Томск, 18-19 декабря 2001).

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 13 работ, из них 4 - в центральных журналах, 9 - в материалах российских конференций, региональных конференций.

Автор выражает глубокую благодарность своим научным руководителям, профессору В.Ю. Сереброву и д.м.н. Л.Н. Маслову за поддержку в проведении научных исследований, а так же признательность к.м.н. А.В. Крылатову и к.м.н. Т.В.

Ласуковой, принимавшим непосредственное участие в выполнении отдельных фрагментов исследований по тематике диссертационной работы.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Современные представления о патогенезе нарушений ритма сердца

Способность сердца ритмически сокращаться невозможна без спонтанного образования электрических импульсов в специализированных клетках миокарда с последующим их проведением [13,44]. Расстройства проведения импульса, нарушения связи и (или) последовательности между активацией предсердий и желудочков, а также изменения нормальной частоты, регулярности и источника возбуждения сердца являются определяющими факторами в возникновении сердечных аритмий [13].

Исходя из современных представлений электрофизиологии сердца, развитие аритмий может происходить по трем основным механизмам: нарушение генерации импульса, аномальное его проведение или их сочетание [13,45,80,223].

Патология возникновения импульсов может быть результатом эктопического автоматизма либо триггерной активности [223].

Спонтанная генерация электрических импульсов (автоматизм сердца), свойственная клеткам проводящей системы, обусловлена медленной спонтанной диастолической деполяризацией [13,15,43,44,45,56,57,223]. Этот процесс, характерный для истинных

водителей ритма (пейсмекерных клеток), заключается в постепенном снижении мембранного потенциала до порогового (критического) уровня, с которого начинается быстрая деполяризация [13,44]. Медленная спонтанная диастолическая деполяризация обусловлена совокупностью ионных процессов, связанных с функциями плазматических мембран. Важную роль среди них играет ток, переносимый преимущественно ионами натрия, входящими в клетку [15,56,223]. В физиологических условиях функцию истинного (доминирующего) водителя ритма выполняют Р-клетки синоатриального узла [13]. Их возбуждение вызывает генерацию потенциала действия в других автоматических клетках проводящей системы, которые являются латентными водителями ритма [13]. Эти латентные пейсмекеры могут доминировать, становясь источниками эктопической импульсации, при увеличении их спонтанной активности (ишемия, ацидоз, гипокалиемия, интоксикация сердечными гликозидами) или при уменьшении скорости диастолической деполяризации синусного узла (ваготония, органическое поражение узла) [13,45,151]. Важную роль в этих процессах играет повышение входящего натриевого и (или) кальциевого тока, а также снижение выходящего калиевого тока [13,223]. Волокна рабочего миокарда также могут стать источниками эктопической активности [11,13,26]. Это наблюдается в краевой зоне инфаркта миокарда под действием «токов повреждения», возникающих из-за разности потенциалов между здоровым и ишемизированным миокардом в условиях высокой активности симпатoadреналовой системы [101,151]. Эктопический автоматизм лежит в основе таких нарушений ритма сердца, как экстрасистолы с непостоянным индексом сцепления, парасистолия, эктопические ускоренные ритмы, пароксизмальные наджелудочковые и желудочковые тахикардии [175].

Аномальное образование импульсов, не связанное с автоматическими (самогенерирующими) механизмами, может быть представлено в форме постдеполяризаций. Такая генерация возбуждения называется триггерной (пусковой) активностью [13,80,223]. Постдеполяризации – дополнительные деполяризации, возникающие либо во время реполяризации (ранние), либо сразу после ее окончания (поздние). Триггерная активность является результатом снижения выходящего калиевого тока или увеличения входящего кальциевого тока, сопровождающих реполяризацию мембран кардиомиоцитов [11,13,117,223]. По механизму триггерной активности могут возникать экстрасистолы, пароксизмальная тахикардия и аритмии при интоксикации сердечными гликозидами, хинидином [54].

Патологическое проведение импульса наряду с аномальным его возникновением является важным аритмогенным механизмом [13,223]. Нормальное движение импульса в проводящей системе зависит от нескольких взаимосвязанных факторов: силы электрического импульса в возбужденном волокне, электрического ответа соседнего, еще не возбужденного участка, межклеточного электротонического взаимодействия, пассивных свойств клеточных мембран, анатомических особенностей строения волокон [13]. Изменение каждого из этих факторов может привести к нарушениям проведения возбуждения в миокарде [13], что проявляется замедлением или блокадой проведения импульса. Замедление проведения наблюдается в результате снижения скорости деполяризации клеточной мембраны, а блокады – при патологически удлиненном рефрактерном периоде [13,45].

Нередко причиной блокады или замедления проведения импульсов бывает снижение потенциала покоя в клетках, которым в нормальных условиях свойственен более быстрый электрический ответ (клетки Пуркинье, сократительные клетки предсердий и

желудочков) [13]. Одной из форм нарушений проведения является возникновение аритмий по механизму re-entry (повторного входа), обусловленному инактивацией или изменением электрофизиологии быстрых Na^+ -каналов при сохраненной функциональной активности Ca^{2+} - и K^+ -каналов [11,26]. Данный процесс может быть следствием неполной реполяризации мембран кардиомиоцитов, их функциональной гетерогенности, возникающих при гипоксии, гипо- или гиперкалиемии, интоксикации сердечными гликозидами.

Феномен рециркуляции возбуждения (re-entry) наблюдается в условиях медленного проведения импульсов, укороченного эффективного рефрактерного периода. Следствием этого является сохранение предыдущего импульса после систолы, приводящее миокард в возбужденное состояние сразу после периода рефрактерности [13,80]. Рециркуляция импульсов может быть обусловлена однонаправленным блоком в миокардиальных волокнах [80]. Различают macro re-entry и micro re-entry [13,223]. В последнем случае рециркуляция обычно носит случайный характер [13,223]. Такое разделение, прежде всего, основано на различии в размерах петли, в которой осуществляется повторный вход. Формирование macro re-entry требует наличия устойчивой замкнутой петли, длина которой зависит от периметра анатомического невозбудимого препятствия, вокруг которого движется импульс, и однонаправленной блокады проведения в одном из ее сегментов [182]. Кроме того, длина движущейся волны возбуждения должна быть короче длины петли, благодаря чему перед фронтом распространения возбуждения по кругу всегда имеется участок ткани, вышедший из состояния рефрактерности. При micro re-entry движение импульса осуществляется по замкнутому кольцу, не связанному с каким-либо анатомическим препятствием, не только по кругу, но и центростремительно в

различных направлениях [66,134]. Место схождения этих импульсов является функциональной основой для циркуляции волны возбуждения. Нарушение проведения импульсов играет детерминирующую роль в развитии синоаурикулярной и атриовентрикулярной блокад различной степени тяжести, желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции [66,134].

Этиологическими факторами вышеуказанных электрофизиологических нарушений в миокарде могут служить сдвиги нейрогенной, эндокринной (гуморальной) регуляции, а также болезни миокарда, его аномалии, врожденные или наследственные дефекты [13,27]. Все причинные факторы, влияя либо на активность симпатической и парасимпатической систем [4,16,17,48], либо на гормональный фон организма, в конечном счете, изменяют функционирование систем «вторичных мессенджеров» (цАМФ, цГМФ, кальций, кальмодулин) [4,16,17], приводя тем самым к изменению проницаемости клеточных мембран для ионов, нарушению их активного транспорта.

Трансмембранные ионные токи являются теми клеточными молекулярными процессами, суммарный результат функционирования которых и приводит к возникновению различных электрофизиологических явлений в сердечной мышце [39,46,80,87,117]. Общеизвестно, что в клетках миокарда трансмембранные ионные токи образуют функционально связанную интегральную систему, в которой активность каждого отдельного компонента системы зависит от активности других участников процесса, общего баланса ионов внутри и вне клетки, а также от воздействия изменений ионных концентраций на работу внутриклеточных регуляторных систем. Детерминирующую роль играют трансмембранные каналы быстрого входящего (натриевого) тока, медленного входящего (кальциевого) тока и выходящего

(калиевого) тока [39,80,87], а также электрогенный Na^+, K^+ -насос (Na^+, K^+ -АТФаза) [87], натрий-кальциевая обменная система [26].

Все эти механизмы активного и пассивного транспорта ионов взаимосвязаны, поскольку их активность определяется концентрациями одних и тех же ионов как внутри, так и вне клетки. Так, величина натриевого тока и эффективность работы $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обменника в качестве насоса, транспортирующего внутриклеточный кальций, зависит от трансмембранной разности потенциалов и трансмембранного градиента ионов Na^+ [26]. В свою очередь, два последних параметра определяются активностью Na^+, K^+ -насоса.

Большинство компонентов трансмембранного транспорта ионов регулируется «внутриклеточными мессенджерами» – цАМФ, цГМФ, кальций, кальмодулин [37]. В миокардиальных клетках под контролем циклазной системы находится система Ca^{2+} -тока, Na^+, K^+ -насос, а также пейсмекерный K^+ -ток клеток Пуркинье [213]. Повышение внутриклеточной концентрации цАМФ во всех случаях приводит к росту кальциевого тока [14,39]. Одновременно увеличение концентрации цАМФ сопровождается активацией системы Na^+, K^+ -насоса [37,87]. Повышение внутриклеточной концентрации цГМФ оказывает противоположное действие [87].

В свою очередь, циклазная система контролируется с одной стороны внешними гормонами через систему мембранных рецепторов [190], а с другой – внутриклеточной концентрацией ионов кальция [39]. Ионы кальция, связываясь с кальмодулином, способствуют активации аденилатциклазы и фосфодиэстеразы циклических нуклеотидов, а также мембранных форм фосфолипазы A_2 , продукты активности которых модулируют функциональное состояние гуанилатциклазы [37]. Кроме того, кальмодулин совместно с цАМФ играет ключевую роль в регуляции работы Ca^{2+} -

АТФазы саркоплазматического ретикулума [39], а также в фосфорилировании специальных протеинкиназ, активирующих Ca^{2+} -зависимый K^+ -ток [82].

Таким образом, ключевым звеном патогенеза, определяющим характер и тяжесть изменения электрофизиологических параметров сердечной мышцы, являются нарушения ионного гомеостаза. Именно они играют определяющую роль в развитии наиболее часто встречающихся в клинике аритмий при коронарной патологии, причиной которой является недостаток кислорода, т.е. полная или частичная ишемия соответствующих участков миокарда [87]. Недостаток кислорода приводит к угнетению окислительного фосфорилирования, однако это затрагивает, в первую очередь, не уровень АТФ, а внутриклеточный уровень креатинфосфата, который является ингибитором активности гуанилатциклазы [119]. В результате этого в клетке наблюдается относительный рост цГМФ [119]. На этой ранней стадии несколько снижается активность системы Ca^{2+} -каналов, что, однако, не приводит к заметному снижению сократимости и концентрации внутриклеточного кальция в период диастолы, так как параллельно уменьшается активность и Na^+, K^+ -насоса [46]. Спад активности данного насоса приводит к росту концентрации внутриклеточного натрия, уменьшению градиента ионов и росту концентрации внутриклеточного кальция в результате ухудшения $\text{Na}^+, \text{Ca}^{2+}$ -обменника, являющегося основным компонентом системы, удаляющей кальций из клетки [215].

Аналогичный по механизму рост содержания кальция наблюдается и в периферических адренергических терминалях, что сопровождается выбросом катехоламинов за счет активации кальмодулин-зависимых протеинкиназ [87]. Повышение уровня катехоламинов вызывает активацию аденилатциклазы и соответственно увеличение уровня цАМФ в кардиомиоцитах, рост кальциевого тока, активацию АТФаз и быстрый расход

энергоресурсов клеток [14]. На фоне недостатка АТФ в дальнейшем продолжается рост концентрации внутриклеточного кальция и натрия [46]. В результате активируется фосфолипазная система клетки с дальнейшим гидролизом АТФ без совершения полезной работы [46]. Все указанные процессы происходят на фоне максимальной активации гликолиза как за счет цАМФ-зависимых, так и за счет Ca^{2+} -зависимых механизмов [89]. Повышение концентрации внутриклеточного кальция активирует систему кальмодулин-зависимых протеинкиназ, модулирующих функциональное состояние АТФаз и фосфолипазы A_2 [37], что еще более усугубляет энергодефицит клетки. Важно отметить, что все вышеуказанные изменения носят обратимый характер до тех пор, пока не произойдет заметного повреждения клеточных мембран [87]. Прямым следствием активации фосфолипаз является нарушение баланса их активности с активностью ферментов, «репарирующих» фосфолипиды (ацилтрансферазы). В результате в мембранах клеток накапливаются продукты расщепления фосфолипидов – лизоформы фосфолипидов и ненасыщенные жирные кислоты, которые обладают сильным повреждающим действием, дестабилизируя клеточные мембраны и повышая их проницаемость для различных ионов [87]. После этого процесс становится практически необратимым [87], даже реоксигенация не может обеспечить возобновление функциональной активности кардиомиоцитов, поскольку активация системы окислительного фосфорилирования не приводит к возобновлению синтеза АТФ, а лишь загружает митохондрии дополнительным кальцием, свободно поступающим в кардиомиоцит через поврежденную сарколемму [10]. Вследствие этого, такие поврежденные клетки необратимо гибнут, создавая вокруг себя очаги поражения, основным фактором которого являются ненасыщенные жирные кислоты и лизоформы фосфолипидов [87]. Попадая в мембраны неповрежденных клеток,

эти липиды встраиваются в них, тем самым, увеличивая зону повреждения [87].

Таким образом, при ишемии ключевым звеном нарушения электрофизиологических свойств мембран клеток является потеря кардиомиоцитами контроля над внутриклеточным содержанием ионов кальция. Это, с одной стороны, активировывает выброс катехоламинов из симпатических терминалей в зоне ишемии, а, с другой, - стимулирует расход АТФ, ускоряя наступление «энергетического голода» [10]. Все это приводит к полной потере контроля над трансмембранными градиентами концентраций ионов, активации фосфолипаз, накоплению продуктов расщепления фосфолипидов и возникновению электрической нестабильности миокарда [87].

1.2. Роль АТФ-зависимых K^+ -каналов в регуляции толерантности сердца к действию ишемии, реперфузии и аритмогенных факторов

АТФ-зависимые K^+ -каналы (K_{ATP} -каналы) открыты в 1983г А. Нома [162] в препаратах мембран изолированных кардиомиоцитов левого желудочка. Позднее эти структуры были найдены в других тканях, а именно в головном мозге [212], эндотелии сосудов [72,128], в скелетных мышцах [203], в β -клетках поджелудочной железы [70,72,74], где модуляция их активности связана с регуляцией выброса инсулина. В 1991г I. Inoue обнаружил K_{ATP} -каналы на внутренней мембране митохондрий [73]. Таким образом, к настоящему моменту в кардиомиоцитах известны два пула K_{ATP} -каналов: сарколеммальные и митохондриальные, отличающиеся друг от друга как по молекулярному строению, так и по физиологической значимости [122]. В формировании структуры сарколеммального канала принимают участие два типа белковых субъединиц [69,72,122,124]:

- рецептор к сульфонилмочевине (SUR), кодируемый одним из двух генов SUR1 или SUR2 [69,72,122];

- непосредственно K^+ -канал, обращенный внутрь клетки, обеспечивающий выходящий калиевый ток (K_{ir}) [63,69,72,122].

В кардиомиоцитах область канала окружена четырьмя субъединицами $K_{ir6.1}$, каждая из которых требует наличия SUR2A-субъединицы для формирования полноценно функционирующего K_{ATP} -канала [72]. Строение митохондриальных K_{ATP} -каналов окончательно не изучено, однако G.D. Mironova и соавт. в 1999г показали, что в их структуре имеется субъединица $K_{ir6.1}$, аналогичная таковой в сарколеммальных K_{ATP} -каналах [186].

В своей работе А. Нома предположил, что открытые им сарколеммальные K_{ATP} -каналы являются связующим звеном между внутриклеточным метаболизмом и электрической активностью клеточной мембраны [162], а также доказал, что активация K_{ATP} -каналов играет роль эндогенного кардиопротекторного механизма [162,163]. Позднее это было подтверждено на различных экспериментальных моделях ишемии [115,122,123,152,176,199,208]. Так, прежде всего, было продемонстрировано, что активация K_{ATP} -каналов является ключевым звеном в развитии феномена, называемого "ischemic preconditioning" [90,99,120,122,137,152,158,166]. Этот феномен, обнаруженный в 1986г С.Е. Murry [156], заключается в способности коротких периодов коронароокклюзии оказывать значимый кардиопротекторный эффект при последующей более продолжительной ишемии. Указанный феномен выявлен у всех видов животных [83,142,147,156,219], а также у человека [178]. Позднее было показано, что наряду с кардиопротекторным эффектом, который сводится к уменьшению размеров зоны некроза и снижению выхода маркерных ферментов повреждения кардиомиоцитов, в результате феномена адаптации уменьшается

количество индуцированных ишемией аритмий [107], а также отмечается нормализация функционирования митохондрий [84]. К настоящему времени доказано, что в развитии ишемического прекоондиционирования участвуют многие клеточные структуры, в частности A_1 -аденозиновые [88,99,158,179,180], B_2 -брадикининовые [189], δ_1 -опиатные [111,158,159,170,195,196,208,209] и α -адренорецепторы [65,214]. Результатом их активации является "запуск" в клетке одного или нескольких сигнальных каскадов, включающих протеинкиназу C [109,177,181,202], фосфорилирование и/или транскрипцию генов таких протеинов, как HSP (heat shock proteins) [94,126], антиоксидантные ферменты (Mn-супероксиддисмутаза [131], пероксисомальная каталаза [97], глутатион-пероксидаза [97]), индуцибельная форма NO-синтазы [64], а также «открывание» K_{ATP} -каналов [88,99,121,179,210]. Участие последних в «ischemic preconditioning» впервые было показано при обнаружении способности блокатора K_{ATP} -каналов, производного сульфонилмочевины, глибенкламида, полностью устранять защитный эффект указанного феномена [121].

Исследования метаболизма миокарда в условиях ишемии показали, что K_{ATP} -каналы в физиологических условиях находятся в клетках в неактивном (закрытом) состоянии, однако в условиях снижения внутриклеточной концентрации АТФ ниже 2 мМ [163] наблюдается их активация. Кроме этого, модулирующее влияние на указанные клеточные структуры оказывают жирные кислоты и фосфолипиды [75], избыток лактата [75,143] и ионов водорода [71,108], а также увеличение содержания нуклеозиддифосфатов [145].

В 1980г были созданы фармакологические агенты, способные активировать K_{ATP} -каналы, позднее названные "активаторами K_{ATP} -каналов" [207,218]. Оказалось, что эти агенты (кромокалим,

никорандил, пинацидил) преимущественно действуют на клеточные мембраны гладких мышц [207], поэтому основными их эффектами являются антиангинальный (никорандил) и антигипертензивный (кромокалим и пинацидил) [207]. Механизм действия активаторов K_{ATP} -каналов основан на гиперполяризации мембран гладкомышечных клеток, угнетении кальциевого входа и вазодилатации [207]. Следует отметить, что вещества, ранее уже применявшиеся как гипотензивные (диазоксид), были реклассифицированы как активаторы K_{ATP} -каналов после обнаружения механизма действия [207]. Кроме того, выяснилось, что диазоксид стимулирует K_{ATP} -каналы в поджелудочной железе, что является противоположным антидиабетическому действию блокаторов K_{ATP} -каналов глибенкламида и толбутамида [207]. Позднее обнаружили, что активаторы K_{ATP} -каналов не только могут использоваться как периферические и коронарные вазодилататоры [207], но и как средства, способные защищать миокард от повреждающего действия острой ишемии/реперфузии [Gro76,96,106,123].

Так, активаторы K_{ATP} -каналов имитируют эндогенный кардиопротекторный эффект «ischemic preconditioning» [123,207], устраняемый предварительным введением блокатора этих каналов глибенкламида [207]. Кардиопротекторный эффект, свойственный активаторам K_{ATP} -каналов, проявляется улучшением постишемического восстановления функции сердца, увеличением времени до наступления электрического разобщения, нормализацией энергетического статуса и уменьшением размеров зоны некроза [90,123,136].

Указанное защитное действие, наблюдаемое как в случае фармакологической активации K_{ATP} -каналов, так и в результате классического прекодиционирования, первоначально объясняли «открыванием» сарколеммального пула K_{ATP} -каналов с последующим укорочением продолжительности потенциала действия [121,122] за

счет уменьшения фазы 3 (реполяризации) и, соответственно, рефрактерного периода [122,158], что, в свою очередь, может ингибировать вход ионов кальция в клетку через потенциал-зависимые кальциевые каналы L-типа [122] и предупреждать тем самым кальциевую перегрузку кардиомиоцитов [90,122]. В результате этого эффекта устраняется главный фактор ишемического повреждения сердца – перегрузка кардиомиоцитов ионами кальция, тем самым, способствуя повышению толерантности кардиомиоцитов к гипоксии [39,46]. Наблюдаемое одновременно с этим некоторое снижение сократимости, как результат низкой концентрации ионов кальция в саркоплазме, оказывает энергосберегающее действие на ишемизированные клетки [46].

Таким образом, первоначально предполагали, что защитное действие «ischemic preconditioning» и активаторов K_{ATP} -каналов связано с изменением электрической активности сарколеммы кардиомиоцитов [2,122]. Однако результаты исследований Z. Yao и G.J. Gross в 1994г показали, что укорочение продолжительности потенциала действия не является обязательным условием для реализации вышеозначенного кардиопротекторного эффекта [125,225]. Напротив, селективный активатор сарколеммальных K_{ATP} -каналов P-1075, снижающий длительность потенциала действия, не вызывал повышения толерантности сердца к ишемическому повреждению [193].

В то же время, K_{ATP} -каналы, расположенные на внутренней мембране митохондрий, были признаны эффекторами кардиопротекции [85,120,153,158,193,218]. Подтверждением этому факту служит, с одной стороны, способность селективного активатора митохондриальных K_{ATP} -каналов диазоксида повышать резистентность сердца к действию недостатка кислорода подобно «ischemic preconditioning» [85,153,218], не влияя при этом на электрическую активность сарколеммы, а, с другой, – устранение

протекторного действия прекондиционирования предварительным введением селективного блокатора именно митохондриального пула K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоата [153,204]. При этом предварительная инъекция селективного блокатора сарколеммальных K_{ATP} -каналов HMR 1098 не устраняет вышеозначенный защитный эффект [118,217].

Активация митохондриальных K_{ATP} -каналов также лежит в основе увеличения устойчивости сердца к повреждающему действию ишемии, наблюдаемого при использовании агонистов A_1 -аденозиновых [88,99,179,180], B_2 -брадикининовых [189], α_1 -адрено- [214] и δ_1 -опиатных [111,120,159,167,189,208,209] рецепторов. Так, при введении δ_1 -агониста опиатных рецепторов TAN-67 наблюдается значительное снижение размеров зоны некроза миокарда после 30-минутной ишемии и 2-часовой реперфузии у крыс [167,208]. Полученный эффект устраняется предварительным введением блокатора митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоата [167,181], тогда как антагонист сарколеммальных K_{ATP} -каналов HMR 1098 не влияет на степень опиоид-опосредованной защиты миокарда [167]. Однако, вопрос о том, каким образом сигнал поступает с клеточной мембраны на митохондрию, остается спорным. Предполагают, что связующую роль между G-протеин-сопряженными рецепторами и митохондриальными K_{ATP} -каналами играет протеинкиназа C [109,181]. Подтверждением этому служит тот факт, что активатор указанного фермента phorbol-12-myristate-13-acetate, не влияя сам по себе на состояние K_{ATP} -каналов, потенцирует эффект диазоксида [194]. Действие этого вещества ингибируется предварительным введением 5-гидроксидеканоата [194]. В пользу участия протеинкиназы C в качестве посредника в передаче сигнала к митохондриям также свидетельствует устранение кардиопротекторного эффекта, наблюдаемого при активации δ_1 -

опиатных и A_1 -аденозиновых рецепторов, предварительным введением ингибитора этого энзима chelerythrine [181,206]. При этом данный препарат не снимает защитного действия диазоксида, непосредственно влияющего на K_{ATP} -каналы митохондрий [194].

Механизм вышеуказанного кардиопротекторного эффекта в условиях острой ишемии до настоящего момента окончательно не изучен, однако в литературе рассматриваются несколько гипотез, согласно которым активация K_{ATP} -каналов способна модулировать следующие митохондриальные функции [120,154,193]: мембранный потенциал; процессы окисления и фосфорилирования; кальциевый гомеостаз; объем матрикса.

1. Активация K_{ATP} -каналов *in vivo* вызывает деполяризацию внутренней митохондриальной мембраны за счет увеличения входящего K^+ тока [120,127,154,193]. По данным T.J. Collins и соавт. митохондриальная деполяризация предупреждает активацию инозитолтрифосфата и тем самым снижает инозитолтрифосфат-стимулированное повышение цитоплазматической концентрации ионов Ca^{2+} [133]. В экспериментах E.L. Holmuhamedov и соавт. на изолированных митохондриях кардиомиоцитов показано, что направление изменения мембранного потенциала зависит от концентрации экстрамитохондриального калия [154]. Так, «открытие» K_{ATP} -каналов в условиях высокого содержания калия снаружи митохондрий сопровождается входящим K^+ током и деполяризацией митохондриальной мембраны [154], а при отсутствии или снижении концентрации этого иона – выходом калия и ее гиперполяризацией [122,154]. При этом, деполяризация мембраны, наблюдаемая при действии активаторов K_{ATP} -каналов (дiazоксид, кромокалим), ингибируется предварительным введением блокатора этих каналов 5-гидроксидеканоата [122,154], тогда как сам препарат не оказывает влияния на мембранный потенциал [154].

2. Увеличение объема митохондриального матрикса (набухание), зависящее от проницаемости мембраны для осмотически активных веществ, в том числе ионов калия [122,154]. Так, в исследованиях А.Ж. Kowaltowski и соавт. показано, что диазоксид предупреждает сокращение объема митохондрий, наблюдаемое в следствие ингибирования транспорта электронов в дыхательной цепи при острой ишемии [78]. Индуцированное активаторами K_{ATP} -каналов набухание митохондрий способствует, с одной стороны, увеличению проницаемости мембраны для макромолекул, таких как цитохром С и аденилаткиназа, содержание которых, по данным Е.Л. Holmuhamedov и соавт., увеличивается в среде инкубации митохондрий после активации митохондриальных K_{ATP} -каналов [154]. С другой стороны, увеличение объема митохондриального матрикса приводит к ускорению процессов окисления в дыхательной цепи. Так, наблюдается снижение мембранного потенциала, генерируемого протонным насосом [154], увеличивающее транспорт электронов по дыхательной цепи. Если одновременно с этим не повышается продукция доноров электронов ($НАДН^+$, $НАДФН^+$), то наблюдается окисление переносчиков в дыхательной цепи митохондрий [154], определяемое по изменению редокс-потенциала, оценка которого основана на регистрации флуоресценции флавиновых дегидрогеназ [153]. Y. Liu и T. Sato показали, что диазоксид-индуцированное «открытие» K_{ATP} -каналов вызывает повышение флуоресценции флавопротеинов [153]. Это увеличение дыхания, как свидетельствуют результаты исследований Е.Л. Holmuhamedov и соавт., снижает образование в дыхательной цепи активных форм кислорода, чем значительно уменьшает повреждение кардиомиоцитов при острой ишемии/реперфузии [154]

3. По данным G.J. Gross и R.M. Fryer [122], индуцированное активаторами K_{ATP} -каналов набухание митохондрий способствует увеличению продукции АТФ в экспериментах *in vivo*. Однако, результаты исследований E.L. Holmuhamedov и соавт. свидетельствуют, что добавление к изолированным митохондриям активаторов K_{ATP} -каналов снижает показатель синтеза АТФ на 50% и скорость перехода АДФ в АТФ на 13% [122,154].

4. Регуляция кальциевого гомеостаза проявляется в способности фармакологических агентов, открывающих K_{ATP} -каналы, устранять перегрузку митохондрий кальцием за счет выброса его из этих органелл и снижения входящего Ca^{2+} -тока в митохондрии [122,154], что способствует повышению толерантности сердца к повреждающим воздействиям [92,120,122,154,193]. Известно, что вход ионов Ca^{2+} в митохондрию осуществляется через Ca^{2+} -унипортер и зависит от разницы мембранного потенциала вдоль внутренней митохондриальной мембраны [155]. Снижение входа Ca^{2+} может быть либо в результате прямого ингибирования унипортера, либо при рассеивании мембранного потенциала [155]. Гипотетически, активаторы K_{ATP} -каналов могут воздействовать на любой из указанных механизмов и препятствовать накоплению Ca^{2+} в митохондрии, однако некоторые авторы наиболее вероятным считают второй механизм [122].

Важно отметить, что кроме исследования протекторных свойств K_{ATP} -каналов большой интерес ученых вызывает оценка их влияния на основные электрофизиологические параметры миокарда. Поскольку доказанным является факт активации этих структур в условиях недостатка кислорода, основное внимание ученых направлено на изучение роли этих каналов в аритмогенезе ишемических нарушений сердечного ритма.

К настоящему времени известно, что активаторы K_{ATP} -каналов могут проявлять как аритмогенную активность, так и

антиаритмические свойства [106,135,147,161,166,188,204,222]. Так, исследования N. Takahashi и соавт. (1991) свидетельствуют, что активатор K_{ATP} -каналов никорандил предупреждал развитие CsCl-индуцированных желудочковых аритмий [161]. В то же время, по данным A.J. D'Alonzo и соавт., активаторы K_{ATP} -каналов (кромоналим, пинацидил) повышают частоту желудочковых аритмий при моделировании региональной ишемии изолированного сердца [106]. При этом, механизмы как антиаритмического, так и проаритмогенного действия активаторов K_{ATP} -каналов окончательно не изучены. Предполагают, что антиаритмический эффект активаторов K_{ATP} -каналов проявляется по отношению к аритмиям, основным механизмом развития которых является триггерная активность [86,106], тогда как частота аритмий, возникающих по механизму re-entry, возрастает [224]. Однако все эти данные справедливы, главным образом, для активаторов сарколеммальных K_{ATP} -каналов и связаны с их воздействием на продолжительность потенциала действия. Этим же объясняется снижение частоты возникновения аритмий, развивающихся по механизму триггерной активности [68,106], и усиление аритмий, основанных на механизме re-entry [96], при блокаде K_{ATP} -каналов.

Результаты исследований роли митохондриальных K_{ATP} -каналов в аритмогенезе также противоречивы. В работе H. Kita показано, что селективный блокатор митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоат устраняет наблюдаемое в результате «ischemic preconditioning» снижение частоты реперфузионных аритмий [204]. Кроме этого, исследования J.J. Schultz и соавт. свидетельствуют, что отмечаемое при введении δ_1 -агониста TAN-67 уменьшение частоты возникновения желудочковых аритмий в условиях острой ишемии/реперфузии in vivo также блокируется предварительной инъекцией 5-гидроксидеканоата [208]. Эти

исследователи предполагают, что 5-гидроксидеканоат, не действующий в использованных дозах на сарколеммальные $K_{ATФ}$ -каналы и, соответственно, на продолжительность потенциала действия, устраняет антиаритмический эффект как классического, так и фармакологического прекондиционирования за счет блокады именно митохондриальных $K_{ATФ}$ -каналов [208].

Таким образом, литературные данные свидетельствуют, что $K_{ATФ}$ -каналы играют важную роль в регуляции устойчивости сердца к воздействию острой ишемии/реперфузии и некоторых аритмогенных факторов. Однако роль митохондриального и сарколеммального пула $K_{ATФ}$ -каналов в регуляции электрической стабильности сердца остается не изученной.

1.3. Опиоидная система как модулятор устойчивости миокарда к ишемическим, реперфузионным и аритмогенным воздействиям

Опиоидная система представлена в организме двумя основными звеньями: опиоидные пептиды и опиатные рецепторы [102,140]. Опиоидные пептиды обнаружены в организме человека сравнительно недавно – в 70-х годах XX века. Несколько

лабораторий мира одновременно получили доказательства существования эндогенных биологически активных веществ, обладающих опиатоподобным действием [102,140]. В свою очередь, опиаты можно считать одними из наиболее древних лекарственных средств, используемых в медицинской практике уже более 5000 лет. Это связано с применением опиума, получаемого из опийного мака *Papaver somniferum*, обладающего выраженными анальгетическими и наркотическими свойствами [102,140]. Учитывая указанные эффекты опиатов, исследования физиологического значения эндогенных опиоидных пептидов первоначально сосредотачивались на изучении их роли в функционировании нервной системы. Так, основным процессом, в регуляции которого детерминирующую роль играют эндогенные опиоиды, была признана ноцицепция [91,102,139,140]. Однако позднее результаты научных исследований показали, что физиологический спектр действия опиоидных пептидов намного шире. Так, к настоящему времени накоплен большой фактический материал, свидетельствующий об участии эндогенной опиоидной системы в регуляции таких процессов как дыхание, поведение, настроение, память, основной обмен, а также в функционировании сердечно-сосудистой системы, в частности, в формировании устойчивости миокарда к патогенному действию стрессорных и аритмогенных факторов, к повреждениям, вызываемым острой ишемией сердечной мышцы и последующей реперфузией [1,3,20,21,32,102,109,111,120,121,122,140].

Такое многообразие эффектов, выявленное у эндогенных опиоидных пептидов объясняется, с одной стороны, полиморфизмом опиатных рецепторов (ОР), а с другой, - широкой распространенностью их как в центральной нервной системе, так и в периферических органах и тканях. Опиатные рецепторы - это

липопротеидные комплексы с молекулярной массой около 150000 дальтон, локализованные преимущественно на цитоплазматических мембранах клеток-мишеней, сопряженные с G-белками и обладающие способностью обратимо связывать опиаты, опиоидные пептиды и другие лиганды, опосредуя тем самым специфические эффекты на клеточном уровне [8,36]. Наибольшая плотность ОР отмечается в структурах мозга, ответственных за проведение и восприятие боли: задние рога спинного мозга, серое вещество околоспинального пространства, ядра таламуса, а также гипоталамус и некоторые отделы лимбической системы [102,139,140]. Кроме этого, ОР локализуются в стволовой части мозга, что определяет их участие в регуляции работы жизненно важных центров, прежде всего, продолговатого мозга. Следует отметить их наличие в железах внутренней секреции, многих органах, в частности миокарде [102,132,140,168,172,226].

Показано, что на клеточном уровне ОР могут располагаться на пре- и постсинаптических мембранах нейронов, на цитолемме нервных терминалей, в хромоафинных гранулах надпочечников [102,140]. Однако наиболее типичной является пресинаптическая локализация опиатных рецепторов [102,140]. К настоящему времени известно несколько основных типов опиатных рецепторов [102,140]:

- μ -ОР, наибольшим сродством к которым обладают морфин, эндоморфины, β -эндорфин;
- δ -ОР, лигандами которых являются энкефалины;
- κ -ОР, наиболее селективно избирательно взаимодействующие с динорфином, неозндорфином, кетоциклазоцином, бремазоцином;
- ϵ -ОР, которые наиболее чувствительны к β -эндорфину.

Существуют также данные о наличии и в сердечной ткани опиатных рецепторов. Так, результаты исследований ряда авторов свидетельствуют, что опиатные рецепторы расположены

непосредственно на сарколемме клеток миокарда [132,169]. Их активация сопровождается снижением амплитуды сокращений изолированных кардиомиоцитов, повышением активности фосфолипазы С и уровня инозитолтрифосфата, уменьшением активности аденилатциклазы, что обеспечивает истощение запасов кальция в саркоплазматическом ретикулуме и падение амплитуды сокращений [141,168,221]. Однако в литературе существует мнение, что кардиальные опиатные рецепторы расположены, главным образом, пресинаптически на симпатических и парасимпатических терминалях [130,168]. Результаты исследований Р. Illes и соавт. (1987) [130] свидетельствуют, что кардиотропные эффекты опиоидных пептидов обнаруживаются в экспериментах на изолированном сердце только при стимуляции симпатических и парасимпатических нервов, иннервирующих сердечную мышцу [130]. Функциональная значимость этих рецепторов определяется ингибированием выброса норадреналина и ацетилхолина из вегетативных нервных терминалей, расположенных в миокарде [42,49,55,81]. Причем подавление высвобождения ацетилхолина связывают с активацией μ -ОР [160], а норадреналина - со стимуляцией δ -ОР [164]. К настоящему времени известно большое количество как эндогенных, так и синтетических химических соединений, способных стереоспецифически связываться с ОР и, таким образом, индуцировать клеточный ответ (агонисты ОР) или конкурентное подавление реакции клетки-мишени на опиоид (антагонисты ОР), называемых лигандами опиатных рецепторов [19]. К лигандам ОР пептидной природы относятся энкефалины, эндорфины, динорфины, эндоморфины и их синтетические аналоги. Исследования биосинтеза этих соединений показали, что они возникают путем ограниченного протеолиза, по

меньшей мере, трех предшественников: проопиомеланокортина, проэнкефалина и продинорфина [102,140].

Таким образом, наличие ОР как в центральной нервной системе, так и в миокарде предполагает их участие в регуляции деятельности сердечно-сосудистой системы за счет модуляции состояния ОР по крайней мере на двух уровнях: центральном и периферическом. Существует значительное количество литературных данных, свидетельствующих о важной роли центральных ОР в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям [28,30,59]. Известно, что активация центральных μ_1 -ОР вызывает у экспериментальных животных тахикардию, а μ_2 -ОР, напротив, снижение частоты сердечных сокращений [110].

Следует отметить, что изменение ЧСС и АД не являются единственными эффектами лигандов ОР центрального действия. Литературные данные свидетельствуют, что агонисты ОР, проникающие через гематоэнцефалический барьер, обладают высокой антиаритмической активностью. Так, например, морфин, фентанил, мептазоцин уменьшают частоту и длительность желудочковой тахикардии и желудочковой фибрилляции при острой ишемии миокарда [113,149]. Согласно данным S. Rabkin [183, 184,185], стимуляция центральных μ -ОР путем интрацеребровентрикулярного введения [D-Ala²,MePhe⁴,Glyol⁵]-энкефалина (DAMGO) или морфина, а также активация центральных κ -ОР посредством внутривенной инфузии динорфина снижает частоту возникновения нарушений ритма сердца на моделях адреналовых и дигоксиновых аритмий [183,184,185]. Однако активация центральных ОР с помощью системного введения μ -агонистов, проникающих через ГЭБ, не может быть использована для терапии и профилактики аритмий, поскольку сопровождается формированием наркотической

зависимости и угнетением дыхания [140]. В этой связи, большой интерес у исследователей вызывает изучение эффектов, наблюдаемых при введении в организм лигандов опиатных рецепторов, не проникающих через ГЭБ. Так, установлено, что активация периферических μ -, δ - и κ -рецепторов повышает электрическую стабильность сердца в условиях острой ишемии/реперфузии [1, 3, 20, 23, 29, 32, 34, 41, 49, 50], а также на других моделях экспериментальных аритмий [21, 23, 52, 31, 33, 34, 59]. Кроме того, опиоиды, в отличие от классических антиаритмиков, не влияют или улучшают насосную функцию сердца во время реперфузии [19, 21, 30, 191].

К настоящему времени известно о позитивном влиянии опиоидов на скорость репаративных процессов в сердечной мышце при моделировании у животных острого инфаркта миокарда [5]. Так, в исследованиях Н.А. Афонской показано, что введение одного из энкефалинов – даларгина – кроликам на фоне острой ишемии стимулирует рост капилляров, пролиферацию клеточных элементов, образование коллагена и миофибробластов, что способствует полноценному рубцеванию и ускорению заживления сердца [5]. В ряде исследований, проведенных в последние годы, показано, что активация периферических, прежде всего, δ -рецепторов сопровождается кардиопротекторным эффектом в условиях острой ишемии/реперфузии в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*. Так, в лаборатории G.J. Gross показано, что активация периферических δ -ОР с помощью предварительного введения их селективного непептидного антагониста TAN-67 способствует ограничению зоны некроза при экспериментальной коронароокклюзии [109, 166, 196]. В исследованиях, проведенных в нашей лаборатории, показана способность опиоидов оказывать кардиопротекторный эффект в отношении стрессорного повреждения сердечной мышцы,

вызываемого 24-часовой иммобилизацией экспериментальных животных [33,38,51]. Так, введение агониста периферических μ -OP DALDA предупреждало выброс катехоламинов из надпочечников и адренергических терминалей сердца, что проявлялось снижением стресс-индуцированного повреждения кардиомиоцитов [33,38,51].

Важно отметить, что внутриклеточные механизмы указанных положительных эффектов периферических лигандов OP окончательно не изучены. Однако известно, что в кардиомиоцитах наблюдается опиоид-опосредованная активация одного или нескольких сигнальных каскадов. Так, согласно рабочей гипотезе G.J. Gross, защитный эффект лигандов OP связан с активацией K_{ATP} -каналов [208]. Так, показано, что предварительное введение животным блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида препятствует реализации защитного действия δ_1 -агониста TAN-67 [208]. При этом выявлено, что конечным эффектором опиоид-опосредованной кардиопротекции является митохондриальный, а не сарколеммальный пул K_{ATP} -каналов. Свидетельством этому является тот факт, что внутривенное введение блокатора митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоата как *in vivo*, так и на культуре кардиомиоцитов куриных эмбрионов препятствует развитию протекторного действия δ_1 -агониста TAN-67 и морфина [148,208]. Это проявляется тем, что в условиях блокады митохондриальных K_{ATP} -каналов в экспериментах *in vivo* не изменяется размер зоны некроза после активации опиатных рецепторов, а в экспериментах *in vitro* увеличивается процент погибших кардиомиоцитов и выход креатинфосфокиназы в инкубационную среду, несмотря на присутствие в этой среде морфина, который обычно «защищает» сердечную мышцу от патогенного действия ишемии [148,166]. Следует отметить, что окончательно не изучено, каким образом сигнал с

клеточного рецептора доходит до расположенного на внутренней мембране митохондрий K^+ канала, однако исследования R.M. Fryer и соавт. свидетельствуют, что опосредующую роль играет протеинкиназа C [109]. Кроме участия K_{ATP} -каналов в развитии опиоид-опосредованной защиты сердечной мышцы от ишемических и реперфузионных повреждений, важное значение для реализации антиаритмического и кардиопротекторного эффектов опиоидов имеет снижение внутриклеточного уровня цАМФ. Как известно, цАМФ модулирует работу Ca^{2+} -каналов в сердце через стимуляцию протеинкиназы А, которая, в свою очередь, фосфорилирует белки кальциевых каналов, что ведет к увеличению ионного тока по этим каналам и кальциевой перегрузке кардиомиоцитов [4]. В результате активации опиоидных рецепторов происходит уменьшение цАМФ-зависимого поступления ионов кальция в саркоплазму, и, следовательно, ограничение повреждающего действия избытка внутриклеточного кальция ($[Ca^{2+}]_i$) [35]. Согласно данным нашей лаборатории, внутривенное введение даларгина перед моделированием 15-минутной ишемии способствовало снижению уровня цАМФ в ткани миокарда [19].

Таким образом, анализ литературных источников, а также результаты исследований лаборатории экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН свидетельствуют, что опиоидная система играет важную роль в формировании устойчивости миокарда к аритмогенным воздействиям, а также к повреждению, вызванному острой ишемией/реперфузией. Однако остается не выясненным механизм этих эффектов на уровне клетки. Вместе с тем, участие K_{ATP} -каналов в реализации протекторного эффекта опиоидов позволяет нам предположить, что развитие антиаритмического действия лигандов опиоидных

рецепторов может быть также основано на стимуляции K_{ATP} -каналов.

2.1. Объект исследования

Работа выполнена на крысах линии Вистар массой 250 – 300 г. Животные содержались в стандартных условиях вивария. При проведении экспериментов мы руководствовались рекомендациями, изложенными в Приказе МЗ СССР за № 755 от 12 августа 1977г. В таблице 1 представлено распределение животных по сериям экспериментов.

Таблица 1.

Распределение животных по сериям экспериментов

№	Серия эксперимента	Число наблюдений
1	Ложно оперированные животные – группа сравнения для постинфарктного кардиосклероза	24
2	Контрольные животные с постинфарктным кардиосклерозом с введением физиологического раствора NaCl	48
3	Контрольные животные с коронароокклюзией и реперфузией с введением изотонического раствора NaCl	69
4	Контрольные животные с моделированием тотальной ишемии <i>in vitro</i>	16
5	Исследование влияния модуляции активности K_{ATP} -каналов на аритмогенез миокарда в условиях: – коронароокклюзии/реперфузии – постинфарктного кардиосклероза	188
		132
6	Исследование влияния активации опиатных рецепторов на аритмогенез миокарда в условиях: – коронароокклюзии/реперфузии – тотальной ишемии изолированного сердца – постинфарктного кардиосклероза	185
		32
		168
7	Изучение значения K_{ATP} -каналов в реализации антиаритмических эффектов опиоидов на модели: – коронароокклюзии/реперфузии – постинфарктного кардиосклероза	57
		72

2.2. Характеристика методов исследования

2.2.1. Моделирование острой ишемии с последующей реперфузией

Животные находились под комбинированным хлоралозно-калипсоловым наркозом в условиях искусственной вентиляции легких. Хлоралозу вводили за 1 час до коронароокклюзии в дозе 100 мг/кг внутрибрюшинно, калипсол – непосредственно перед моделированием острой ишемии в дозе 5 мг/кг внутривенно. Животных интубировали через трахеотомическое отверстие. Вентиляцию легких осуществляли комнатным воздухом с частотой дыхания 60 – 65 уд/мин с помощью модифицированного аппарата РО-2 (Петербург, Россия). Левостороннюю торакотомию производили в пятом межреберье на 2–3 мм кнаружи от грудины. Затем выполняли перикардиотомию и «вывихивали» сердце. Лигатуру накладывали на левую переднюю нисходящую коронарную артерию на 2 мм ниже предсердия. Коронароокклюзию верифицировали по появлению эпикардального цианоза и подъему сегмента ST [135,137,166,216]. Продолжительность периода острой ишемии составила 10 минут. Реперфузию осуществляли путем снятия лигатуры с коронарной артерии. Восстановление кровотока подтверждалось появлением эпикардальной гиперемии [135,137,166,216]. Запись ЭКГ проводили в течение 10 минут после возобновления коронарного кровообращения. Данный фрагмент работы выполнялся совместно с научным сотрудником НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, к.м.н. Крылатовым А.В.

2.2.2. Моделирование тотальной ишемии изолированного перфузируемого по Лангендорфу сердца с последующим восстановлением перфузии

Эвтаназию животных выполняли под легким эфирным наркозом методом цервикальной дислокации. После этого удаляли кожный

покров с грудной клетки и вскрывали ее ножницами, делая три разреза: один – поперек грудины, два – вдоль. Пинцетом с резиновыми наконечниками на браншах захватывали подходящие к сердцу сосуды, после чего их отсекали выше места захвата. Выделенное сердце с целью остановки спонтанных сокращений переносили в охлажденный до $+4^{\circ}\text{C}$ раствор Кребса-Хензелейта, после чего помещали в увлажненную камеру и вводили канюлю в восходящую дугу аорты, через которую поступал физиологический раствор. В работе использовали раствор следующего состава (в ммоль/л): $\text{NaCl} - 120$; $\text{KCl} - 4,8$; $\text{CaCl}_2 - 2,0$; $\text{MgSO}_4 - 1,2$; $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 1,2$; $\text{NaHCO}_3 - 20,2$; глюкоза – 10. Перфузионный раствор насыщали газовой смесью, содержащей 95% O_2 и 5% CO_2 . Для приготовления раствора использовали реактивы компании ICN Biomedical Research Products (Costa Mesa, CA, США) квалификации ASC Reagent Grade. Перфузию сердца проводили по методу Лангендорфа по открытому контуру. Температура раствора составляла $+37 \pm 0,5^{\circ}\text{C}$, давление – 60 мм.рт.ст., pH – 7,6. После двадцатиминутного адаптационного периода к условиям нормоксической перфузии, моделировали тотальную ишемию путем полного прекращения подачи перфузионного раствора на 45 минут. После этого сердце вновь перфузировали оксигенированным раствором Кребса-Хензелейта в течение 30 минут. Данный фрагмент работы выполнялся совместно со старшим научным сотрудником НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, к.м.н. Ласуковой Т.В.

2.2.3. Регистрация и оценка ишемических и реперфузионных нарушений ритма сердца

Регистрацию ЭКГ *in vivo* осуществляли во втором грудном (V_2) отведении в течение всего периода эксперимента с помощью усилителя биологических потенциалов УПФ-03 (Россия),

подключенного к компьютеру IBM/486. Запись и обработку данных производили полуавтоматическим способом при помощи оригинального пакета прикладных программ.

Регистрацию ЭКГ *in vitro* проводили до моделирования ишемии (исходные значения) и в течение всего реперфузионного периода. Электроды располагали на правом предсердии и левом желудочке. При оценке нарушений ритма принимали во внимание возникновение только желудочковых форм аритмий:

- единичные желудочковые экстрасистолы (6 – 16 за 10 мин)
- множественные желудочковые экстрасистолы (более 16 за 10 мин или 3–4 следующих друг за другом преждевременных сокращения)
- желудочковая тахикардия (более 4 последовательных желудочковых экстрасистол)
- желудочковая фибрилляция

2.2.4. Моделирование постинфарктного кардиосклероза

Крысам под эфирным наркозом выполняли трахеотомию в пятом межреберье, пересекали два ребра. Затем осуществляли перикардотомию и перевязку левой передней нисходящей коронарной артерии. Затем рану послойно ушивали, предварительно удалив воздух из грудной полости [146]. Через 6 недель у выживших животных отмечалось развитие постинфарктного кардиосклероза [146].

2.2.5. Оценка электрической стабильности миокарда у крыс с постинфарктным кардиосклерозом

Оценку электрической стабильности миокарда осуществляли по измерению порога фибрилляции желудочков (ПФЖ), за который принимали минимальную силу тока (μA), необходимую для

возникновения фибрилляции желудочков [150]. С этой целью стенку правого желудочка раздражали прямоугольными импульсами анодального тока длительностью 2 мс, наносимыми в "уязвимую" фазу сердечного цикла через биполярный электрод с помощью модифицированного кардиостимулятора ЭС-50-1 (Россия). Появление фибрилляции желудочков регистрировали на ЭКГ во втором грудном отведении (V_2) с помощью усилителя биологических потенциалов УПФ-03, персонального компьютера IBM/486 и пакета прикладных программ.

2.3. Характеристика используемых препаратов

2.3.1. Лиганды опиатных рецепторов

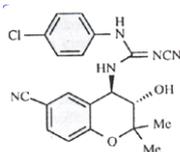
1. Агонист μ -рецепторов $\text{NH}_2\text{-Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH}_2$ (DALDA) в дозе 0,1 мг/кг [200,201].
2. Агонист δ_1 -рецепторов $\text{H-Tyr-D-Pen-Gly-Phe-D-Pen-OH}$ (DPDPE) в дозе 0,1 мг/кг [29,102].
3. Агонист δ_1 -рецепторов 2-methyl-4 α -(3-hydroxyphenyl) - 1,2,3,4,4 α ,5,12,12 α -octahydro-quinolino[2,3,3-g]isoquinoline (TAN-67) в дозе 5 мг/кг [166,195].
4. Агонист δ_2 -рецепторов [D-Ser², Leu⁵, Tyr⁶]-encephalin (DSLET) в дозе 0,5 мг/кг [114].
5. Антагонист μ -рецепторов $\text{NH}_2\text{-D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-L-Phe-Thr-NH}_2$ (CTAP) в дозе 0,5 мг/кг [100].
6. Антагонист δ -рецепторов N,N-diallyl-Tyr-Aib-Aib-Phe-Leu-OH (ICI 174,864) в дозе 0,5 мг/кг [98,129].
7. Блокатор всех типов периферических опиатных рецепторов 5-метилналоксон в дозе 5 мг/кг [67].

Использованные в работе пептидные лиганды опиатных рецепторов были синтезированы в компаниях "Multiple Peptide systems", "Chiron Mimotopes Peptide Systems" (Сан-Диего, США), и предоставлены Dr. K. Gormley (NIDA, США), TAN-67 был

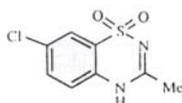
синтезирован и предоставлен Dr. H. Nagase из компании Toray Industries (Kanagawa, Япония). При выборе доз и режимов введения препаратов мы руководствовались данными о кардиопротекторных эффектах опиоидов *in vivo* [29, 67, 98, 100, 102, 114, 129, 166, 195, 200, 201]. Все лиганды опиатных рецепторов растворяли в 0,9% растворе NaCl и вводили внутривенно болюсом. Агонисты вводили за 10 мин до аритмогенного воздействия в экспериментах *in vivo*. Антагонисты вводили за 15 мин до агонистов.

2.3.2. Модуляторы активности АТФ-зависимых K-каналов.

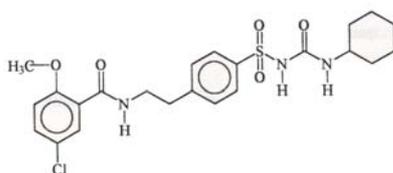
1. Активатор сарколеммального и митохондриального пулов K_{ATP} -каналов BMS 180448 в дозе 3 мг/кг [62,105].



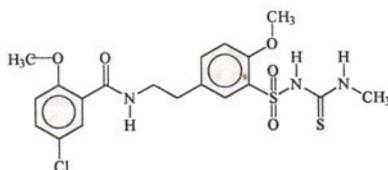
2. Активатор митохондриальных K_{ATP} -каналов диазоксид в дозе 10 мг/кг [76,137].



3. Блокатор сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов глибенкламид в дозе 0,3 мг/кг [217].



4. Ингибитор сарколеммальных K_{ATP} -каналов HMR 1098 в дозе 3 мг/кг [166,217].



5. Блокатор митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-hydroxydecanoate (5-hydroxydecanoic acid sodium) в дозе 5 мг/кг [216].

Активаторы K_{ATP} -каналов BMS 180448 синтезированы в компании Bristol Myers Squibb (США), HMR 1098 – Hoechst Marion Roussel (Frankfurt, Германия), глибенкламид, диазоксид, 5-гидроксидеканоат и methyl- β -cyclodextrin – RBI (Natick, MA, США). Диазоксид растворяли в 0,1 мл 0,1N раствора NaOH и 0,9 мл дистиллированной воды. Глибенкламид: 3 мг растворяли в 0,1 мл DMSO. Полученный раствор в объеме 10 μ l добавляли к 1 мл 45%-раствора methyl- β -cyclodextrin (450 мг methyl- β -cyclodextrin растворяли в 1 мл H₂O). HMR 1098 и 5-гидроксидеканоат разводили в 0,9% растворе NaCl. Активаторы K_{ATP} -каналов вводили за 10 мин до начала эксперимента, глибенкламид – за 45 мин, HMR 1098 – за 25 мин, 5-гидроксидеканоат – за 5 мин. Выбор доз и режимов введения препаратов осуществляли на основании литературных данных о кардиотропных эффектах активаторов и блокаторов K_{ATP} -каналов [62, 76, 105, 137, 166, 216, 217].

2.3.3. Препараты для фармакологического изучения роли симпатической нервной системы в антиаритмическом эффекте опиоидов

Ингибитор депонирования моноаминов в периферических нейронах – гуанетидин [12]. Препарат вводили в дозе 50 мг/кг внутривенно в течение трех суток, а на четвертые проводили эксперимент. При выборе дозы и схемы введения препарата мы руководствовались нашими ранее опубликованными данными [40].

1.4. Статистическая обработка.

Достоверность различий в выборках оценивали, используя параметрические (t-критерий Стьюдента) и непараметрические методы (метод χ^2 для качественных признаков) [7].

Глава 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

3.1. Исследование роли АТФ-зависимых К-каналов в аритмогенезе миокарда при острой ишемии/реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе

Несмотря на наличие значительного количества публикаций, посвященных изучению роли K_{ATP} -каналов в формировании устойчивости миокарда к повреждающему действию острой ишемии и последующей реперфузии, значение указанных структур в аритмогенезе изучено сравнительно слабо. Большинство исследований в этой области направлено на определение значимости K_{ATP} -каналов в развитии кардиопротекторного эффекта, наблюдаемого при феномене "ischemic preconditioning" [88,90,99,137,166], и в результате воздействия ряда фармакологических агентов на ишемизированный миокард [85,123,218]. Основной задачей этих исследований является определение влияния активации K_{ATP} -каналов на такие показатели клеточного повреждения, как размер зоны некроза, уровень креатинфосфокиназы и т.д., тогда как роль в аритмогенезе остается мало изученной.

Общеизвестным является тот факт, что генерация и проведение импульсов в сердечной мышце определяются прежде всего вне- и внутриклеточным содержанием таких ионов, как Na^+ , Ca^{2+} , K^+ и Cl^- [11,57], а модуляция состояния активности каналов, обеспечивающих указанные ионные токи, лежит в основе действия большинства классических антиаритмических препаратов [24,27]. В этой связи, представляется логичным предположить, что сарколеммальные и митохондриальные K_{ATP} -каналы, открытие которых сопровождается изменением баланса между вне- и

внутриклеточным содержанием ионов K^+ , могут играть значительную роль в аритмогенезе.

3.1.1. Влияние активации сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов на устойчивость миокарда к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии

В наших исследованиях моделирование острой коронароокклюзии *in vivo* сопровождалось развитием желудочковых аритмий в 87% случаев, причем у 63% экспериментальных животных зарегистрированы такие тяжелые нарушения ритма как желудочковая тахикардия (ЖТ) и желудочковая фибрилляция (ЖФ) (табл.2). Как показано в таблице 3, восстановление коронарного кровотока приводило к возникновению различных видов желудочковых аритмий в 100% случаев.

Предварительная активация K_{ATP} -каналов с помощью внутривенного введения BMS 180448 приводила к достоверному увеличению числа животных без желудочковых аритмий (БЖА). Так, количество крыс без желудочковых аритмий во время острой ишемии составляло 67% (табл.2), а во время реперфузии – 87% по сравнению с 13% и 0% в контроле, соответственно (табл.3).

При этом полностью предупреждалось развитие желудочковой фибрилляции в оба периода наблюдения и существенно снижалась частота возникновения желудочковой тахикардии и множественных желудочковых экстрасистол (МЖЭ) (табл.2,3).

В последующих сериях экспериментов мы определили, является ли антиаритмический эффект BMS 180448 результатом его взаимодействия с K_{ATP} -каналами, либо связан с каким-то другим механизмом. Для этого нами было использовано введение BMS 180448 на фоне фармакологической блокады K_{ATP} -каналов с помощью внутривенной инъекции глибенкламида. Как видно из таблиц 2 и 3, глибенкламид сам по себе не оказывал никакого влияния на частоту желудочковых аритмий в оба периода эксперимента по сравнению с контрольной группой.

Таблица 2.

Влияние модуляции активности K_{ATP} -каналов на частоту желудочковых аритмий в период острой ишемии миокарда.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Контроль	16	3 (19)	-	14 (88)	8 (50)	2 (13)
BMS 180448 за 10 мин до ишемии	15	** 10 (67)	1 (7)	* 4 (27)	*** 2 (13)	-
Глибенкламид за 45 мин до ишемии	14	3 (21)	1 (7)	11 (79)	6 (43)	-
Глибенкламид + BMS 180448	14	3 (21)	-	11 (79)	7 (50)	1 (7)
HMR 1098 за 25 мин до ишемии	13	3 (23)	-	10 (77)	7 (54)	-
HMR 1098 + BMS 180448	13	*** 12 (92)	-	*** 1 (8)	** -	-
5-гидроксидеканоат за 5 мин до ишемии	14	7 (50)	-	7 (50)	1 (7)	2 (14)

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: BMS 180448 – 3 мг/кг, глибенкламид – 0,3 мг/кг, HMR 1098 – 3 мг/кг, 5-гидроксидеканоат – 5 мг/кг.

Таблица 3.

Влияние модуляции активности K_{ATP} -каналов на частоту желудочковых аритмий в период постишемической реперфузии.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Контроль	16	-	-	16 (100)	11 (69)	4 (25)
BMS 180448 за 10 мин до ишемии	15	* 13 (87)	1 (7)	* 1 (7)	* -	*** -
Глибенкламид за 45 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	11 (79)	2 (14)
Глибенкламид + BMS 180448	14	2 (14)	-	12 (86)	10 (71)	2 (14)
HMR 1098 за 25 мин до ишемии	13	2 (15)	-	11 (85)	10 (77)	3 (23)
HMR 1098 + BMS 180448	13	3 (23)	2 (15)	8 (61)	6 (46)	2 (15)
5-гидроксидеканоат за 5 мин до ишемии	14	** 9 (64)	1 (7)	* 1 (7)	** 1 (7)	* -

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: BMS 180448 – 3 мг/кг, глибенкламид – 0,3 мг/кг, HMR 1098 – 3 мг/кг, 5-гидроксидеканоат – 5 мг/кг.

Однако его совместное введение с BMS 180448 полностью устраняло антиаритмическое действие последнего как во время прекращения коронарного кровотока (табл.2), так и после его восстановления (табл.3).

Учитывая тот факт, что в миокарде имеются два типа K_{ATP} -каналов [120,193], задачей дальнейшего исследования стало установление того пула K_{ATP} -каналов, который участвует в опосредовании положительного эффекта BMS 180448. В качестве возможных фармакологических инструментов были выбраны селективный блокатор сарколеммальных K_{ATP} -каналов HMR 1098 и селективный блокатор митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоат.

Как показано в таблицах 2 и 3, HMR 1098 per se не оказывал никакого влияния на аритмогенез миокарда в условиях острой ишемии/реперфузии по сравнению с контролем и не влиял на степень выраженности антиаритмического эффекта BMS 180448 при их совместном введении в период острой ишемии (табл.2), однако полностью устранял защитное действие препарата во время постшемической реперфузии (табл.3).

В свою очередь, введение блокатора митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоата сопровождалось в период гипоксии тенденцией к снижению частоты желудочковых аритмий, проявлявшейся в полном устранении фибрилляции желудочков, уменьшении пароксизмальной желудочковой тахикардии до 21% и множественных желудочковых экстрасистол до 50% по сравнению с 50% и 75% в контроле, соответственно (табл.2). В период реперфузии наблюдался антиаритмический эффект, который заключался в увеличении количества животных без желудочковых аритмий с 13% до 64%, исчезновением трепетания желудочков, снижением частоты желудочковых аритмий: тахикардии и

множественной экстрасистолии до 7% по сравнению с 63% и 88% в контрольной группе, соответственно (табл.3).

Обнаруженное при внутривенном введении 5-гидроксидеканоата антиаритмическое действие сделало невозможным использование его в качестве фармакологического инструмента в условиях острой гипоксии/реоксигенации.

Таким образом, на модели острой ишемии/реперфузии мы обнаружили, что фармакологическая активация K_{ATP} -каналов приводит к увеличению электрической стабильности миокарда. Наиболее вероятным механизмом повышения толерантности сердечной мышцы к аритмогенному действию моделируемых патологических состояний при введении BMS 180448 является активация K_{ATP} -каналов, поскольку их предварительная блокада с помощью введения глибенкламида препятствует развитию полученного защитного эффекта.

При этом можно с уверенностью утверждать, что сарколеммальные K_{ATP} -каналы не играют роли в опосредовании этого эффекта в период прекращения коронарного кровотока, поскольку их инактивация путем внутривенной инъекции селективного антагониста не влияет на степень выраженности BMS 180448-опосредованной защиты миокарда. Учитывая это, ключевым звеном в развитии антиаритмического эффекта BMS 180448 во время ишемии, на наш взгляд, является открытие митохондриальных K_{ATP} -каналов. В свою очередь, в период постишемической реоксигенации защитный эффект BMS 180448, по нашим данным, связан с увеличением выходящего калиевого тока через сарколеммальные K_{ATP} -каналы (табл.3). Известно, что в период реперфузии в миокарде развитие желудочковых аритмий возможно как по механизму re-entry, так и по механизму триггерной активности [112,220], причем последний механизм играет ключевую роль в возникновении желудочковой тахикардии

[80,220]. В этой связи, определяющее значение сарколеммальных K_{ATP} -каналов в антиаритмическом эффекте BMS 180448 в период реперфузии может быть связано с благоприятным воздействием выходящего калиевого тока на течение аритмий, развивающихся по механизму триггерной активности, одной из причин которой как раз и является уменьшение выхода ионов калия в фазу реполяризации и увеличение за счет этого периода рефрактерности. Активация же сарколеммальных K_{ATP} -каналов, как известно [122,124], приводит к гиперполяризации мембраны и укорочению периода рефрактерности, что снижает вход ионов кальция через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы L-типа, тем самым уменьшая кальциевую перегрузку кардиомиоцитов и, соответственно, вероятность развития ранних и поздних постдеполяризаций.

С целью проверки гипотезы о доминирующей роли митохондриальных K_{ATP} -каналов в повышении устойчивости миокарда к повреждающему действию острой ишемии мы использовали внутривенное введение селективного активатора митохондриальных K_{ATP} -каналов диазоксида.

Как показано в таблицах 4 и 5, диазоксид не оказывал ожидаемого антиаритмического эффекта ни в период коронароокклюзии, ни во время реоксигенации.

Однако из литературы известно, что диазоксид обладает сильной вазодилатирующей способностью за счет активации K_{ATP} -каналов гладкомышечных клеток сосудов [207]. Наблюдаемое вследствие этого резкое снижение артериального давления сопровождается рефлекторной активацией симпатической нервной системы за счет стимуляции барорецепторов дуги аорты и каротидного синуса, что, в свою очередь, вызывает увеличение частоты сердечных сокращений [4,16].

Таблица 4.

Влияние активации митохондриальных K_{ATP} -каналов с помощью внутривенного введения диазоксида на частоту желудочковых аритмий в период острой ишемии миокарда.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
контроль	21	4 (19)	1 (5)	16 (76)	10 (47)	3 (14)
Диазоксид за 10 мин до ишемии	14	3 (21)	-	11 (79)	8 (57)	2 (14)
Гуанетидин	13	2 (15)	1 (8)	10 (77)	7 (54)	-
Гуанетидин + Диазоксид	12	*** 12 (100)	-	*** -	** -	-
Гуанетидин + Глибенкламид	13	3 (23)	-	10 (77)	7 (54)	-
Гуанетидин + Глибенкламид + Диазоксид	14	3 (21)	-	11 (79)	8 (58)	-
Гуанетидин + NMR 1098	13	5 (38)	1 (8)	7 (54)	6 (46)	-
Гуанетидин + NMR 1098 + Диазоксид	12	*** 10 (83)	-	*** 2 (16)	** 1 (8)	-
Гуанетидин + 5-гидроксидеканоат	14	*** 13 (93)	-	*** 1 (7)	*** 1 (7)	-

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты, за исключением гуанетидина, вводили внутривенно в следующих дозах: BMS 180448 – 3 мг/кг, глибенкламид – 0,3 мг/кг, NMR 1098 – 3 мг/кг, 5-гидроксидеканоат – 5 мг/кг, диазоксид – 10 мг/кг. Гуанетидин вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг в течение трех суток.

Таблица 5.

Влияние активации митохондриальных K_{ATP} -каналов с помощью внутривенного введения diazoxida на частоту желудочковых аритмий в период реперфузии миокарда.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
контроль	21	4 (19)	-	17 (80)	12 (57)	5 (24)
Диазоксид за 10 мин до ишемии	14	3 (21)	-	11 (79)	10 (71)	3 (21)
Гуанетидин	13	2 (15)	-	11 (85)	10 (77)	3 (21)
Гуанетидин + Диазоксид	12	* 9 (75)	-	** 3 (25)	3 (25)	1 (8)
Гуанетидин + Глибенкламид	13	2 (15)	-	11 (85)	10 (77)	2 (15)
Гуанетидин + Глибенкламид + Диазоксид	14	2 (14)	-	12 (86)	10 (71)	2 (14)
Гуанетидин + NMR 1098	13	3 (23)	-	10 (77)	8 (62)	1 (8)
Гуанетидин + NMR 1098 + Диазоксид	12	** 7 (58)	-	** 5 (42)	4 (33)	-
Гуанетидин + 5-гидроксидеканоат	14	6 (42)	-	8 (57)	7 (50)	1 (7)

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты, за исключением гуанетидина, вводили внутривенно в следующих дозах: BMS 180448 – 3 мг/кг, глибенкламид – 0,3 мг/кг, NMR 1098 – 3 мг/кг, 5-гидроксидеканоат – 5 мг/кг, diazoxid – 10 мг/кг. Гуанетидин вводили внутрибрюшинно в дозе 50 мг/кг в течение трех суток.

Действительно, в наших экспериментах отмечалось увеличение ЧСС с $336 \pm 6,9$ уд/мин до введения препарата до $378 \pm 13,7$ уд/мин через 10 мин после инъекции диазоксида ($p < 0,001$).

Общеизвестно, что тахикардия снижает толерантность сердечной мышцы к аритмогенным воздействиям [223]. Учитывая это, мы провели серию экспериментов с введением диазоксида в условиях предварительного истощения запасов катехоламинов в нервных терминалях и коре надпочечников путем введения в течение 3 суток внутривенно гуанетидина, как изложено нами ранее [40]. После трехкратного введения гуанетидина в течение 3-х дней ЧСС не изменялась по сравнению с контрольной группой животных, которым препарат не вводили, и составляла $326 \pm 9,0$ уд/мин. На фоне истощения эндогенных катехоламинов введение диазоксида сопровождалось развитием антиаритмического эффекта, который проявлялся прежде всего увеличением числа животных без желудочковых аритмий в период ишемии – до 100% (табл.4), а период реперфузии – до 75% по сравнению с 19% в контрольной группе (табл.5).

Вышеуказанный защитный эффект диазоксида, безусловно, связан с его воздействием на K_{ATP} -каналы, поскольку устранялся предварительным введением глибенкламида. Сам глибенкламид не влиял на частоту развития желудочковых аритмий по сравнению с группой животных с истощением эндогенных запасов катехоламинов (табл.4,5).

В указанных условиях предварительная инактивация сарколеммальных K_{ATP} -каналов с помощью введения NMR 1098 не изменяла антиаритмического эффекта диазоксида (табл.4,5).

5-гидроксидеканоат не был использован нами в качестве фармакологического инструмента в группе животных со сниженным тонусом симпатической нервной системы, поскольку его введение

сопровождалось достоверным снижением частоты желудочковых аритмий в период ишемии, и тенденцией к увеличению устойчивости миокарда к аритмогенному действию постишемической реперфузии (табл.4,5). Однако, несмотря на это, мы считаем, можно уверенно утверждать, что антиаритмическое действие диазоксида связано именно с активацией митохондриальных K_{ATP} -каналов, поскольку, как уже было указано, предварительная блокада сарколеммальных K_{ATP} -каналов не влияла, а инактивация обоих пулов устраняла отмеченный защитный эффект (табл.4,5).

Таким образом, нами обнаружено, что K_{ATP} -каналы участвуют в регуляции электрической стабильности миокарда в условиях коронароокклюзии/реперфузии. При этом, в условиях острой ишемии ведущую роль играют митохондриальные, а при постишемической реперфузии – как митохондриальные, так и сарколеммальные K_{ATP} -каналы. Полученный результат в некоторой степени согласуется с результатами исследований G.J. Grover [76,124], свидетельствующими, что активация обоих пулов K_{ATP} -каналов может оказывать при ишемии/реперфузии антиаритмическое действие. Это связано с тем, что как в период ишемии, так и во время реперфузии аритмии могут возникать по двум механизмам – нарушение проведения с рециркуляцией возбуждения (re-entry) и изменение генерации импульса по типу триггерной активности.

При этом окончательно неизвестны факторы, определяющие возникновение того или иного механизма аритмий. Известно, что активация сарколеммальных K_{ATP} -каналов сопровождается увеличением выхода ионов K^+ с развитием гиперполяризации сарколеммы, укорочением потенциала действия за счет снижения фазы реполяризации и, соответственно, периода рефрактерности. Как показано в исследованиях A.J. D'Alonzo [106], L. Carlsson [86] и C.D. Wooleben [224], такие изменения электрофизиологии миокарда благоприятно влияют на течение аритмий, возникающих

по механизму триггерной активности [86,106], но не по механизму re-entry [224].

В свою очередь, в исследованиях Н. Kita и соавт. [204] показано, что активация митохондриальных K_{ATP} -каналов является ключевым механизмом, определяющим снижение частоты аритмий на модели коронароокклюзии/реперфузии, возникающее в результате феномена "ischemic preconditioning". Механизм повышения толерантности миокарда к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии неизвестен. Однако существуют литературные данные [120,127,154,193], что активация митохондриальных K_{ATP} -каналов приводит к модуляции основных функций митохондрий: замедление в них окислительных процессов, регуляция кальциевого гомеостаза, консервация энергии в виде макроэргических соединений (прежде всего АТФ) и предупреждение ее быстрого расходования. Данные изменения замедляют скорость наступления энергодефицита кардиомиоцитов и, тем самым, способствуют нормальному функционированию ионных насосов, прежде всего Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума. Это, в свою очередь, устраняет кальциевую перегрузку клеток, которая, как известно, является пусковым механизмом для развития необратимых изменений миокарда. Вероятно, именно этим фактом объясняется быстрое восстановление функции кардиомиоцитов после восстановления кровотока в условиях активации митохондриальных K_{ATP} -каналов.

3.1.2. Изменение электрической стабильности сердца при модуляции активности K_{ATP} -каналов в условиях постинфарктного кардиосклероза

На наш взгляд, одним из важных этапов исследования стало изучение роли K_{ATP} -каналов в развитии аритмий в условиях, наиболее приближенных к клиническим, а именно на модели постинфарктного кардиосклероза. Формирование постинфарктного рубца у пациентов в большинстве случаев сопровождается развитием электрической нестабильности миокарда, которая, в свою очередь, является главной причиной внезапной сердечной смерти [58, 60, 165].

Рубцовые изменения в миокарде часто сопровождаются развитием сердечной недостаточности, что затрудняет применение классических антиаритмиков, поскольку большинство из них оказывают отрицательный инотропный эффект [24, 197]. Кроме этого, современные антиаритмические средства обладают проаритмогенной активностью и сами могут провоцировать возникновение внезапной сердечной смерти у лиц, перенесших инфаркт миокарда [104, 205]. В этой связи, актуальной является проблема поиска новых подходов, обеспечивающих повышение устойчивости сердечной мышцы к аритмогенным воздействиям, и создание новых антиаритмических препаратов, лишенных указанных побочных эффектов.

Известно, что экспериментальная коронароокклюзия у крыс завершается формированием рубца через 6 недель после перевязки коронарной артерии [146]. По данным J. De Bakker и соавт.

(1988) рубец миокарда представляет собой морфологическую основу для возникновения аритмий по механизму re-entry [187]. Как показано на рисунке 1, порог фибрилляции желудочков у крыс с постинфарктным кардиосклерозом снижался до $8,08 \pm 0,37 \mu\text{A}$ по сравнению с $13,68 \pm 1,22 \mu\text{A}$ в группе ложно оперированных животных. Предварительное введение активатора K_{ATP} -каналов BMS 180448 крысам с рубцом миокарда способствовало еще большему уменьшению величины ПФЖ до $4,5 \pm 0,75 \mu\text{A}$.

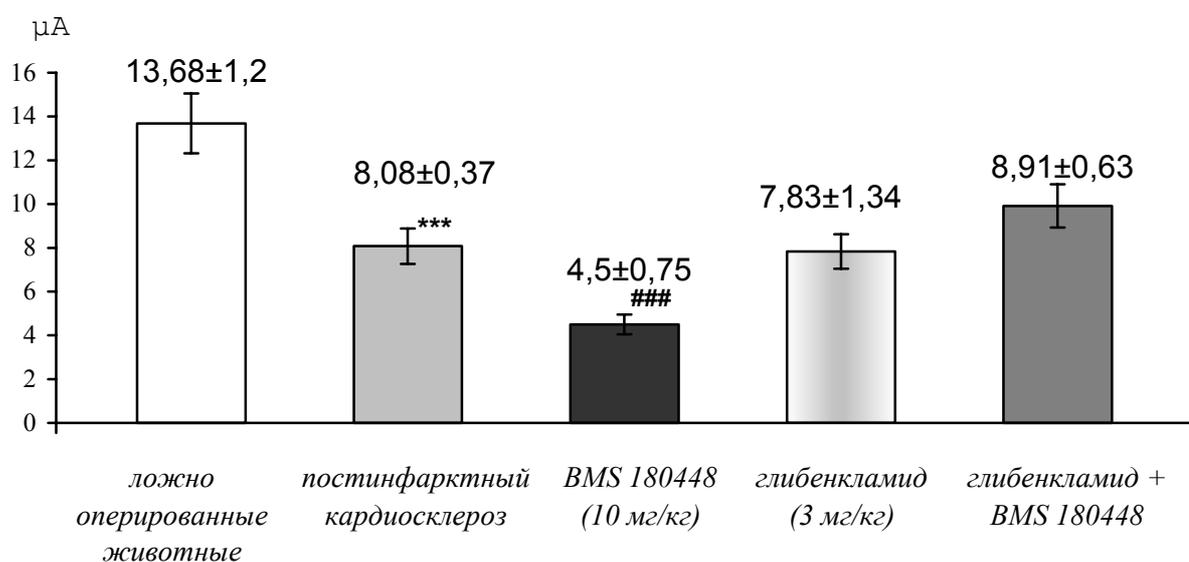


Рис. 1. Влияние внутривенного введения глибенкламида ($0,3 \text{ мг/кг}$) на BMS 180448-опосредованное снижение порога фибрилляции желудочков. Достоверность по отношению к группе ложно оперированных животных: *** $p < 0,001$. Достоверность по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом: ### $p < 0,001$.

Причем обнаруженный проаритмогенный эффект действительно связан с активацией K_{ATP} -каналов, поскольку устраняется предварительным введением блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида (рис.1). Сам по себе глибенкламид не оказывал никакого действия на электрическую стабильность сердца в моделируемых

условиях (рис.1). Анализ данных литературы позволяет предположить, что снижение устойчивости рубцового миокарда к аритмогенным воздействиям после введения BMS 180448 может быть связано с преимущественным его влиянием на сарколеммальные K_{ATP} -каналы. В результате их активации, как известно, наблюдается увеличение K^+ тока с гиперполяризацией мембраны, укорочением потенциала действия за счет снижения продолжительности фазы реполяризации и, соответственно, периода рефрактерности, что способствует развитию аритмий по механизму re-entry [13]. Таким образом, можно предположить, что вероятность возникновения аритмий по механизму re-entry, имеющаяся у животных с постинфарктным кардиосклерозом, возрастает за счет BMS 180448-опосредованного укорочения потенциала действия.

С целью проверки данного предположения нами были выполнены серии экспериментов с предварительным введением селективных блокаторов сарколеммальных (HMR 1098) и митохондриальных (5-гидроксидеканоат) K_{ATP} -каналов. Per se эти препараты не оказывали каких-либо эффектов на электрическую стабильность рубцового миокарда (рис.2,3.).

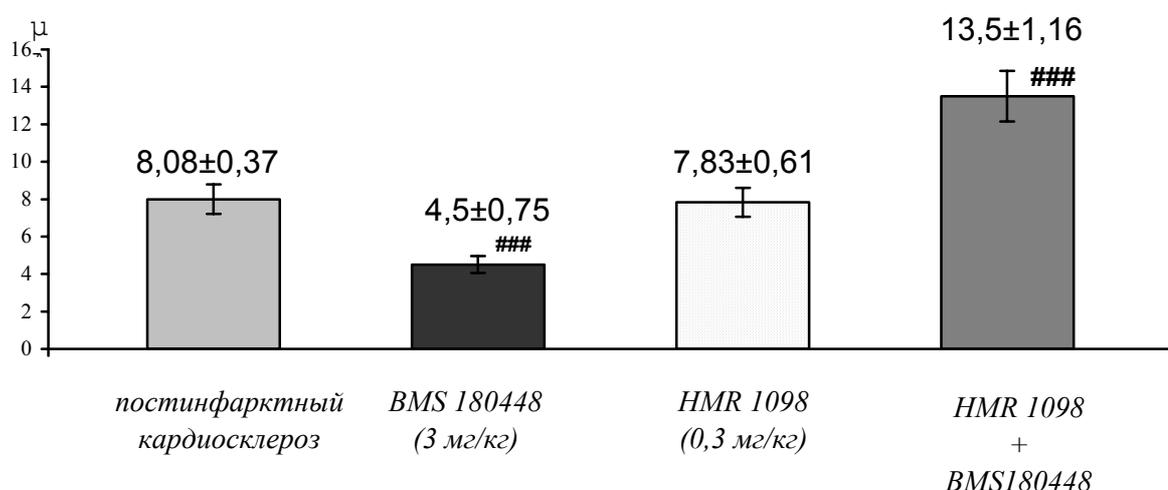


Рис. 2. Влияние предварительного внутривенного введения блокатора сарколеммальных K_{ATP} -каналов - NMR 1098 (0,3 мг/кг) - на BMS 180448-опосредованное снижение порога фибрилляции желудочков. Достоверность по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом: ### - $p < 0,001$.

Как показано на рис.2., предварительное введение NMR 1098 сопровождалось полным устранением проаритмогенного действия BMS 180448 с увеличением ПФЖ до уровня ложно оперированных животных. В свою очередь, блокада митохондриальных K_{ATP} -каналов не влияла на проявление проаритмогенной активности BMS 180448 при их совместном введении (рис.3).

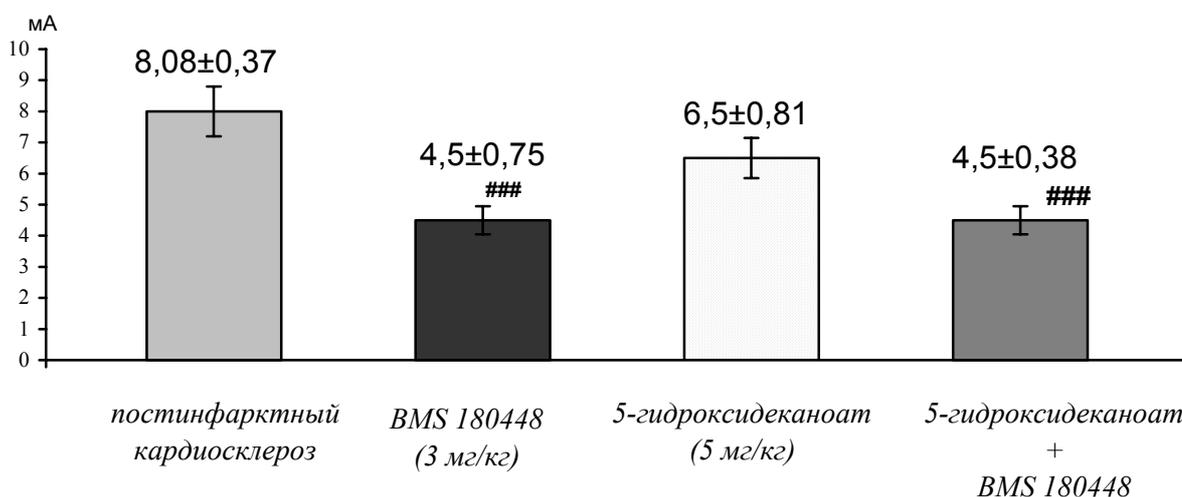


Рис. 3. Влияние предварительного внутривенного введения антагониста митохондриальных K_{ATP} -каналов - 5-гидроксидеканоата (5 мг/кг) - на BMS 180448-опосредованное снижение порога фибрилляции желудочков. Достоверность по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом: ### - $p < 0,001$.

Полученные данные подтверждают, что проаритмогенный эффект BMS 180448 связан с его воздействием на сарколеммальные K_{ATP} -каналы, поскольку полностью устраняется блокадой последних. При этом на фоне инактивации сарколеммального пула

BMS 180448 повышает толерантность сердца к аритмогенным воздействиям до уровня ложно оперированных животных. Учитывая, что второй точкой приложения BMS 180488 являются митохондриальные K_{ATP} -каналы, мы предположили, что именно их открытие в данном случае способствует повышению электрической стабильности рубцового миокарда.

С целью проверки этой гипотезы мы провели серию экспериментов с использованием активатора митохондриальных K_{ATP} -каналов диазоксид. Однако, как показано на рисунке 4, диазоксид снижал ПФЖ подобно BMS 180448 до $5,0 \pm 0,60 \mu A$.

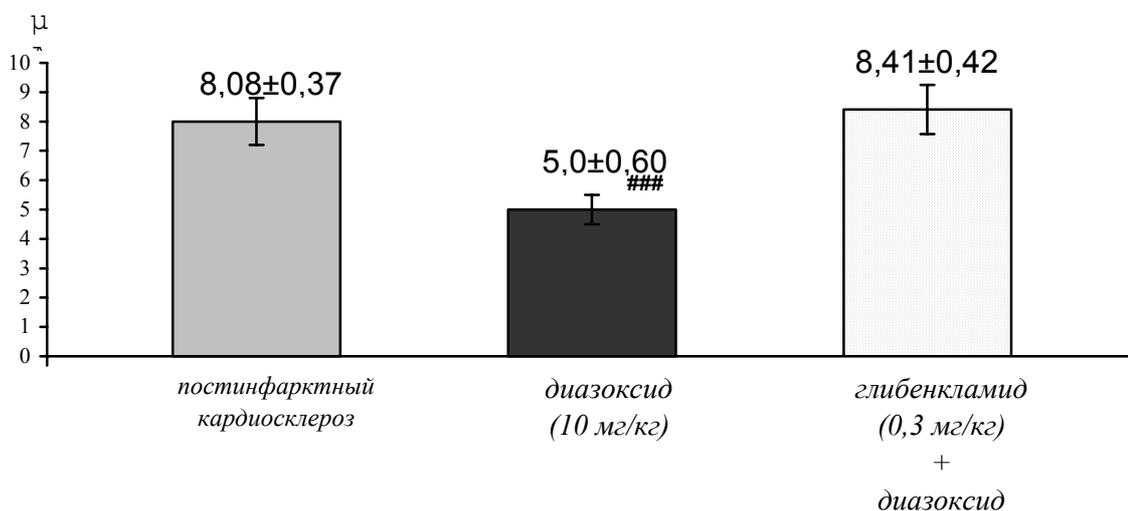


Рис. 4. Влияние предварительного введения блокатора K_{ATP} -каналов глибенкламида (0,3 мг/кг) на диазоксид-опосредованное снижение порога фибрилляции желудочков. Достоверность по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом: ### - $p < 0,001$.

Из литературных источников известно, что диазоксид не является препаратом с кардиоселективной активностью и способен воздействовать на K_{ATP} -каналы гладкомышечных клеток сосудов. В результате этого отмечается выраженная вазодилатация и падение артериального давления. Известно, что снижение системного давления в аорте и каротидном синусе сопровождается

рефлекторной активацией симпато-адреналовой системы и увеличением частоты сердечных сокращений [4,16].

Подтверждением этому в нашем исследовании стал тот факт, что на фоне внутривенного введения диазоксида у крыс возникала тахикардия, которая проявлялась в увеличении частоты сердечных сокращений с $328 \pm 6,8$ уд/мин у животных с постинфарктным кардиосклерозом перед введением диазоксида до $375,9 \pm 4,7$ уд/мин через 10 мин после инъекции препарата ($P < 0,001$). Представляется естественным предположить, что тахикардия, возникшая на фоне имеющейся электрической нестабильности рубцового миокарда, играет роль дополнительного проаритмогенного фактора. В пользу того, что проаритмический эффект диазоксида связан с воздействием этого препарата на K_{ATP} -каналы, свидетельствует тот факт, что блокатор K_{ATP} -каналов глибенкламид устранял действие диазоксида при совместном введении этих препаратов (рис.4). При этом порог желудочковой фибрилляции соответствовал $8,41 \pm 0,42$ μ A (рис.4). С целью проверки гипотезы об участии симпатической нервной системы в опосредовании проаритмогенного эффекта диазоксида мы провели исследование влияния диазоксида на ПЖ на фоне предварительного введения гуанетидина. Как известно, гуанетидин способствует истощению запасов катехоламинов в надпочечниках и в миокарде [40]. Ранее нами было установлено, что после трехдневного внутрибрюшинного введения гуанетидина (50 мг/кг) катехоламины в миокарде не удается зарегистрировать гистохимическими методами [40]. Содержание этих моноаминов в мозговом веществе надпочечников при этом снижается в два раза [40].

Трехсуточное введение гуанетидина никак не влияло на частоту сердечных сокращений ($322 \pm 8,5$ уд/мин) и не сказывалось на величине ПЖ (рис.5). Инъекция диазоксида животным с

истощенными запасами катехоламинов сопровождалась значительным увеличением ПФЖ до уровня ложно оперированных животных (рис. 5) .

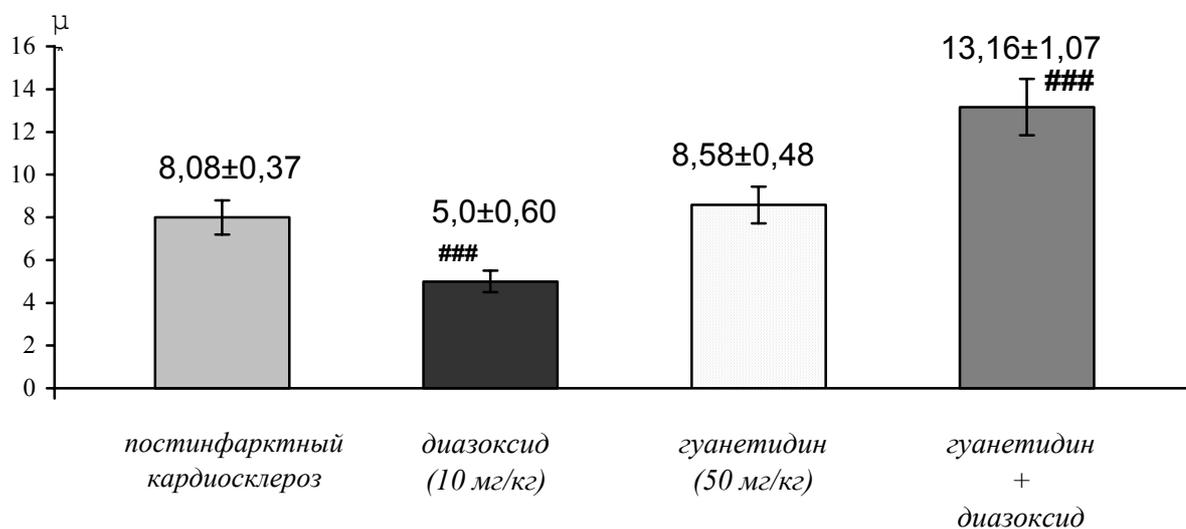


Рис. 5. Влияние внутрибрюшинного введения гуанетидина (50 мг/кг) на диазоксид-опосредованное снижение порога фибрилляции желудочков. Достоверность по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом: ### - $p < 0,001$.

Таким образом, нами обнаружено, что диазоксид повышает электрическую стабильность миокарда за счет активации митохондриальных K_{ATP} -каналов при отсутствии рефлекторного повышения тонуса симпатического отдела нервной системы.

Таким образом, K_{ATP} -каналы играют важную роль в регуляции ритма сердца как в условиях кратковременной коронароокклюзии/реперфузии, так и при сформированной электрической нестабильности рубцового миокарда. При этом значение сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов различно. Нами обнаружено, что активация сарколеммальных K_{ATP} -каналов способствует стабилизации ритма сердца в условиях постшемической реоксигенации, но оказывает выраженный проаритмогенный эффект на миокард с постинфарктным

кардиосклерозом. В свою очередь, открытие митохондриальных K_{ATP} -каналов повышает электрическую стабильность миокарда при постинфарктном кардиосклерозе и в условиях острой ишемии.

3.2. Участие μ - и δ -опиатных рецепторов в обеспечении устойчивости сердца к аритмогенному действию острой коронароокклюзии/реперфузии

К настоящему времени имеется достаточный багаж данных, свидетельствующий, что активация опиатных рецепторов способствует повышению устойчивости миокарда к действию таких аритмогенных факторов, как адреналин, $CaCl_2$, аконитин и т.д. [20,21,23,31,59]. Кроме этого, в нашей лаборатории показано, что антиаритмический эффект лигандов ОР наблюдается также в условиях острой ишемии миокарда [150], и в этом случае он может быть следствием антиадренергической активности опиоидных пептидов. Так, было установлено, что смешанный агонист μ - и δ -ОР даларгин вызывает снижение экскреции катехоламинов с мочой у крыс с экспериментальной коронароокклюзией, что авторами расценивается, как опиатергическое ограничение выброса катехоламинов из симпатических терминалей и надпочечников [18]. Кроме того, даларгин обеспечивает снижение уровня цАМФ в миокарде крыс с локальной ишемией

[150]. Такое снижение синтеза цАМФ в миокарде может способствовать повышению толерантности миокарда к аритмогенному действию ишемии, поскольку цАМФ является эндогенным аритмогенным фактором [95]. Однако до настоящего времени оставалось неизвестным, активация какого типа ОР обеспечивает повышение резистентности миокарда к аритмогенному действию острой ишемии и реперфузии, поскольку использованный в исследованиях даларгин являлся смешанным агонистом μ - и δ -рецепторов [150].

В связи с этим мы решили изучить роль μ - и δ -опиатных рецепторов в формировании электрической стабильности сердечной мышцы в условиях острой коронароокклюзии и реперфузии, используя селективные лиганды этих рецепторов.

3.2.1. Роль μ - и δ -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости миокарда к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии

С целью решения вопроса об участии μ - и δ -опиатных рецепторов в регуляции ритма сердца в условиях острой ишемии/реперфузии нами было использовано введение селективных лигандов этих рецепторов перед моделированием коронароокклюзии. Как показано в таблицах 6 и 7, активация μ -ОР с помощью инъекции пептидного агониста DALDA в дозе 0,1 мг/кг сопровождалась исчезновением желудочковой фибрилляции при ишемии и реперфузии и снижением частоты возникновения желудочковой тахикардии (табл. 6, 7). Одновременно в группе крыс, получавших DALDA, уменьшалось количество животных с множественными желудочковыми экстрасистолами и возрастал процент особей без желудочковых аритмий (табл. 6, 7).

В отдельной серии экспериментов данный μ -агонист вводился за 60 мин до лигирования коронарной артерии. Этот эксперимент был проведен с целью выяснения длительности антиаритмического эффекта препарата. Учитывая тот факт, что DALDA является пептидом, а значит быстро метаболизируется в организме, нас интересовал вопрос, сохраняется ли полученное положительное действие препарата после того, как агонист подвергнется метаболическим превращениям. Результаты данной серии опытов свидетельствуют, что активация μ -рецепторов за 60 мин до моделирования острой ишемии/реперфузии вызывает антиаритмическое действие, степень выраженности которого достоверно не отличается от такового при обычном введении агониста (табл. 6, 7).

Полученный антиаритмический эффект действительно опосредован воздействием используемого фармакологического агента (DALDA) на μ -ОР.

Таблица 6.

Влияние агониста μ -рецепторов DALDA на частоту желудочковых аритмий в период острой ишемии миокарда.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
контроль	16	2 (13)	-	12 (75)	7 (44)	1 (6)
DALDA за 10 мин до ишемии	16	*** 15 (94)	-	*** 1 (6)	-	-
DALDA за 60 мин до ишемии	14	*** 11 (79)	1 (7)	*** 2 (14)	*** 2 (14)	1 (7)
СТАР за 25 мин до ишемии	14	2 (14)	1 (7)	11 (79)	8 (57)	-
СТАР за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	2 (14)	1 (7)	11 (79)	8 (57)	1 (7)
ICI 164,864 за 25 мин до ишемии	15	1 (7)	-	14 (93)	8 (53)	1 (7)
ICI 164,864 за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	*** 12 (86)	-	*** 2 (14)	** 2 (14)	-

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах:
DALDA – 0,1 мг/кг, СТАР – 0,5 мг/кг, ICI 164,864 – 0,5 мг/кг.

Таблица 7.

Влияние агониста μ -рецепторов DALDA на частоту желудочковых аритмий в период постишемической реперфузии миокарда.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
контроль	16	1 (6)	-	14 (88)	10 (63)	3 (19)
DALDA за 10 мин до ишемии	16	*** 15 (94)	-	*** 1 (6)	1 (6)	-
DALDA за 60 мин до ишемии	14	*** 11 (79)	-	*** 3 (21)	*** 2 (14)	1 (7)
СТАР за 25 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	10 (71)	1 (7)
СТАР за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	9 (64)	2 (14)
ICI 164,864 за 25 мин до ишемии	15	1 (7)	-	14 (93)	12 (80)	2 (13)
ICI 164,864 за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	*** 12 (86)	-	*** 2 (14)	*** 1 (7)	*** 1 (7)

Примечания: БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах:
DALDA – 0,1 мг/кг, СТАР – 0,5 мг/кг, ICI 164,864 – 0,5 мг/кг.

Это подтверждает тот факт, что указанное положительное действие DALDA устранялось с помощью предварительной фармакологической блокады μ -рецепторов внутривенным введением СТАР (табл.6,7). При этом инъекция СТАР per se не сопровождалась какими-либо изменениями сердечного ритма по сравнению с контрольной группой (табл.6,7).

Из литературы известно, что стимуляция δ -ОР может оказывать модулирующее влияние на μ -рецепторы [211]. В этой связи мы предположили, что полученный нами антиаритмический эффект, устраняемый блокатором μ -ОР СТАР, может быть связан с активацией μ -ОР, следующей за предварительной стимуляцией δ -ОР под влиянием DALDA. Для решения этого вопроса мы провели серию опытов с использованием предварительной блокады δ -ОР. Как видно из таблиц 6 и 7, предварительная инактивация δ -ОР путем внутривенного введения ICI 174,864 не устраняла антиаритмического действия DALDA. При этом инъекция ICI 174,864 per se никак не сказывалась на ритме сердца по сравнению с контрольной группой. Полученный результат свидетельствует, что положительный эффект DALDA является следствием непосредственного взаимодействия с μ -ОР и не связан с активацией δ -рецепторов. Изучение влияния активации δ -ОР на аритмогенез миокарда проводилось дифференцировано с учетом наличия δ_1 - и δ_2 -субтипов ОР.

Как показано в таблицах 8 и 9, введение экспериментальным животным пептидного δ_1 -агониста DPDPE сопровождалось увеличением в этой группе количества крыс, устойчивых к аритмогенному действию окклюзии/реперфузии, полном устранении такого тяжелого вида аритмий как желудочковая фибрилляция и в значительном снижении частоты желудочковой тахикардии и множественной желудочковой экстрасистолии как в период ишемии

(табл.8), так и после восстановления коронарного кровотока (табл.9).

Таблица 8.

Влияние агонистов δ_1 -рецепторов DPDPE и TAN-67 и δ_2 -рецепторов DSLET на частоту желудочковых аритмий в период острой ишемии.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Контроль	16	2 (13)	-	12 (75)	7 (44)	1 (6)
DPDPE за 10 мин до ишемии	14	*** 12 (86)	-	*** 2 (14)	** 2 (14)	-
TAN-67 за 10 мин до ишемии	14	*** 12 (86)	-	*** 2 (14)	** 2 (14)	-
DSLET за 10 мин до ишемии	14	3 (21)	-	11 (79)	9 (64)	1 (7)
ICI 164,864 за 25 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	6 (43)	1 (7)

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: DPDPE – 0,1 мг/кг, TAN-67 – 5 мг/кг, DSLET – 0,5 мг/кг, ICI 164,864 – 0,5 мг/кг.

Таблица 9.

Влияние агонистов δ_1 -ОР DPDPE и TAN-67 и δ_2 -ОР DSLET на частоту желудочковых аритмий во время постишемической реперфузии.

Серия	n	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Контроль	16	1 (6)	-	14 (88)	10 (63)	3 (19)
DPDPE за 10 мин до ишемии	14	*** 12 (86)	-	*** 2 (14)	*** 2 (14)	-
TAN-67 за 10 мин до ишемии	14	*** 13 (93)	-	*** 1 (7)	*** 1 (7)	-
DSLET за 10 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	11 (79)	2 (14)
ICI 164,864 за 25 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	14	1 (7)	-	13 (93)	11 (79)	2 (14)

Примечания: БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: DPDPE – 0,1 мг/кг, TAN-67 – 5 мг/кг, DSLET – 0,5 мг/кг, ICI 164,864 – 0,5 мг/кг.

Активация δ_1 -ОР с помощью инъекции непептидного лиганда TAN-67 также повышала толерантность сердца к повреждающему действию острой гипоксии и реоксигенации сердечной мышцы (табл.8,9). Стимуляция δ_2 -ОР введением DSLET не сопровождалась изменением ритма сердца по сравнению с контрольной группой в оба периода наблюдения (табл.8,9). Изучение рецепторной специфичности антиаритмического эффекта, наблюдаемого при активации δ_1 -ОР, показало, что данное положительное действие агонистов TAN-67 и DPDPE полностью предупреждалось

предварительным введением δ -антагониста ICI 174,864 (табл.8,9). Как было отмечено ранее, сам указанный блокатор никак не влиял на аритмогенез миокарда в условиях ишемии/реперфузии (табл.6,7).

Таким образом, в результате проведенного исследования нами обнаружено, что в регуляции ритма сердца при острой гипоксии с последующей реоксигенацией миокарда важную роль играют μ - и δ_1 -рецепторы, стимуляция которых сопровождается повышением устойчивости миокарда к аритмогенному действию указанных патологических состояний.

Учитывая низкую проницаемость ГЭБ для опиоидных пептидов [171], мы предположили, что антиаритмическое действие μ - и δ_1 -агонистов связано с активацией периферических ОР. Для подтверждения данной гипотезы мы провели серии экспериментов с использованием блокатора всех типов ОР метилналлоксона, не способного проникать через ГЭБ [67]. Результаты опытов свидетельствуют, что предварительная инактивация периферических ОР полностью устраняет антиаритмические эффекты μ - и δ_1 -агонистов DALDA и DPDPE, что подтверждает участие именно периферических ОР в опиатергическом увеличении толерантности сердца к аритмогенному действию острой гипоксии и реоксигенации. Сам метилналлоксон не влиял на аритмогенез сердечной мышцы по сравнению с контрольной группой (табл.10).

Таблица 10.

Влияние блокады периферических опиатных рецепторов на антиаритмический эффект опиоидных пептидов DALDA и DPDPE.

Серия	N	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)				

ИШЕМИЯ						
контроль	16	2 (13)	-	12 (75)	7 (44)	1 (6)
Метилналоксон за 25 мин до ишемии	14	3 (21)	-	11 (79)	8 (57)	1 (7)
Метилналоксон за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	3 (21)	1 (7)	10 (71)	7 (50)	-
Метилналоксон за 25 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	14	3 (21)	2 (13)	10 (67)	7 (47)	1 (7)
РЕПЕРФУЗИЯ						
контроль	16	1 (6)	-	14 (88)	10 (63)	3 (19)
Метилналоксон за 25 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	10 (71)	2 (14)
Метилналоксон за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	2 (14)	-	12 (86)	10 (71)	2 (14)
Метилналоксон за 25 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	14	2 (13)	1 (7)	12 (86)	11 (73)	2 (13)

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: DPDPE – 0,1 мг/кг, DALDA – 0,1 мг/кг, метилналоксон – 5 мг/кг.

В реализации антиаритмических свойств μ - и δ_1 -агонистов могут участвовать следующие механизмы.

Как известно, острая ишемия миокарда сопровождается повышением тонуса симпатoadренальной системы и выбросом из симпатических терминалей в сердце катехоламинов, которые, в

свою очередь, активируют аденилатциклазу и увеличивает продукцию цАМФ. Указанный вторичный мессенджер является регулятором трансмембранного переноса ионов кальция [173,174]. Отмечаемое увеличение синтеза цАМФ повышает выход кальция в саркоплазму, запуская тем самым главный фактор повреждения мембран клеток [173,174]. Предполагают также, что антиаритмическое действие пептидных лигандов ОР на экспериментальных моделях аритмий связано с ингибированием аденилатциклазы, устранением избытка цАМФ и предупреждением цАМФ-зависимого повышения содержания внутриклеточного кальция [19,150].

Как известно, в развитии ишемических аритмий важная роль принадлежит вегетативной иннервации сердца [13,58]. В этой связи, представляется возможным участие вегетативной нервной системы в реализации опиоид-опосредованного повышения электрической стабильности миокарда при действии коронароокклюзии/реперфузии, поскольку опиатные рецепторы в миокарде расположены непосредственно на пресинаптических мембранах симпатических и парасимпатических нервных терминалей [93,130].

Кроме этого, в литературе последних лет обсуждается гипотеза об участии в механизме опиоид-опосредованной кардиопротекции протеинкиназы С и K_{ATP} -каналов [109,208]. Предполагается, что стимуляция G-белок-сопряженных μ - и δ_1 -опиатных рецепторов приводит к активации протеинкиназы С, которая, в свою очередь, может фосфорилировать белки K_{ATP} -каналов сарколеммы и внутренней мембраны митохондрий [109]. Известно также, что протеинкиназа С и K_{ATP} -каналы играют доминирующую роль в опосредовании антиаритмического и кардиопротекторного эффектов феномена "ischemic preconditioning" [109,120,193], в реализации которого

участвует также эндогенная опиоидная система [158]. На основании вышеуказанных данных об участии опиатных рецепторов в реализации протекторных (в том числе и антиаритмического) свойств ишемического прекодиционирования через стимуляцию протеинкиназы С и K_{ATP} -каналов митохондрий, а также в развитии кардиопротекторного действия при острой ишемии/реперфузии через аналогичный сигнальный механизм, мы предположили, что эта же сигнальная система может опосредовать обнаруженный нами антиаритмический эффект опиоидов. Поэтому одной из задач дальнейшего нашего исследования стало определение роли сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов в зарегистрированном нами увеличении устойчивости миокарда к аритмогенному действию ишемии/реперфузии.

3.2.2. Вклад кардиальных μ - и δ -опиатных рецепторов в антиаритмический эффект опиоидов

Эксперименты, посвященные изучению роли μ - и δ -ОР в формировании резистентности миокарда к повреждающему действию коронароокклюзии/реперфузии показали, что ведущую роль в этих процессах играет стимуляция μ - и δ_1 -рецепторов. Причем можно с уверенностью утверждать, что указанные опиатные рецепторы расположены на периферии. Однако, использованный нами метод внутривенного введения опиоидов *in vivo* не позволяет однозначно ответить на вопрос о том, связан ли положительный эффект используемых опиоидов с их воздействием на кардиальные ОР или же он опосредован через другие регуляторные системы организма. Для ответа на этот вопрос мы провели эксперименты с использованием препаратов изолированного перфузируемого сердца крысы и введением опиоидов непосредственно в перфузионный раствор Кребса-Хензелята.

Как показали результаты исследований, в период реперфузии после 45-минутной тотальной ишемии изолированного сердца только у 17% сердец не возникают желудочковые аритмии, тогда как у оставшихся 83% развиваются такие желудочковые аритмии как множественные экстрасистолы (50%), тахикардия (21%) и фибрилляция (17%) (рис.6). Введение μ -агониста DALDA в перфузат сопровождалось тенденцией к развитию антиаритмического эффекта, которая выражалась в увеличении количества сердец без нарушений ритма до 40%, уменьшением числа желудочковой тахикардии – до 13%, устранением фибрилляции, а также достоверным снижением числа сердец с множественными экстрасистолами до 13% (рис.6). Добавление в перфузионный раствор δ_1 -агониста DPDPE приводило к

достоверному увеличению количества сердец без желудочковых аритмий до 75%, устранению желудочковой тахикардии, а также уменьшению частоты возникновения множественных экстрасистол и желудочковой фибрилляции в 2 раза (рис.6).

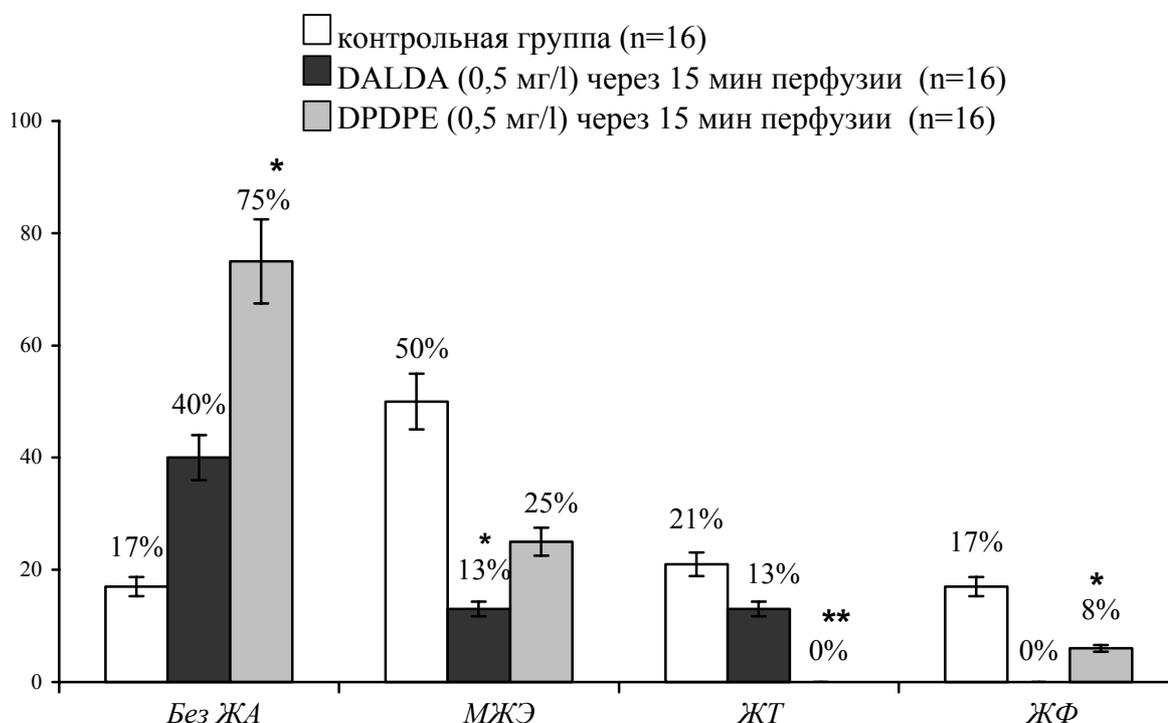


Рис.6. Влияние μ -агониста DALDA (0,5 мг/л) и δ_1 -агониста DPDPE (0,5 мг/л), добавленных в перфузат, на устойчивость изолированных сердец к аритмогенному действию тотальной ишемии (45 мин) и последующей перфузии.

БЖА – без желудочковых аритмий, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контролю: * – $p < 0,05$; ** – $p < 0,01$

Таким образом, фармакологическая активация непосредственно ОР кардиомиоцитов изолированного сердца приводит к возникновению достоверного антиаритмического эффекта при использовании δ_1 -агониста и тенденции к таковому при добавлении в перфузионный раствор μ -агониста. Полученные данные свидетельствуют, что в

опиатергическом повышении толерантности миокарда к аритмогенному действию острой ишемии с последующей реперфузией принимают участие кардиальные опиатные рецепторы. При этом активация δ_1 -ОР *in vitro* сопровождается более выраженным протекторным эффектом, чем стимуляция μ -рецепторов. Полученные данные позволяют нам с уверенностью утверждать, что антиаритмическое действие δ_1 -агониста DPDPE при внутривенном введении, отмеченное в главе 3.2.1., связано с непосредственным воздействием препарата на кардиальные δ_1 -рецепторы. Что касается μ -ОР, при внутривенном введении пептидного μ -агониста DALDA зарегистрирован защитный эффект, указанный в главе 3.2.1., более выраженный, чем при добавлении этого же пептида в перфузионный раствор в экспериментах *in vitro*. Данный факт позволяет предположить, что стимуляция кардиальных μ -ОР при введении DALDA является не единственной точкой приложения антиаритмического действия этого пептида. В качестве другого возможного механизма антиаритмического действия пептидных μ -агонистов в литературе называют ингибирующее влияние этих соединений на активность симпатoadреналовой системы и активирующее – на блуждающие нервы [6, 41, 49, 50]. Учитывая патогенетические особенности аритмогенеза миокарда и состояние вегетативной нервной системы в условиях острой ишемии/реперфузии [13, 46], можно предположить, что вышеуказанное влияние DALDA на тонус симпатической нервной системы и n. vagus может способствовать устранению кальциевой перегрузки кардиомиоцитов, тем самым повышая электрическую стабильность сердечной мышцы.

Таким образом, выполненные эксперименты позволяют нам утверждать, что стимуляция кардиальных δ_1 -опиатных рецепторов обеспечивает повышение резистентности сердца к аритмогенному действию ишемии-реперфузии. Повышение электрической

стабильности сердца после стимуляции μ -рецепторов *in vivo*, по всей видимости, связано с активацией опиатных рецепторов, расположенных вне миокарда.

3.2.3. Участие АТФ-зависимых K^+ -каналов в опиатергическом повышении резистентности сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии/реперфузии

Полученные нами данные, представленные в предыдущих главах диссертационной работы, убедительно доказывают участие μ - и δ_1 -опиатных рецепторов в регуляции устойчивости сердечной мышцы к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии. Из литературных источников известно, что опиоидная система способна модулировать состояние различных систем организма, опосредующих тем самым ее кардиотропные эффекты [140]. В качестве основной точки приложения, регулирующей работу сердца, многие авторы называют вегетативную нервную систему [6, 41, 49, 50]. Предполагают, что со снижением тонуса симпатoadреналовой системы, уменьшением продукции цАМФ, и следовательно, нормализацией кальциевого гомеостаза связано антиаритмическое действие пептидных лигандов опиатных рецепторов на моделях экспериментальных аритмий, возникающих при действии адреналина, $CaCl_2$, аконитина [20, 21, 23, 31]. С другой стороны, из исследований G.J. Gross и соавт., известно, что кардиопротекторное действие δ -агонистов на различных моделях острой ишемии с последующей реперфузией реализуется путем активации АТФ-зависимых K^+ -каналов (K_{ATP} -каналов) [109, 166, 181].

Нами показано в главе 3.1.1., что открытие митохондриальных K_{ATP} -каналов защищает миокард от аритмогенного действия острой гипоксии/реоксигенации. На основании этих данных, а также результатов исследований, посвященных изучению механизмов δ -опиоид-опосредованного прекодиционирования, мы решили изучить, какова роль K_{ATP} -каналов в реализации обнаруженного нами антиаритмического эффекта опиоидов в

моделируемых условиях. Для решения указанной задачи мы использовали внутривенное введение μ - и δ_1 -агонистов на фоне предварительной блокады K_{ATP} -каналов. Используемые нами ингибиторы K_{ATP} -каналов NMR 1098 и глибенкламид, как было указано ранее в таблицах 2 и 3, при введении *per se* не влияли на ритм сердца по сравнению с контрольной группой. Блокатор митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоат не использовали в качестве фармакологического инструмента, поскольку он оказывал достоверный антиаритмический эффект в период восстановления коронарного кровотока и снижал частоту желудочковых аритмий в период ишемии.

Как показано в таблицах 11 и 12, блокада K_{ATP} -каналов путем внутривенного введения глибенкламида полностью устраняла антиаритмический эффект использованных μ - и δ_1 -агонистов DALDA и DPDPE. Данный факт свидетельствует, что увеличение устойчивости миокарда к аритмогенному действию острой гипоксии/реоксигенации, наблюдаемое при действии опиоидов, опосредуется на клеточном уровне открытием K_{ATP} -каналов. Считается, что μ - и δ_1 -ОР являются G-протеин-сопряженными рецепторами и их активация оказывает стимулирующее влияние на G_i и G_q типы указанных протеинов [207]. Это, в свою очередь, способствует активации киназ, таких как протеинкиназа C, тирозинкиназа или митоген-активируемая протеинкиназа [207]. Полагают, что именно эти киназы фосфорилируют белки конечных эффекторов: HSP 27 (heat shock proteins) и K_{ATP} -каналов [207].

Таким образом, в наших исследованиях обнаружена взаимосвязь между антиаритмическим эффектом стимуляции μ - и δ_1 -ОР и K_{ATP} -каналами. Поскольку активация протеинкиназы C способствует фосфорилированию белков как сарколеммальных, так и митохондриальных K_{ATP} -каналов [109,181], и каждый пул по-своему может приводить к клеточным изменениям защитного характера, нас

интересовал вопрос, какие именно K_{ATP} -каналы являются ответственными за антиаритмический эффект μ - и δ_1 -агонистов.

Таблица 11.

Влияние блокады K_{ATP} -каналов на опиатергическое повышение толерантности сердца к аритмогенному действию острой ишемии.

Серия	N	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
Контроль	16	2 (13)	-	12 (75)	7 (44)	-
Глибенкламид за 45 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	4 (25)	-	12 (75)	5 (36)	-
Глибенкламид за 45 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	17	4 (27)	1 (7)	10 (67)	7 (47)	-
HMR 1098 за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	** 10 (71)	1 (7)	*** 3 (21)	* 2 (14)	-
HMR 1098 за 25 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	12	*** 11 (92)	-	*** 1 (8)	** -	-

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: DALDA – 0,1 мг/кг, DPDPE – 0,1 мг/кг, Глибенкламид – 0,3 мг/кг, HMR 1098 – 3 мг/кг.

Таблица 12.

Влияние блокады K_{ATP} -каналов на опиатергическое повышение толерантности сердца к аритмогенному действию постишемической реперфузии.

Серия	N	БЖА	ЕЖЭ	МЖЭ	ЖТ	ЖФ
		n (%)	n (%)	n (%)	n (%)	n (%)
контроль	16	2 (13)	-	12 (75)	7 (44)	1 (6)
Глибенкламид за 45 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	3 (19)	-	13 (81)	12 (75)	2 (13)
Глибенкламид за 45 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	17	4 (27)	-	11 (73)	9 (60)	1 (7)
HMR 1098 за 25 мин до ишемии + DALDA за 10 мин до ишемии	14	*** 11 (79)	1 (7)	*** 2 (14)	** 2 (14)	-
HMR 1098 за 25 мин до ишемии + DPDPE за 10 мин до ишемии	12	*** 12 (100)	-	*** -	*** -	-

Примечания: n – количество животных. БЖА – без желудочковых аритмий, ЕЖЭ – единичные желудочковые экстрасистолы, МЖЭ – множественные желудочковые экстрасистолы, ЖТ – желудочковая тахикардия, ЖФ – желудочковая фибрилляция. Достоверность по отношению к контрольной группе: ** $p < 0,01$; *** $p < 0,001$.

Все препараты вводили внутривенно в следующих дозах: DALDA – 0,1 мг/кг, DPDPE – 0,1 мг/кг, Глибенкламид – 0,3 мг/кг, HMR 1098 – 3 мг/кг.

Для решения этой задачи мы использовали введение опиоидов на фоне предварительного ингибирования сарколеммальных K_{ATP} -каналов с помощью HMR 1098. В результате проведенных экспериментов получены следующие данные. Не влияя *per se* на частоту желудочковых аритмий (табл.2,3), HMR 1098 не устранял антиаритмический эффект DALDA и DPDPE (табл.11,12).

Как известно, активация сарколеммальных K_{ATP} -каналов может оказывать протекторное действие при острой ишемии/реперфузии сердца за счет укорочения потенциала действия и возникновения гиперполяризации мембраны, приводящих к ограничению входа ионов кальция в клетку, тем самым, замедляя развитие необратимых повреждений кардиомиоцитов [46]. Однако, как показано в наших исследованиях, данный механизм не способствует увеличению устойчивости сердца к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии, а также не опосредует протекторный эффект опиоидов.

Учитывая тот факт, что блокатор обоих пулов K_{ATP} -каналов глибенкламид устранял антиаритмический эффект опиоидов, а ингибитор сарколеммальных K_{ATP} -каналов не влиял на степень проявления полученного эффекта, мы считаем, что главную роль в опиатергическом увеличении толерантности миокарда к повреждающему действию ишемии играют митохондриальные K_{ATP} -каналы. Значение последних в организме в полной мере не изучено, однако известно, что вход калия в митохондрию и развитие интрамитохондриальной деполяризации могут снижать кальциевую перегрузку митохондрий, и способствуют набуханию матрикса [166]. Как известно, повышенный вход Ca^{2+} в митохондрии наблюдается при значительной перегрузке саркоплазмы этим ионом и свидетельствует о развитии терминальных изменений, сопровождающихся значительным угнетением синтеза АТФ [79] и открытием транспортной поры для вывода избыточного кальция

[103]. Однако такие изменения являются прямым путем развития программированной сердечной смерти (апоптоза) [103]. Кроме снижения входа кальция и предотвращения ишемического сокращения митохондрий [87,218], известно также, что открытие митохондриальных $K_{\text{АТФ}}$ -каналов может способствовать повышению сопряженности нуклеотид-транслоказы и креатинфосфокиназы, что препятствует потере митохондрией АДФ и позитивно влияет на синтез креатинфосфата [157]. Наличие в кардиомиоците во время ишемии достаточного количества креатинфосфата замедляет наступление сократительной дисфункции и нарушений трансмембранного переноса ионов, в частности удлиняет промежуток времени до наступления кальциевой перегрузки. С одной стороны, этому способствует сохранение функции Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума [53,61], а, с другой, - Na^+/K^+ -АТФазы [215]. Физиологическое функционирование последней, как известно, ингибируется во время ишемии недостаточным количеством энергоресурсов и сниженным рН, что приводит к избытку Na^+ в цитоплазме, изменению направления работы $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника, который начинает выводить из клетки Na^+ в обмен на вход Ca^{2+} , что также способствует кальциевой перегрузке [215].

Таким образом, результаты наших исследований свидетельствуют, что активация периферических μ - и δ_1 -рецепторов, но не δ_2 -ОР способствует увеличению электрической стабильности миокарда в условиях острой ишемии/реперфузии. Положительное действие δ_1 -агонистов связано с непосредственным их влиянием на δ_1 -рецепторы кардиомиоцитов, тогда как аналогичный эффект μ -агонистов лишь в незначительной степени опосредован прямым действием на миокард. Важную роль в развитии антиаритмического эффекта μ - и δ_1 -агонистов играет открытие митохондриальных $K_{\text{АТФ}}$ -каналов.

3.3. Влияние стимуляции μ - и δ -опиатных рецепторов на электрическую стабильность миокарда при постинфарктном кардиосклерозе

В наших исследованиях мы показали, что активация μ - и δ_1 -опиатных рецепторов повышает устойчивость сердечной мышцы к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии. Причем главную роль в механизме развития указанного положительного эффекта опиоидов играет открытие митохондриальных K_{ATP} -каналов. Однако острая ишемия миокарда не является единственной причиной возникновения жизнеугрожающих нарушений ритма. Летальные желудочковые аритмии нередко возникают и в отдаленные сроки после инфаркта миокарда [60]. Наличие рубца в сердечной мышце предрасполагает к развитию электрической нестабильности по механизму re-entry [13]. Кроме того, постинфарктный кардиосклероз часто сопровождается развитием сократительной дисфункции миокарда и нарушением системной гемодинамики, что утяжеляет течение аритмий и состояние больного [13,60]. В этой связи особый интерес вызывает изучение влияния лигандов опиоидных рецепторов на аритмогенез сердечной мышцы при наличии в ней рубцовых изменений.

3.3.1. Изменение порога фибрилляции желудочков под влиянием лигандов опиатных рецепторов при постинфарктном кардиосклерозе

Как известно, постинфарктный кардиосклероз развивается у крыс через 4–6 нед после лигирования коронарной артерии [146]. Результаты наших исследований показали, что формирование соединительно-тканного рубца в сердечной мышце снижает электрическую стабильность сердца, о чем свидетельствует факт уменьшения ПФЖ почти на 40% у крыс с постинфарктным кардиосклерозом по сравнению с ложно оперированными животными (рис.1).

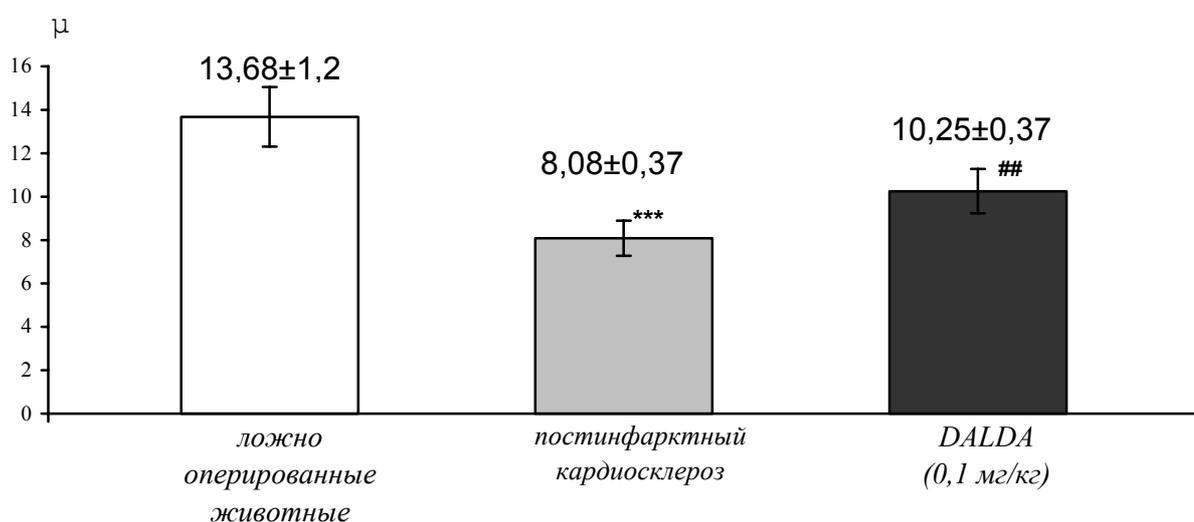


Рис. 7. Влияние внутривенного введения пептидного агониста μ -ОР DALDA на электрическую стабильность сердца при постинфарктном кардиосклерозе.

Достоверность по отношению к группе ложно оперированных животных: *** - $p < 0,001$. Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$.

Как показано на рисунке 7, активация μ -рецепторов с помощью внутривенного введения пептидного агониста DALDA сопровождалась увеличением ПФЖ до $10,25 \pm 0,37 \mu\text{A}$, что было ниже,

чем в группе ложно оперированных животных приблизительно на 33%, но выше, чем у животных с постинфарктным кардиосклерозом на 20%. Полученный положительный эффект полностью устранялся предварительным введением μ -антагониста СТАР (рис.8), который *per se* не влиял на изучаемый параметр (рис.8).

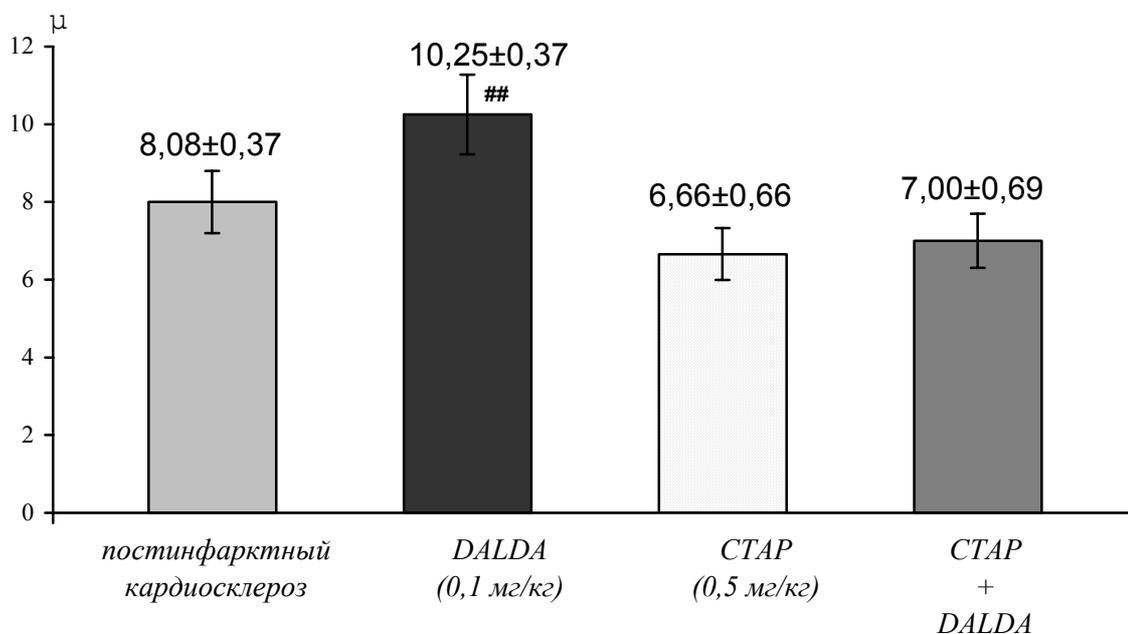


Рис. 8. Влияние предварительной блокады μ -опиатных рецепторов путем внутривенного введения СТАР на DALDA-опосредованное увеличение электрической стабильности рубцового миокарда.

Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$.

Поскольку из данных литературы известно, что μ - и δ -ОР находятся в тесной взаимосвязи друг с другом и модуляция δ -звена может приводить к изменению состояния активности μ -ОР, мы не исключили возможность того, что обнаруженная нами активация μ -ОР, устраняемая селективным блокатором этих рецепторов, может быть связана не с непосредственным стимулирующим влиянием DALDA на этот тип ОР, а опосредовано через взаимодействие пептида с δ -рецепторами. В этой связи мы провели серии экспериментов с

использованием предварительного введения δ -антагониста ICI 174,864.

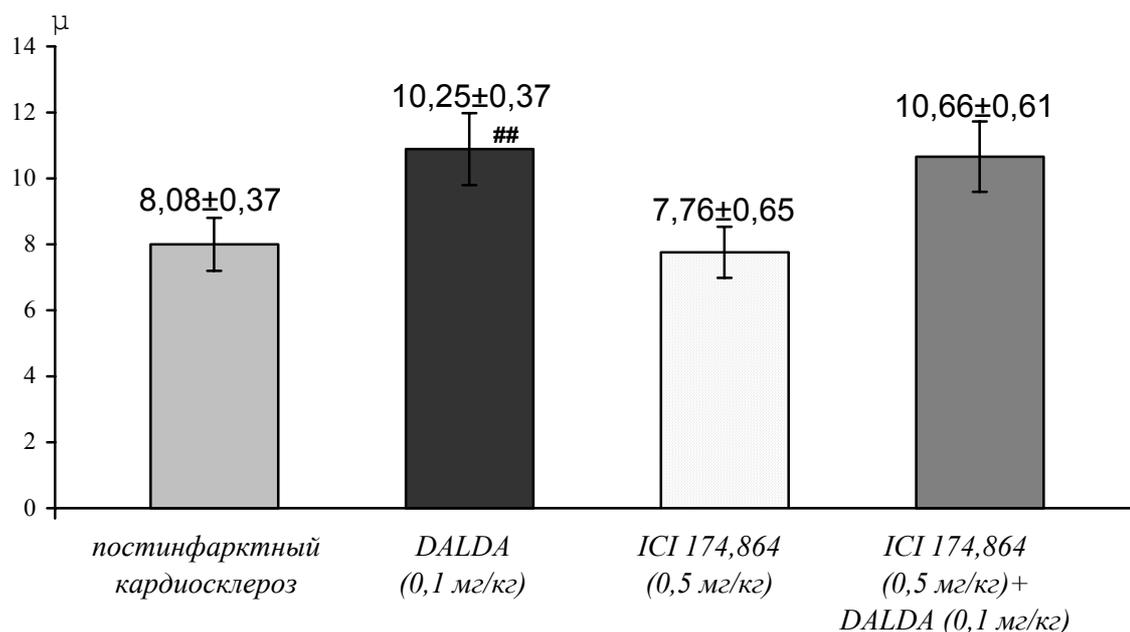


Рис. 9. Влияние предварительной блокады δ -опиатных рецепторов с помощью внутривенного введения δ -антагониста ICI 174,864 на DALDA-опосредованное повышение ПФЖ при постинфарктном кардиосклерозе.

Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$.

Результаты опытов, представленные на рисунке 9, показали, что ICI 174,864, не влияя сам по себе на величину ПФЖ, не устранял положительного действия DALDA. Данный факт свидетельствует, что обнаруженный антиаритмический эффект при использовании DALDA связан с прямым активирующим воздействием препарата на μ -ОР без опосредующего участия δ -рецепторов.

Изучение влияния модуляции δ -ОР на электрическую стабильность сердца с постинфарктным кардиосклерозом проводили дифференцировано с учетом наличия δ_1 - и δ_2 -субтипов. Так, на рисунке 10 показано, что введение δ_1 -агонистов как пептидной, так и непептидной природы сопровождалось увеличением ПФЖ. При

чем в случае использования пептидного лиганда DPDPE исследуемый параметр возрастал приблизительно на 20%, а при инъекции непептидного агониста TAN-67 – в 2,3 раза по сравнению с крысами с постинфарктным кардиосклерозом (рис.10). В свою очередь, активация δ_2 -ОР с помощью пептидного агониста DSLET приводила к уменьшению ПФЖ на 50% относительно контрольной группы (рис.10).

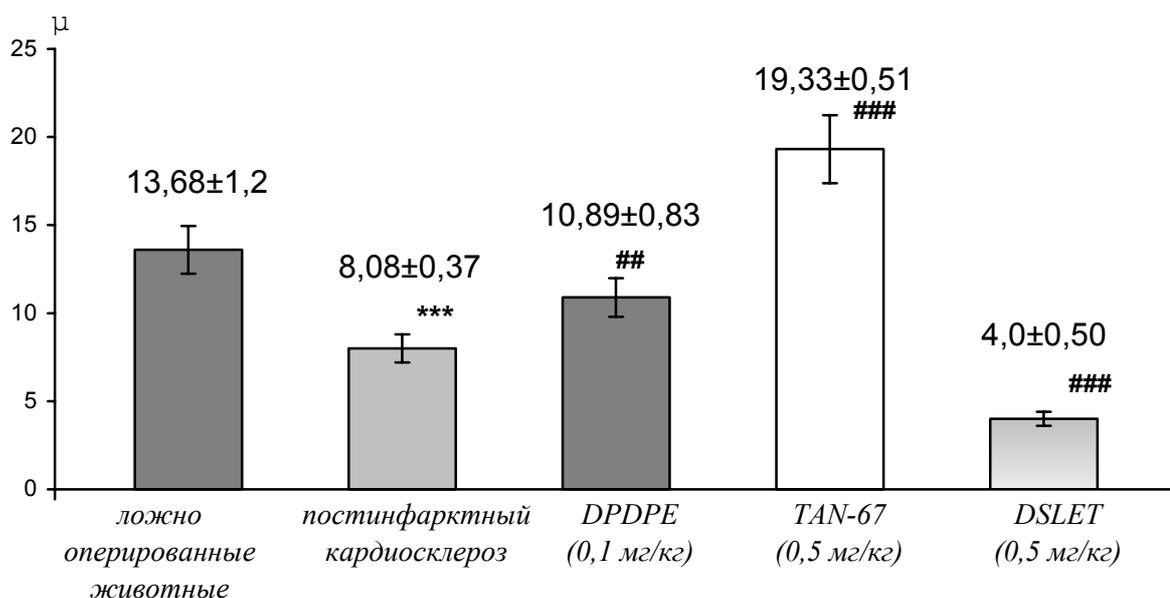


Рис. 10. Влияние внутривенного введения агонистов δ_1 -ОР (DPDPE и TAN-67) и δ_2 -ОР (DSLET) на электрическую стабильность сердца при постинфарктном кардиосклерозе.

Достоверность по отношению к группе ложно оперированных животных: *** – $p < 0,001$.

Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## – $p < 0,01$; ### – $p < 0,001$.

Как антиаритмическое действие DPDPE, так и проаритмогенное действие DSLET были связаны с их непосредственным влиянием на δ -ОР, поскольку устранялись предварительной блокадой этих рецепторов путем введения ICI 174,864 (рис.11). Как было

указано ранее, используемый ингибитор ОР per se не оказывал влияния на аритмогенез рубцового миокарда (рис.9).

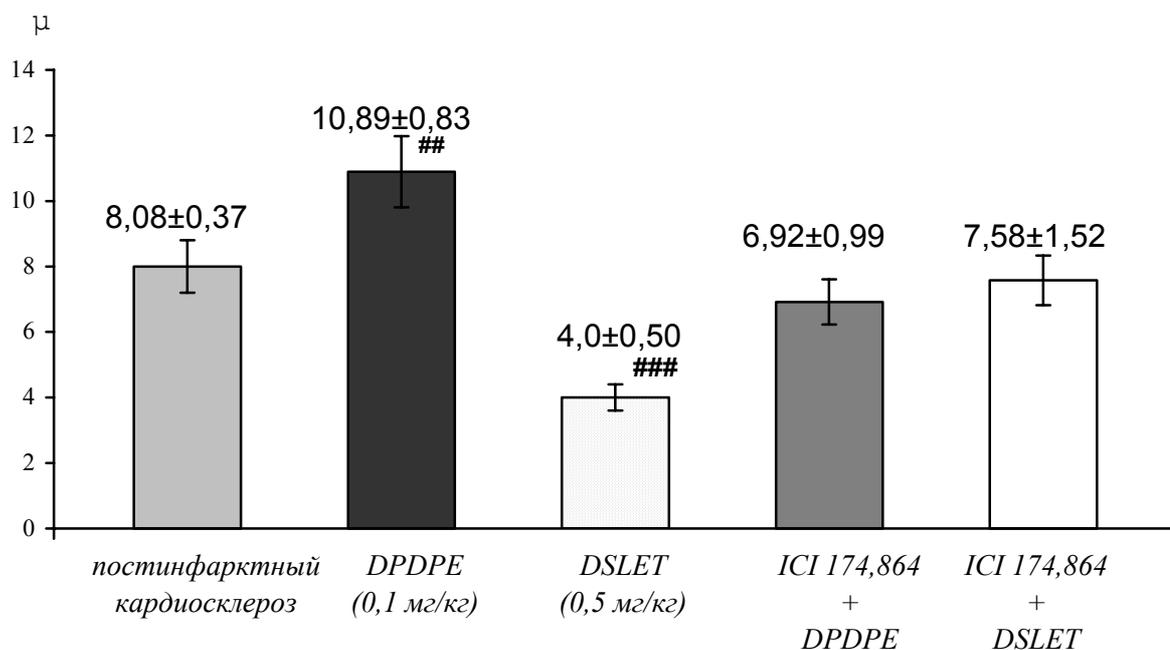


Рис. 11. Влияние предварительной блокады δ -опиатных рецепторов с помощью внутривенного введения ICI 174,864 на проявление эффектов пептидных агонистов δ_1 -рецепторов DPDPE и δ_2 -рецепторов DSLET на электрическую стабильность сердца при постинфарктном кардиосклерозе.

Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$.

Используемые нами лиганды, являясь препаратами пептидной природы, практически не проникают через гематоэнцефалический барьер [171]. Следовательно, полученные нами эффекты μ - и δ_1 -агонистов на электрическую стабильность сердца опосредованы периферическими, но не центральными опиатными рецепторами. С

целью проверки гипотезы нами были проведены эксперименты с использованием неселективного блокатора периферических ОР всех типов метилналоксон, который сам по себе не влиял на аритмогенез рубцового миокарда (рис.12). Как продемонстрировано на рисунке 12, введение как DALDA, так и DPDPE на фоне предварительной блокады периферических ОР не сопровождалось увеличением электрической стабильности рубцового миокарда.

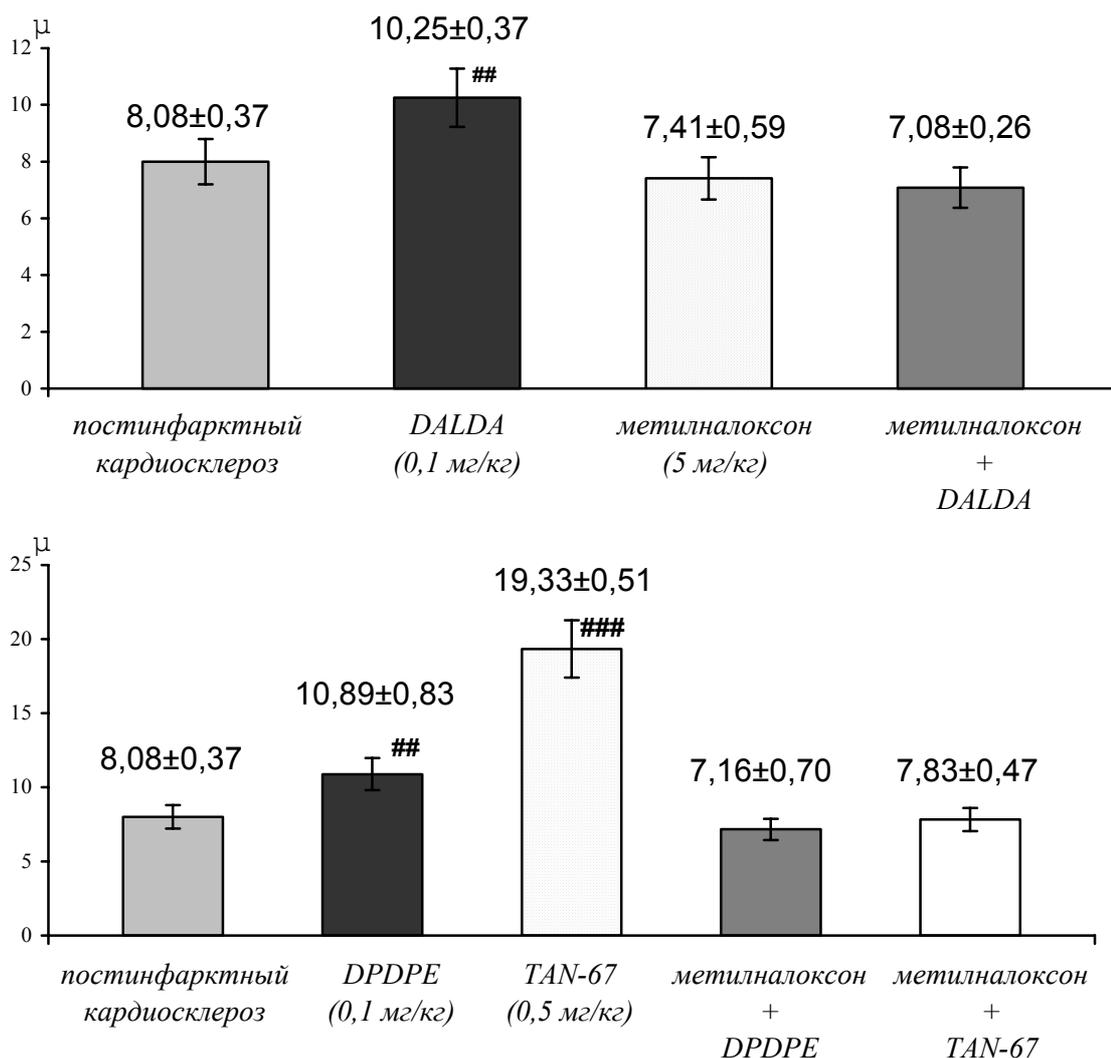


Рис. 12. Влияние предварительной блокады периферических опиатных рецепторов на опиатергическое увеличение порога желудочковой фибрилляции при постинфарктном кардиосклерозе.

Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$; ### - $p < 0,001$.

Этот факт доказывает наше предположение, что доминирующую роль в развитии антиаритмического эффекта пептидных μ - и δ_1 -агонистов играют периферические ОР. Кроме этого, мы выяснили, что не только пептиды, но и непептидный δ_1 -агонист TAN-67 также действует через активацию периферических рецепторов, поскольку его положительное действие на ПЖ полностью устранялось предварительной инъекцией метилналоксона (рис.12).

Известно, что субстратом для возникновения аритмий при постинфарктном кардиосклерозе является наличие соединительно-тканного рубца [13]. Данное анатомическое препятствие для обычного распространения волны возбуждения играет роль предрасполагающего фактора к развитию механизма повторного входа (re-entry) [13,223]. В литературе в качестве причин возникновения аритмий по указанному механизму указывают неполную реполяризацию мембран кардиомиоцитов, что наблюдается при замедлении проведения импульса и укорочении эффективного рефрактерного периода [13]. Такие электрофизиологические нарушения могут быть следствием, с одной стороны, изменений нейроэндокринной регуляции миокарда, а, с другой, – локальным дисбалансом основных ионов при наличии анатомического препятствия. В этой связи логично предположить, что используемые нами лиганды ОР могут повышать электрическую стабильность рубцового миокарда либо через воздействие на экстракардиальные системы, в частности, на вегетативную нервную систему, либо путем непосредственного влияния на ион-транспортные механизмы мембран кардиомиоцитов. Причем последнее является наиболее вероятным, поскольку наши данные указывают на то, что антифибрилляторный эффект опиоидов в условиях существования трансмурального рубца связан с активацией периферических ОР. Точками приложения в данном случае могут быть преимущественно K^+ -каналы (потенциал-зависимые и АТФ-

зависимые), поскольку именно они определяют продолжительность эффективного рефрактерного периода и полноценность реполяризации [13].

Таким образом, нами показано, что фармакологическая активация периферических μ - и δ_1 -, но не δ_2 -ОР способствует повышению электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе.

3.3.2. Участие $K_{ATФ}$ -каналов в опиоид-опосредованном повышении электрической стабильности миокарда в условиях постинфарктного кардиосклероза

В предыдущей главе диссертационной работы нами показано, что в условиях постинфарктного кардиосклероза опиоиды повышают электрическую стабильность сердца при постинфарктном кардиосклерозе. Мы выяснили также, что аналогичное действие оказывают активаторы $K_{ATФ}$ -каналов. Известно, что ряд эффектов опиоидов в различных тканях опосредуется открытием $K_{ATФ}$ -каналов [72, 128, 212]. На основании данных литературы мы предположили, что антиаритмическое действие лигандов ОР при постинфарктном кардиосклерозе может быть связано с $K_{ATФ}$ -каналами. Проверке этого предположения были посвящены следующие серии экспериментов.

Как продемонстрировано на рисунке 13, предварительная блокада $K_{ATФ}$ -каналов с помощью внутривенного введения глибенкламида полностью устраняла антиаритмические эффекты используемых нами пептидных агонистов μ - и δ_1 -рецепторов DALDA и DPDPE.

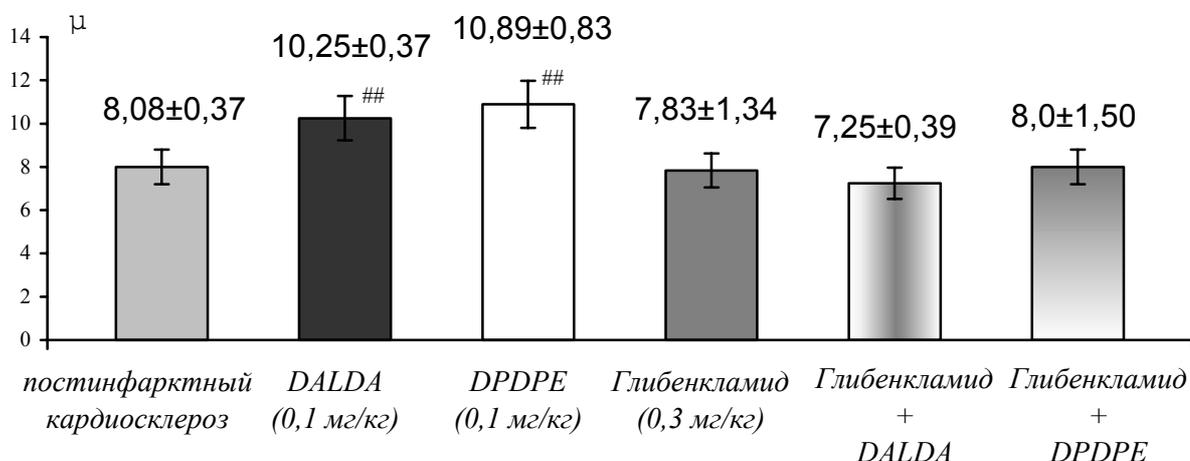


Рис. 13. Влияние предварительной блокады $K_{ATФ}$ -каналов с помощью внутривенного введения глибенкламида на опиоидное

повышение ПФЖ при постинфарктном кардиосклерозе. Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$.

Учитывая существование двух типов K_{ATP} -каналов: сарколеммальных и митохондриальных, мы попытались выяснить, с активацией какого пула указанных каналов связан защитный эффект опиоидов. С этой целью мы использовали инъекцию DALDA и DPDPE на фоне предварительной блокады либо сарколеммальных, либо митохондриальных K_{ATP} -каналов. Так, предварительное введение ингибитора сарколеммальных K_{ATP} -каналов HMR 1098 никак не влияло на степень опиатергического увеличения ПФЖ (рис.14).

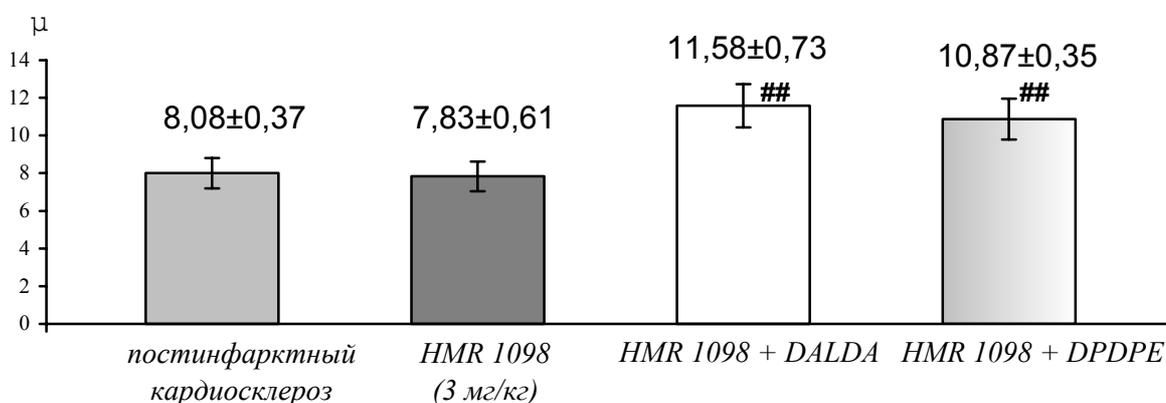


Рис. 14. Влияние предварительной блокады сарколеммальных K_{ATP} -каналов с помощью внутривенного введения HMR 1098 на опиатергическое повышение ПФЖ при постинфарктном кардиосклерозе. Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ## - $p < 0,01$.

В свою очередь блокада митохондриальных K_{ATP} -каналов путем предварительной инъекции 5-гидроксидеканоата полностью устраняла защитный эффект μ -агониста DALDA (рис.15). При совместном введении 5-гидроксидеканоата и DPDPE наблюдалось не только предупреждение развития антиаритмического действия последнего, но и снижение ПФЖ до $4,84 \pm 0,66 \mu A$, что ниже аналогичного параметра в группе животных с постинфарктным

кардиосклерозом на 50% (рис.15). Таким образом, нами обнаружено, что антиаритмическое действие μ - и δ_1 -агонистов в условиях постинфарктного кардиосклероза реализуется через активацию митохондриальных, но не сарколеммальных K_{ATP} -каналов, чему свидетельствует тот факт, что на фоне ингибирования сарколеммального пула защитный эффект опиоидов проявляется в полной мере, тогда как в условиях предварительной инактивации митохондриальных K_{ATP} -каналов он не развивается.

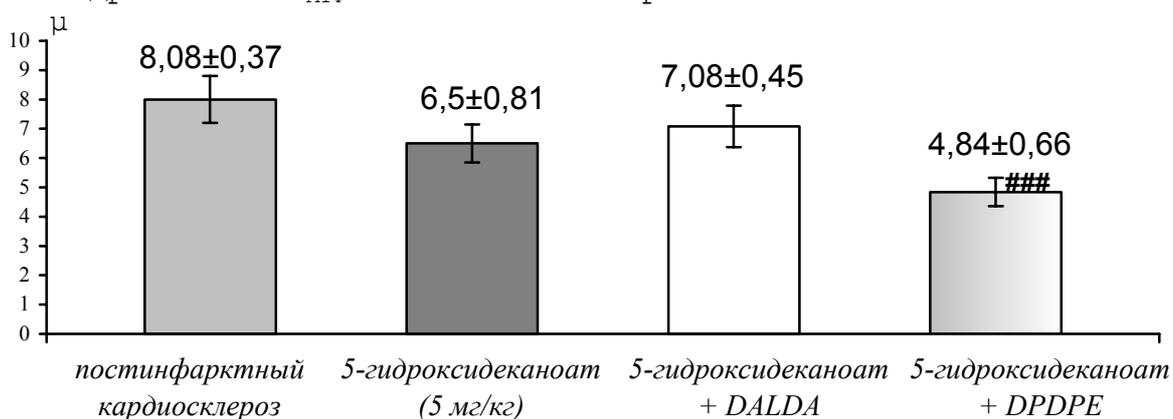


Рис. 15. Влияние предварительной блокады митохондриальных K_{ATP} -каналов с помощью внутривенного введения 5-гидроксидеканоата на опиатергическое повышение порога фибрилляции желудочков при постинфарктном кардиосклерозе. Достоверность по отношению к животным с постинфарктным кардиосклерозом: ### - $p < 0,001$.

В этой связи возникает закономерный вопрос, каким образом K_{ATP} -каналы, расположенные на внутренней мембране митохондрий, способны влиять на электрическую стабильность клеточной мембраны кардиомиоцитов в условиях постинфарктного кардиосклероза.

Для того, чтобы ответить на этот вопрос, необходимо представлять, какие изменения наблюдаются в миокарде крыс через 6 недель после лигирования коронарной артерии. Существуют литературные данные, свидетельствующие, что у животных с

постинфарктным кардиосклерозом изменения структуры и функции могут быть представлены либо в виде компенсированного левожелудочкового ремоделирования, либо в форме декомпенсированной левожелудочковой недостаточности [157]. При этом независимо от вида левожелудочковой дисфункции в кардиомиоцитах наблюдаются выраженные изменения, прежде всего, энергетического обмена [157]. Так, в исследованиях Y. Murikami показано, что при наличии трансмурального рубца сердечной мышцы как при ремоделировании, так, в большей степени, и при сердечной недостаточности в кардиомиоцитах отмечено снижение активности внутриклеточной креатинфосфокиназы и уровня креатинфосфата [157]. Как известно, креатинфосфат – это макроэргическое соединение, которое является в некоторых типах клеток, в том числе и в кардиомиоцитах, главным переносчиком внутриклеточной энергии от места ее синтеза на внутренней мембране митохондрий к местам ее использования, в первую очередь к миофибриллам и Ca^{2+} -АТФазе саркоплазматического ретикулума [9,10,53]. Образование креатинфосфата происходит в межмембранном пространстве путем переноса макроэргической фосфатной связи с АТФ на креатин при катализирующем действии креатинфосфокиназы [9,10,53]. Важное значение в этом процессе отводится согласованной работе креатинфосфокиназы и АТФ/АДФ-транслоказы [157]. Последняя ответственна за трансмембранный перенос образованного в результате окислительного фосфорилирования АТФ через внутреннюю мембрану митохондрий в межмембранное пространство в обмен на обратный транспорт в матрикс АДФ для рефосфорилирования [9,10]. Образованный креатинфосфат легко диффундирует в саркоплазме к местам использования энергии, где происходит передача макроэргической фосфатной связи на имеющийся АДФ с образованием АТФ и свободного креатина [9,10,53]. Таким образом, отмеченное в

исследованиях Y. Murakami снижение активности креатинкиназы и уровня внутриклеточного креатинфосфата при постинфарктном кардиосклерозе, даже при сохранном уровне АТФ может обуславливать нарушения, прежде всего, сократимости и трансмембранного переноса ионов [9,10]. Тот факт, что при наличии рубца в миокарде нарушается аккумулирующая способность саркоплазматического ретикулума в отношении ионов кальция, подтверждается в ряде исследований [192]. Так, показано, что через 8 недель после коронароокклюзии в изолированных сердечных трабекулах отмечается перегрузка саркоплазматического ретикулума ионами Ca^{2+} [192]. Предполагается, что именно этот механизм может предшествовать спонтанному выбросу Ca^{2+} в саркоплазму, а это, в свою очередь, может выступать в роли проаритмогенного механизма [192]. Кроме этого, существуют литературные данные, что креатинфосфат способен оказывать стабилизирующее действие на мембраны кардиомиоцитов, заключающееся в нормализации фосфолипидного состава [61]. Данный факт расценивается учеными как один из механизмов антиаритмического действия креатинфосфата [61]. Предполагают, что именно мембранный эффект указанного макроэрга опосредует ускорение проведения в миокарде [61], что в случае постинфарктного кардиосклероза представляется достаточно важным, поскольку основным механизмом возникновения аритмий в рубцовой сердечной мышце является re-entry, который возникает как раз на фоне замедления проведения в зоне анатомического дефекта [223]. Таким образом, последствия снижения внутриклеточного креатинфосфата при постинфарктном кардиосклерозе, приводящие к снижению электрической стабильности мембран кардиомиоцитов, могут быть связаны, с одной стороны, с нарушением работы Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума, а, с другой, - с изменением

состава мембранных фосфолипидов и последующим замедлением проведения импульса [61,192].

Исходя из патофизиологии изменений метаболизма рубцового миокарда, описанных выше, мы предполагаем, что активация митохондриальных K_{ATP} -каналов может способствовать нормализации уровня креатинфосфата и активности креатинфосфокиназы в рубцовом миокарде. К сожалению, в литературе отсутствуют данные об изменении работы креатинфосфатного челночного механизма вследствие открытия митохондриальных K_{ATP} -каналов.

Однако в исследованиях M.N. Laclau [84] показано, что феномен ишемического preconditionирования, заключающийся в способности коротких периодов острой ишемии защищать миокард от повреждающего действия (в том числе и аритмогенного) последующей более длительной коронароокклюзии, предупреждает разобщение работы АТФ/АДФ-транслоказы и креатинфосфокиназы, предотвращая тем самым снижение синтеза креатинфосфата в период острой гипоксии [84]. Поскольку конечным внутриклеточным эффектором ишемического preconditionирования в настоящее время признаны K_{ATP} -каналы внутренней мембраны митохондрий [166,193], то возможно, что именно они и ответственны за нормальное функционирование указанного челночного механизма. Кроме этого, считается доказанным, что одними из рецепторов, участвующих в реализации феномена адаптации к ишемии, являются δ -опиатные рецепторы [181]. Исходя из указанных фактов, представляется логичным предположить, что обнаруженный нами антиаритмический эффект экзогенных лигандов опиатных рецепторов в условиях постинфарктного кардиосклероза способствует активации митохондриальных K_{ATP} -каналов, результатом чего может быть нормализация энергетического обмена в клетке за счет улучшения функционирования креатинфосфокиназы и повышения синтеза креатинфосфата. Восстановление энергетического обмена после

активации митохондриальных K_{ATP} -каналов в условиях постинфарктного кардиосклероза, по-видимому, обеспечивает адекватную работу ионных насосов клетки и, тем самым, обеспечивает ионный гомеостаз и электрическую стабильность сердца.

Таким образом, опиатергическое повышение электрической стабильности миокарда в условиях постинфарктного кардиосклероза связано с активацией μ - и δ_1 -опиатных рецепторов и сопряженных с ними митохондриальных K_{ATP} -каналов.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Электрическая стабильность миокарда обеспечивается согласованным функционированием нейрогуморальных факторов, мембранных рецепторов и вторичных мессенджеров, оказывающих регулирующее влияние на ионтранспортирующие системы клетки, липидный состав клеточной мембраны, энергообмен и другие процессы [13, 80, 87, 223]. Понимание этих тонких взаимосвязей необходимо для эффективного поиска оптимальных путей предупреждения и купирования функциональных нарушений электрофизиологических процессов миокарда. В настоящее время существует большое количество данных о том, что ключевым звеном развития аритмий являются изменения работы ионных каналов клеток сердца [13, 80, 87, 223]. Блокада ионных каналов используется в качестве основного подхода к профилактике и терапии нарушений ритма сердца [24, 58]. Однако при многих аритмиях, в том числе возникающих на фоне острой ишемии/реперфузии сердечной мышцы, в острый и хронический периоды инфаркта миокарда, применение традиционных антиаритмиков не всегда оказывается достаточно эффективным, а, кроме того, эти препараты могут ухудшить состояние больного за счет побочных эффектов, таких как собственная аритмогенная активность и снижение инотропной функции сердца [13, 24, 58]. Дальнейшее изучение электрофизиологических особенностей миокарда при острой ишемии/реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе, позволит не только расширить наши знания об аритмогенезе, но и предоставит возможность поиска новых путей повышения толерантности миокарда к аритмогенным воздействиям.

Одной из клеточных ионтранспортирующих структур, чья роль в аритмогенезе окончательно не выяснена, являются сарколеммальные и митохондриальные АТФ-зависимые K^+ -каналы (K_{ATP} -каналы). Известно, что активаторы этих каналов могут

оказывать как антиаритмический [86,161], так и аритмогенный эффекты [106,224]. Кроме того, показано участие $K_{ATФ}$ -каналов в качестве конечного эффектора в развитии кардиопротекторного феномена "ischemic preconditioning" [120,158,193], заключающегося в том, что после воздействия сеансов кратковременной (5 мин) ишемии, чередующихся с периодами реперфузии, миокард становится устойчивым к патогенному влиянию последующей длительной ишемии [138,156]. Установлено, что фармакологическая имитация прекондиционирования путем активации ряда рецепторов [189,209], в том числе и опиатных, также реализуется за счет «открывания» $K_{ATФ}$ -каналов [159,195,208,209].

Исследователями неоднократно выдвигалась идея о том, что опиоидные пептиды способны повышать электрическую стабильность сердечной мышцы [1,3,20,21,32,102,109,111,120,121,122,140]. Однако опиатергические внутриклеточные механизмы, регулирующие устойчивость миокарда к аритмогенным воздействиям, оставались недостаточно изученными. Для выяснения значения μ - и δ -опиатных рецепторов и сопряженных с ними $K_{ATФ}$ -каналов в регуляции электрической стабильности сердца нами были проведены экспериментальные исследования на моделях острой ишемии/реперфузии и постинфарктного кардиосклероза с использованием агонистов/антагонистов опиатных рецепторов и активаторов/ингибиторов $K_{ATФ}$ -каналов.

Задачей первого этапа нашей работы было изучение роли сарколеммальных и митохондриальных $K_{ATФ}$ -каналов в регуляции устойчивости сердечной мышцы к аритмогенному действию острой коронароокклюзии/реоксигенации и при постинфарктном кардиосклерозе. В качестве активатора $K_{ATФ}$ -каналов нами использовался BMS 180448. Результаты проведенных экспериментов показали, что развитие острого ишемического и реперфузионного повреждения в ткани миокарда приводит к выраженному снижению

электрической стабильности сердца, что регистрируется по увеличению частоты желудочковых аритмий различной степени тяжести. Формирование постинфарктного рубца также снижает толерантность сердца к профибрилляторным воздействиям, что проявляется уменьшением порога фибрилляции желудочков (ПФЖ).

Активация в кардиомиоцитах сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов с помощью препарата BMS 180448 препятствует развитию аритмий в условиях острой ишемии/реперфузии, но оказывает проаритмогенное действие на рубцовый миокард. В пользу подобного утверждения говорит тот факт, что инъекция ингибитора сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов глибенкламида устраняла как антиаритмический, так и проаритмический эффект BMS 180448.

Поскольку в кардиомиоцитах существуют два пула K_{ATP} -каналов (сарколеммальные и митохондриальные), отличные по структуре и по функциональной значимости [120,186], а BMS 180448 является их неселективным активатором [62], то следующей задачей стало выяснение вклада каждого из указанных пулов K_{ATP} -каналов в развитие как антиаритмического, так и проаритмогенного эффектов BMS 180448. С этой целью нами использовались селективные ингибиторы сарколеммальных K_{ATP} -каналов HMR 1098 и митохондриальных – 5-гидроксидеканоат.

Предварительное «выключение» сарколеммальных K_{ATP} -каналов с помощью препарата HMR 1098 не влияло на выраженность антиаритмического эффекта BMS 180448 в период коронароокклюзии, но полностью предупреждало его развитие во время постишемической реоксигенации. Блокатор митохондриальных K_{ATP} -каналов 5-гидроксидеканоат не использовался в качестве «фармакологического инструмента» на данной модели, поскольку сам оказывал стабилизирующее действие на электрофизиологические параметры в условиях острой ишемии/реперфузии. На основании

полученных данных мы можем предположить, что антиаритмический эффект BMS 180448 не связан с активацией сарколеммальных K_{ATP} -каналов в острый ишемический период, поскольку не устраняется блокадой этих каналов, но опосредуется их активацией в условиях реперфузии. Неоднозначная роль сарколеммального пула в ишемическом и реперфузионном повреждении, по-видимому, связана с различным значением выходящего калиевого тока в патогенезе нарушений ритма, возникающих в период коронароокклюзии и реоксигенации. Ишемические аритмии развиваются преимущественно по механизму re-entry [13], основой которого является снижение продолжительности периода реполяризации и рефрактерности, а реперфузионные – по механизму триггерной активности [13], когда развитие ранних и поздних постдеполяризаций обусловлено удлинением фазы реполяризации и периода рефрактерности. В этой связи, ключевая роль сарколеммальных K_{ATP} -каналов в патогенезе реоксигенационных аритмий связана с благоприятным воздействием возрастающего выходящего калиевого тока на удлиненную фазу 3 потенциала действия. Увеличение выхода K^+ сопровождается гиперполяризацией мембраны, укорочением продолжительности потенциала действия за счет фазы реполяризации [86,106,224], снижением входа ионов кальция через потенциал-зависимые Ca^{2+} -каналы. Это уменьшает перегрузку кардиомиоцитов этим ионом и, соответственно, вероятность развития ранних и поздних постдеполяризаций [86,106,224]. Поскольку результаты экспериментов показали, что сарколеммальные K_{ATP} -каналы не участвуют в реализации антиаритмического эффекта BMS 180448 в условиях острой ишемии, а данное соединение способно активировать еще и митохондриальные K_{ATP} -каналы, мы решили проверить гипотезу о доминирующей роли именно митохондриальных K_{ATP} -каналов в BMS 180448-индуцированном увеличении электрической стабильности миокарда. С этой целью мы

использовали селективный активатор указанных ионных структур диазоксид. Данный препарат не обладает кардиоселективностью и "открывает" $K_{ATФ}$ -каналы сосудов, вследствие чего может возникать снижение артериального давления с последующей рефлекторной активацией симпатoadреналовой системы и тахикардией, оказывающей проаритмогенное действие [207]. Исходя из этого, целесообразным было исследовать действие диазоксида на электрофизиологические параметры на фоне истощения запасов эндогенных катехоламинов в сердце и надпочечниках для предотвращения рефлекторного выброса катехоламинов из депо в этих органах. Такое симпатолитическое состояние достигали путем введения гуанетидина. На этом фоне активация митохондриальных $K_{ATФ}$ -каналов сопровождалась антиаритмическим эффектом как в период острой ишемии, так и во время постишемической реперфузии. Вероятными внутриклеточными последствиями увеличения входящего калиевого тока через внутреннюю митохондриальную мембрану является улучшение энергетического статуса клеток, снижение перегрузки ионами Ca^{2+} митохондрий, что препятствует нарушению работы клеточных АТФаз, в том числе и Ca^{2+} -АТФазы саркоплазматического ретикулума, а также увеличивает период времени до наступления необратимых изменений митохондрий и клеточных мембран, повышая жизнеспособность кардиомиоцитов [120, 127, 154, 193].

Зарегистрированное нами профибрилляторное действие активатора $K_{ATФ}$ -каналов BMS 180448 у крыс с постинфарктным кардиосклерозом, по-видимому, было опосредовано преимущественным стимулирующим воздействием препарата на сарколеммальный пул $K_{ATФ}$ -каналов. Это подтверждал тот факт, что предварительная блокада сарколеммальных $K_{ATФ}$ -каналов с помощью препарата HMR 1098 не только предупреждала BMS 180448-

индуцированное снижение ПФЖ, но и способствовала появлению антиаритмической активности препарата. В то же время, ингибирование митохондриальных K_{ATP} -каналов предварительной инъекцией 5-гидроксидеканоата не влияло на профибрилляторное действие BMS 180448. Известно, что рубец миокарда является морфологическим субстратом для возникновения аритмий по механизму re-entry [13], в основе которого лежит укорочение продолжительности потенциала действия за счет фазы реполяризации. Следовательно, при "открытии" сарколеммальных K_{ATP} -каналов увеличение выходящего K^+ -тока, гиперполяризация мембраны и укорочение потенциала действия будут только усугублять ситуацию. Поскольку при введении BMS 180448 на фоне "выключения" сарколеммальных K_{ATP} -каналов отмечалось значительное увеличение ПФЖ (до уровня ложно оперированных животных), мы предположили, что такой антиаритмический эффект, возможно, является проявлением активации митохондриальных K_{ATP} -каналов. Для проверки нашего предположения проведены серии опытов с активатором митохондриальных K_{ATP} -каналов диазоксидом. Эксперименты выполнялись на фоне истощения запасов эндогенных катехоламинов, чтобы исключить рефлекторную тахикардию в ответ на диазоксид-индуцированное снижение артериального давления [207]. В результате обнаружено, что "открывание" митохондриальных K_{ATP} -каналов сопровождается увеличением электрической стабильности рубцового миокарда.

Таким образом, на основании полученных результатов мы можем сделать вывод, что активация митохондриальных K_{ATP} -каналов способствует повышению электрической стабильности сердца в условиях острой ишемии/реперфузии и постинфарктного кардиосклероза. В свою очередь, стимуляция сарколеммальных K_{ATP} -каналов увеличивает толерантность сердечной мышцы только к аритмогенному действию постишемической реперфузии.

Основанием для проведения следующего этапа экспериментов стали литературные данные и результаты исследований нашей лаборатории.

Так, в лаборатории экспериментальной кардиологии НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН показано, что пептидный μ - δ -агонист опиатных рецепторов даларгин, не проникающий через гематоэнцефалический барьер, оказывает в условиях острой коронароокклюзии/реоксигенации антиаритмическое действие [1, 3, 20, 21, 32]. Однако не было выяснено, каков вклад каждого из типов рецепторов (μ или δ) в развитие данного защитного эффекта. В связи с этим, мы решили изучить влияние стимуляции μ - и δ -опиатных рецепторов с использованием селективных μ - и δ -агонистов. Результаты исследований показали, что μ -агонист DALDA и δ_1 -агонисты DPDPE и TAN-67 увеличивают толерантность сердца к аритмогенному действию острой ишемии/реперфузии и повышают ПФЖ рубцового миокарда. Напротив, стимуляция δ_2 -рецепторов с помощью пептида DSLET не влияет на окклюзионные и реперфузионные аритмии, но приводит к снижению электрической стабильности сердца при постинфарктном кардиосклерозе. Специфичность полученных эффектов опиоидов была подтверждена путем предварительного ингибирования соответствующих типов рецепторов антагонистами. Поскольку пептиды DALDA и DPDPE практически не проникают через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ) [171], мы предположили, что существует взаимосвязь защитного действия этих лигандов с активацией периферических опиатных рецепторов. Данное предположение подтвердилось в экспериментах с использованием аналога налоксона – метилналоксона – антагониста всех типов опиатных рецепторов, не проникающего через ГЭБ [67]. На фоне введения этого соединения пептидные лиганды не проявляли свое антиаритмическое действие. Интересным является тот факт, что инъекция

метилналлоксона предупреждала также и действие неопиоидного δ_1 -агониста TAN-67, способного проникать через ГЭБ, что служит подтверждением ключевой роли периферических δ_1 -опиоидных рецепторов в TAN-67-индуцированном повышении толерантности сердца к аритмогенным воздействиям.

Таким образом, на основании вышеизложенных данных мы можем заключить, что воздействие на периферические μ - и δ_1 -опиоидные рецепторы селективных агонистов этих рецепторов приводит к увеличению устойчивости миокарда к аритмогенным влияниям острой коронароокклюзии/реоксигенации и постинфарктного кардиосклероза. При этом активация δ_2 -опиоидных рецепторов не влияет на частоту появления окклюзионных и реперфузионных аритмий, но способствует снижению ПФЖ при постинфарктном кардиосклерозе.

Следует отметить, что до настоящего времени спорным остается вопрос участия кардиальных опиоидных рецепторов в развитии кардиотропных эффектов опиоидов. Так, μ -рецепторы до сих пор не обнаружены на сарколемме кардиомиоцитов [169]. А в экспериментах, посвященных исследованию электрической стабильности при введении δ_1 -агонистов использовались лиганды, проникающие через ГЭБ (TAN-67) [208], что делает равновероятным участие как кардиальных [169], так и других периферических или центральных δ -опиоидных рецепторов в формировании антиаритмического эффекта опиоидов. В этой связи мы исследовали влияние на аритмогенез активации μ - и δ_1 -опиоидных рецепторов путем добавления DALDA и DPDPE в перфузионный раствор изолированного сердца экспериментальных животных перед моделированием тотальной ишемии. Полученные данные свидетельствуют, что стимуляция кардиальных δ_1 -опиоидных рецепторов с помощью DPDPE сопровождалась повышением толерантности изолированного сердца к аритмогенному действию

постишемической перфузии, не менее выраженному, чем в экспериментах *in vivo*. В свою очередь, добавление в перфузат μ -агониста DALDA не приводило к возникновению значимого антиаритмического эффекта, сравнимого с таковым *in vivo*. Полученные результаты позволяют предположить возможность участия кардиальных опиатных δ_1 -рецепторов в опосредовании опиоид-индуцированного увеличения электрической стабильности сердца, тогда как участие кардиальных μ -рецепторов в реализации антиаритмического действия μ -агонистов, по-видимому, минимально.

На основании указанных результатов нами сделан вывод, что воздействие на кардиальные δ_1 -опиатные рецепторы агонистов повышает резистентность миокарда к аритмогенному влиянию ишемии/реперфузии. В то же время стимуляция кардиальных μ -рецепторов не оказывает существенного эффекта на частоту реперфузионных аритмий в экспериментах *in vitro*.

Известно, что опиоиды способны оказывать кардиопротекторный эффект в условиях острой ишемии/реперфузии, проявляющийся в уменьшении зоны инфаркта [166,167]. Одной из гипотез, объясняющей внутриклеточные механизмы опиоид-индуцированной кардиопротекции, является предположение об участии в качестве ключевого звена митохондриальных K_{ATP} -каналов [208]. На основании этого, а также с учетом наших результатов о важной роли K_{ATP} -каналов в регуляции электрофизиологических явлений в сердечной мышце, мы решили оценить вклад указанных ионотранспортирующих структур в зарегистрированное нами антиаритмическое действие μ -агониста DALDA и δ_1 -агониста DPDPE в условиях острой ишемии/реперфузии и постинфарктного кардиосклероза. В проведенных исследованиях обнаружено, что предварительная блокада сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов с помощью глибенкламида полностью предупреждает

развитие защитного действия обоих лигандов как в острых, так и в хронических экспериментах. Это свидетельствует, что активация K_{ATP} -каналов опосредует опиоид-индуцированное увеличение толерантности миокарда к аритмогенным воздействиям. Однако в предыдущих исследованиях мы показали, что роль сарколеммальных и митохондриальных K_{ATP} -каналов в регуляции электрической стабильности сердечной мышцы различна. В этой связи интерес представляло изучение значения каждого из указанных пулов в реализации вышеуказанного защитного эффекта опиоидов.

С этой целью были проведены серии опытов с введением DALDA и DPDPE на фоне блокады либо сарколеммальных K_{ATP} -каналов с помощью NMR 1098, либо митохондриальных – с помощью 5-гидроксидеканоата. Обнаружено, что "выключение" сарколеммальных K_{ATP} -каналов не влияет на степень выраженности антиаритмического эффекта опиоидов как в условиях острой ишемии/реперфузии, так и при постинфарктном кардиосклерозе. Данный факт исключает возможность участия этого типа K_{ATP} -каналов в опиоид-индуцированном повышении устойчивости электрической стабильности рубцового миокарда и предполагает детерминирующую роль митохондриальных K_{ATP} -каналов в опосредовании этих протекторных изменений. Однако мы не смогли использовать 5-гидроксидеканоат в качестве "фармакологического инструмента" в остром опыте из-за его собственной антиаритмической активности. У крыс с постинфарктным кардиосклерозом блокада митохондриальных K_{ATP} -каналов полностью предупреждала развитие антифибрилляторного действия DALDA и DPDPE.

Эксперименты по изучению роли K_{ATP} -каналов в опосредовании антиаритмического эффекта опиоидов в условиях острой ишемии/реперфузии и постинфарктного кардиосклероза позволили нам сделать вывод, что опиоидное повышение электрической

стабильности сердца реализуется через активацию митохондриальных K_{ATP} -каналов.

Таким образом, результаты проведенных исследований показали, что μ - и δ -опиатные рецепторы и сопряженные с ними K_{ATP} -каналы вносят весомый вклад в формирование резистентности миокарда к аритмогенным воздействиям. На наш взгляд, способность опиоидов активировать митохондриальные K_{ATP} -каналы и, тем самым, повышать электрическую стабильность сердца может рассматриваться как один из принципиально новых путей коррекции нарушений ритма сердца, возникающих при острой и хронической ишемии миокарда.

ВЫВОДЫ

1. Активация митохондриальных K_{ATP} -каналов способствует повышению электрической стабильности сердца в условиях острой ишемии/реперфузии и постинфарктного кардиосклероза.
2. Стимуляция сарколеммальных K_{ATP} -каналов повышает толерантность сердца к аритмогенному действию постишемической реперфузии.
3. Воздействие на периферические μ - и δ_1 -опиатные рецепторы агонистов оказывает антиаритмический эффект при острой ишемии/реперфузии и постинфарктном кардиосклерозе.
4. Активация δ_2 -опиатных рецепторов не влияет на частоту появления окклюзионных и реперфузионных аритмий, но способствует снижению порога желудочковой фибрилляции при постинфарктном кардиосклерозе.
5. Воздействие на кардиальные δ_1 -опиатные рецепторы агонистов повышает резистентность миокарда к аритмогенному влиянию ишемии/реперфузии. В тоже время стимуляция кардиальных μ -рецепторов не оказывает существенного эффекта на частоту реперфузионных аритмий в экспериментах *in vitro*.
6. Митохондриальные K_{ATP} -каналы участвуют в реализации антиаритмического эффекта стимуляции μ - и δ_1 -опиатных рецепторов.

Список литературы

1. Активация μ -опиатных рецепторов как фактор повышения устойчивости сердца к ишемическим и реперфузионным повреждениям / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, А.В. Наумова, С.А. Богомаз // Рос. физиол. журн. - 1998. - Т.84, № 11. - С.1223 - 1230.
2. Бабенко А.П. Исследование функционирования открывающихся при гипоксии K^+ -каналов сарколеммы желудочковых кардиомиоцитов / А.П. Бабенко, В.О. Самойлов // Биологические мембраны. - 1994. - Т.11, № 1. - С.35 - 43.
3. Блокада опиатных рецепторов и реакция сердца на повреждение при ишемии и реперфузии / Ю.Б. Лишманов, А.В. Наумова, Т.В. Ласукова, Л.Н. Маслов // Кардиология. - 1998. - № 11. - С.38 - 42.
4. Ватанабе А.М. Механизмы адренергической и холинергической регуляции сократимости миокарда / А.М. Ватанабе, Дж.П. Линдерман // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперилакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.2. - С.124 - 168.
5. Влияние опиоидного пептида на заживление экспериментального инфаркта миокарда / Н.А. Афонская, О.Б. Ильинский, В.Ф. Кондаленко и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1986. - № 12. - С.754 - 757.
6. Влияние опиоидных пептидов на развитие ишемических сердечных аритмий при лазерном облучении в условиях нарушенной симпатической иннервации сердца / С.Д. Михайлова, А.В. Соколов, Т.М. Семушкина и др. // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1999. - № 4. - С.374 - 377.

7. Генес В.С. Таблицы достоверных различий между группами наблюдений по качественным признакам / В.С. Генес. - М.: Медицина, 1964. - 80 с.
8. Заяц В.И. Влияние бета-эндорфина на сократительную функцию неишемизированных отделов сердца при экспериментальном инфаркте / В.И. Заяц, А.П. Божко // Механизмы адаптации и компенсации, методы их тренировки, контроля и стимуляции. - Минск, 1985. - С.80 - 81.
9. Капелько В.И. Креатинфосфокиназный путь транспорта энергии в мышечных клетках / В.И. Капелько // Соросовский образовательный журнал. - 2000. - Т.6, № 11. - С.8 - 12.
10. Капелько В.И. Нарушение энергообразования в клетках сердечной мышцы: причины и следствия / В.И. Капелько // Соросовский образовательный журнал. - 2000. - Т.6, №5. - С.14 - 20.
11. Касс Р.С. Ионные основы электрической активности сердца / Р.С. Касс // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.1.- С.128 - 149.
12. Козлов А.Г. Взаимосвязь нейронального захвата и β -адренореактивности сердца крысы / А.Г. Козлов // Физиол. журн. СССР. - 1986. - № 8. - С.1101 - 1106.
13. Кушаковский М.С. Аритмии сердца / М.С. Кушаковский. - СПб.: Фолиант, 1998. - 640 с.
14. Лазарев А.В. Кальцийзависимый механизм регуляции циклазной системы сердца лягушки / А.В. Лазарев, В.И. Поротиков, Т.Ш. Кшуташвили // Докл. АН СССР. - 1979. - Т.245, № 1. - С.245 - 249.
15. Лаззара Р. Клеточная электрофизиология и ишемия / Р. Лаззара, В.Дж. Шерлаг // Физиология и патофизиология сердца:

- В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.1. - С.504 - 528.
16. Леви М.Н. Нейрогуморальная регуляция работы сердца / М.Н. Леви, П.Ю. Мартин // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.2. - С.64 - 90.
17. Линдеман Д.П. Механизмы адренергической и холинергической регуляции сократимости миокарда / Д.П. Линдеман // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.2. - С.124 - 168.
18. Лишманов Ю.Б. Взаимодействие опиоидной и симпатoadреналовой системы при ишемическом повреждении сердца / Ю.Б. Лишманов, Ю.Б. Кондратьев // Рос. физиол. журн. - 1995. - Т.81, №5. - С.77 - 85.
19. Лишманов Ю.Б. Опиоидные нейропептиды, стресс и адаптационная защита сердца / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов. - Томск, 1994. - 352 с.
20. Лишманов Ю.Б. Роль периферических опиатных рецепторов μ - и дельта-типов в регуляции устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям / Ю.Б. Лишманов, А.В. Крылатов, Л.Н. Маслов // Рос. физиол. журн. - 1997. - Т.83, № 7. - С.80 - 87.
21. Лишманов Ю.Б. Периферические μ -опиатные рецепторы и регуляция устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, А.В. Крылатов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1998. - Т.125, № 6. - С.650 - 653.
22. Лишманов Ю.Б. Влияние энкефалинов на активность периферических стресс-лимитирующих систем в процессе развития аритмий, вызванных острой ишемией миокарда / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, Т.Ю. Реброва // Бюл. ТНЦ АМН СССР. - 1991. - Вып.4. - С.3 - 14.

23. Лишманов Ю.Б. Экспериментальное изучение фармакологической активности лигандов опиатных рецепторов на модели адреналовых аритмий / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, Д.С. Угдыжекова // Эксперим. и клинич. фармакология. - 1995. - Т.58, № 4. - С.26 - 28.
24. Мазур Н.А. Фармакотерапия аритмий / Н.А. Мазур, А. Абдалла. - М: Оверлей, 1995. - 224 с.
25. Макдональд Т.Ф. Электромеханическое сопряжение. Связь медленного входящего тока с сокращением / Т.Ф. Макдональд // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.1. - С.278 - 295.
26. Маллинс Л.Дж. Роль Na^+ - Ca^{2+} -обмена в клетках ткани сердечной мышцы. Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Л.Дж. Маллинс / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.1. - С.296 - 324.
27. Мареев В.Ю. Сердечная недостаточность и желудочковые нарушения ритма сердца: проблемы лечения / В.Ю. Мареев // Кардиология. - 1996. - № 12. - С.4 - 12.
28. Маслов Л.Н. Роль центральных и периферических опиатных рецепторов в аритмогенезе / Л.Н. Маслов // Актуальные вопр. кардиологии. - Томск: Изд-во ТГУ, 1994. - Вып.8. - С.101 - 104.
29. Маслов Л.Н. Использование лигандов мю- и дельта-опиатных рецепторов для предупреждения нарушений ритма и сократимости изолированного сердца в постишемическом периоде / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов // Кардиология. - 1998. - № 12. - С.25 - 30.
30. Маслов Л.Н. Об участии центральных и периферических мю- и дельта-опиатных рецепторов в механизмах антиаритмического действия энкефалинов / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1991. - № 8. - С.124 - 126.

31. Маслов Л.Н. Антиаритмическое действие агонистов μ -опиатных рецепторов при адреналовых аритмиях: роль вегетативной нервной системы / Л.Н. Маслов, А.В. Крылатов, Ю.Б. Лишманов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1996. - № 7. - С.25 - 27.
32. Маслов Л.Н. Роль эндогенной опиоидной системы в регуляции неспецифической устойчивости миокарда к реперфузионному повреждению у крыс / Л.Н. Маслов, Т.В. Ласукова, Ю.Б. Лишманов // Рос. физиол. журн. - 1998. - Т.84, № 5 - 6. - С.490 - 499.
33. Маслов Л.Н. Об участии различных типов опиатных рецепторов в механизме стрессорного повреждения сердца / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Н.В. Нарыжная // Физиол. журн. - 1996. - Вып.82, № 5 - 6. - С.53 - 58.
34. Маслов Л.Н. К механизму антиаритмического действия агонистов и антагонистов опиоидных рецепторов / Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов, Й.И. Шекели // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1993. - Т.122, № 8. - С.169 - 171.
35. Меерсон Ф.З. Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца / Ф.З. Меерсон. - М.: Медицина, 1984. - 268 с.
36. Меерсон Ф.З. Предупреждение нарушений сократительной функции неишемизированных отделов сердца при экспериментальном инфаркте миокарда с помощью бетаэндорфина / Ф.З. Меерсон, В.И. Заяц, М.Г. Пшенникова // Кардиология. - 1985. - Т.25, № 7. - С.102 - 106.
37. Механизмы регуляции функции гладких мышц вторичными посредниками / М.Б. Баскаков, М.А. Медведев, И.В. Ковалев и др. - Томск, 1996. - 154 с.
38. Механизмы устойчивости сердца к стресс-индуцированным повреждениям / Л.Н. Маслов, Н.В. Нарыжная, Л.Н. Барабаш, Ю.Б.

- Лишманов // Рос. физиол. журн. - 1997. - Вып.83, № 3. - С.43 - 50.
39. Нейлер В.Г. Кальций и повреждение кардиомиоцитов / В.Г. Нейлер, М.Дж. Дейли // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. - М.: Медицина, 1990. - Т.1. - С.556 - 578.
40. О модулирующем влиянии эндогенных опиоидов на антиаритмический эффект при адаптации крыс к гипоксии / Ю.Б. Лишманов, Е.В. Ускина, А.В. Крылатов и др. // Рос. физиол. журн. - 1998. - Т.84, № 4. - С.363 - 372.
41. О роли блуждающих нервов в антиаритмическом эффекте DAGO при острой ишемии миокарда / С.Д. Михайлова, Г.И. Сторажилов, Н.А. Бебякова, Т.М. Семушкина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. - 1997. - Т.124, № 10. - С.377 - 379.
42. Об участии энкефалинов в регуляторной направленности вагусного влияния на сердечный ритм кошек в условиях залпового раздражения блуждающего нерва / В.М. Покровский, И.Л. Чередник, О.Е. Осадчий, А.Н. Курзанов // Рос. физиол. журн. - 1996. - № 4. - С.108 - 114.
43. Орлов В.Н. Руководство по электрокардиографии / В.Н. Орлов. - М: Медицина, 1983. - 528 с.
44. Основы физиологии человека. Учебник для высших учебных заведений: В 2 т. / Под ред. Б.И. Ткаченко. - СПб., 1994. - Т.1. - 567 с.
45. Палеев Н.Р. Нарушения ритма сердца / Н.Р. Палеев, Л.И. Ковалева // Вестн. Рос. АМН. - 1992. - № 11/12. - С.44 -47.
46. Поротиков В.И. Современные представления об ионных механизмах аритмий сердца и возможных механизмах действия сердечных антиаритмиков / В.И. Поротиков, А.В. Лазарев, Г.А. Глезер // Успехи физиол. наук. - 1984. - Т.15, № 3. - С.42 - 63.

47. Реброва Т.Ю. Вклад μ - и δ -опиатных рецепторов в регуляцию перекисного окисления липидов в условиях свободнорадикального окисления сердца: Автореф. дис... канд. мед. наук. – Томск, 2001. – 20 с.
48. Розенштраух Л.В. Роль блуждающих нервов в развитии суправентрикулярных аритмий / Л.В. Розенштраух, А.В. Зайцев // Кардиология. – 1994. – Т.34, № 4. – С.47 – 53.
49. Роль δ -опиатных рецепторов в механизме развития ишемических аритмий сердца / С.Д. Михайлова, Н.А. Бебякова, Г.И. Сторажилов, Т.М. Семушкина // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1999. – Т.127, № 2. – С.164 – 166.
50. Роль симпатической нервной системы в протективном эффекте селективного агониста κ -опиатных рецепторов динорфина A_{1-13} на частоту развития сердечных аритмий при ишемии миокарда / С.Д. Михайлова, Т.В. Васильева, Т.М. Семушкина, Г.И. Сторажилов // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 2000. – Т.129, № 6. – С.34 – 36.
51. Роль периферических и центральных μ -опиатных рецепторов в модуляции адренергического повреждения при стрессе / Н.В. Нарыжная, Л.Н. Маслов, Ю.Г. Ревинская, Ю.Б. Лишманов // Рос. физиол. журн. – 1998. – Вып.84, № 8. – С.791 – 797.
52. Роль эндогенных опиоидных пептидов в механизмах антиаритмического эффекта адаптации / Ю.Б. Лишманов, Л.Н. Маслов, А.В. Крылатов, Е.В. Ускина // Рос. физиол. журн. – 1996. – Т.82, № 5 – 6. – С.48 – 51.
53. Сакс В.А. Фосфокреатиновый путь внутриклеточного транспорта энергии: современное состояние исследований / В.А. Сакс // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М: Наука, 1989. – С.11 – 17.
54. Синг С.Н. Внезапная смерть и аритмии, осложняющие течение сердечной недостаточности. Международное руководство по

- сердечной недостаточности / С.Н. Синг. – М: Медиа Сфера, 1995. – С.57 – 64.
55. Ситдиков Ф.Г. Изменение показателей сердечной деятельности у крыс при внутривенном введении лей-энкефалина на фоне блокады симпатической и парасимпатической систем / Ф.Г. Ситдиков, Т.Г. Макаренко // Бюл. эксперим. биологии и медицины. – 1998. – № 6. – С.623 –625.
56. Сперелакис Н. Медленный потенциал действия и свойства медленных каналов миокардиальных клеток / Н. Сперелакис // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т./ Под ред. Н. Сперелакиса. – М.: Медицина, 1990. – Т.1. – С.241 –295.
57. Сперелакис Н. Электрические характеристики клеток в покое и поддержание распределения ионов / Н. Сперелакис // Физиология и патофизиология сердца: В 2 т. / Под ред. Н. Сперелакиса. – М.: Медицина, 1990. – Т.1. – С.90 –127.
58. Сыркин А.Л. Инфаркт миокарда / А.Л. Сыркин // М.: Медицинское информационное агентство, 1998. – 398 с.
59. Угдыжекова Д.С. Роль центральных и периферических опиатных рецепторов в регуляции естественной устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям: Автореф. дис... канд. биол. наук. – Томск, 1998. – 20 с.
60. Чазов Е.И. Руководство по кардиологии: В 3 т. / Е.И. Чазов. – М.: Медицина, 1982. – Т.3: Болезни сердца. – 624 с.
61. Эффективность экзогенного фосфокреатина при экспериментальном инфаркте миокарда / С.А. Крыжановский, Н.В. Каверина, М.Б. Вититнова и др. // Фосфокреатин: биохимическое и фармакологическое действие и клиническое применение. – М.: Наука, 1989. – С.174 – 202.
62. A comparison between the effect of BMS 180448, a novel K⁺ channel opener, and cromocalim in rat and dog / A.J.

- D'Alonzo, R.B. Darbenzio, J.C. Sewter et al. // Eur. J. Pharmacol. - 1995. - Vol.294. - P.271 - 280.
63. A family of sulfonylurea receptors determines the pharmacological properties of ATP-sensitive K⁺ channels / N. Inagaki, T. Gono, J. Clement et al. // Neuron. - 1996. - Vol.16. - P.1011 - 1017.
64. A role for nitric oxide in myocardial ischemic preconditioning / J.C. Hartman, H. Houshyar, S.C. Leva, T.M. Wall // Circulation. - 1995. - Vol.92, Suppl.1. - P.716.
65. α_1 adrenoreceptor activation mediates the infarct size-limiting effect of ischemic preconditioning through augmentation of 5'-nucleotidase activity / M. Kitakaze, S. Takashima, T. Morioka et al. // J. Clin. Invest. - 1994. - Vol.93. - P.2197 - 2205.
66. Allesie M.A. Atrial arrhythmias: basic concepts / M.A. Allesie, F.I.M. Bonke / Ed. by W. Mandel. - Philadelphia, Toronto, 1980. - P.145 - 166.
67. Antagonism of gut, but not central effects of morphine with quaternary narcotic antagonists / J. Russel, P. Bass, L.I. Goldberg et al. // Eur. J. Pharmacol. - 1982. - Vol.78. - P.255 - 261.
68. Antyarrhythmic action of the ATP-regulated K⁺ current activated by pinacidil / W. Spinelli, S. Sorota, M. Siegal et al. // Circ. Res. - 1991. - Vol.68. - P.1127 - 1137.
69. Aschraft F.M. Correlating structure and function in ATP-sensitive K⁺ channel / F.M. Aschraft, F.M. Gribble // Trends Neurosci. - 1998. - Vol. 21. - P.299 - 294.
70. Aschraft F.M. ATP-sensitive K⁺ channels in rat pancreatic β -cells: modulation by ATP and Mg⁺² ions / F.M. Aschraft, M.K. Kakei // J. Physiol. - 1989. - Vol.416. - P.349 - 367

71. ATP-regulated K^+ channels are modulated by intracellular H^+ in guinea-pig ventricular cells / T. Koyango, M. Kakei, H. Nakashima et al. // J. Physiol. - 1993. - Vol.463. - P.747 - 766.
72. ATP-sensitive K^+ channels in pancreatic, cardiac and vascular smooth muscle cells / H. Yokoshiki, M. Sunagawa, T. Seki et al. // Am. J. Physiol. - 1998. - Vol.274, №43. - P.25 - 37.
73. ATP-sensitive K^+ channels in the mitochondrial inner membrane / I. Inoue, H. Nagase, K. Kishi et al. // Nature. - 1991. - Vol.377. - P.244 - 247.
74. ATP-sensitive K^+ channel that are blocked by hypoglycemia-inducing sylfonylureas in insulin-secreting cells are activated by galanin, a hypoglycemia-inducing hormone / J. De Weille, H. Schmid-Antomarchi, M. Fosset et al. // Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 1988. - Vol.85. - P.1312 - 1316.
75. ATP-sensitive potassium channels are modulated by intracellular lactate in rabbit ventricular myocytes / J. Han, I. So, E.Y. Kim, Y.E. Earm // Pflugers Arch. - 1993. - Vol.425. - P.546 - 548.
76. Atwal K.S. Treatment of myocardial ischemia with ATP-sensitive potassium channel (K_{ATP}) openers / K.S. Atwal, G.J. Grover // Current Pharmaseutical Design. - 1996. - Vol.2. - P.585 - 595.
77. Baroreflex-mediated bradycardia is blunted by intravenous mu- but not kappa-opioid agonists / A.T. Omoniyi, D. Wu, Y. Soong, H.H. Szeto // J. Cardiovasc. Pharmacol. - 1998. - Vol.31. - P.954 - 959.
78. Bioenergetic consequences of opening the ATP-sensitive K^+ channel of heart mitochondria / A.J. Kowaltowski, S.

- Seetharaman, P. Paucek et al. // Am. J. Physiol. - 2001. - Vol.280. - P.H649 - H657.
79. Boraso A. Why is reduced heart rate beneficial? / A. Boraso // Dialogues in Cardiovasc Medicine. - 2001. - Vol. 6. - P.19 - 24.
80. Borchard U. Ion channels and arrhythmias / U. Borchard, D. Hafner // Z. Kardiol. - 2000. - Vol.89, Suppl.3. - P.6 - 12.
81. Caffrey J.L. The interactions of endogenous opiates with autonomic circulatory control in the dog / J.L. Caffrey, C.B. Wooldridge, J.F. Gaugl // Circulatory Shock. - 1985. - Vol.17, № 3. - P.233 - 242.
82. Ca²⁺-activated K⁺ conductance in internally perfused mail neurons is enhanced by protein phosphorylation / J.E. De Peyer, A.B. Cachelin, J.B. Levitan, U. Renter // Proc. Natl. Acad. Sci USA. - 1982. - Vol.79, № 13. - P.4207 - 4211.
83. Cardiac stress protein elevation 24 hours after brief ischemia of heat stress is associated with resistance to myocardial infarction / M.S. Marber, D.S. Latchman, J.M. Walker, D.M. Yellon // Circulation. - 1993. - Vol.88. - P.1264 - 1272.
84. Cardioprotection by ischemic preconditioning preserves mitochondrial function and functional coupling between adenine nucleotide translocase and creatine kinase / M.N. Laclau, S. Bouding, J.B. Thambo et al. // J. Mol. Cell. Cardiol. - 2001. - Vol.33. - P.947 - 956.
85. Cardioprotective effect of diazoxide and its interaction with mitochondrial ATP-sensitive K⁺ channels: possible mechanism of cardioprotection / K.D. Garlid, P. Pausek, V. Yarov-Yarovoy et al. // Circ. Res. - 1997. - Vol.81. - P.1072 - 1082.

86. Carlsson L. Antiarrhythmic effects of potassium channel in rhythm abnormalities related to delayed repolarisation / L. Carlsson, C. Abrahamsson, L. Drews // *Circulation*. - 1992. - Vol.85. - P.1491 - 1500.
87. Carmeliet E. Cardiac ionic currents and acute ischemia: from channels to arrhythmias / E. Carmeliet // *Physiol. Rev.* - 1999. - Vol.79, № 3. - P.917 - 1017.
88. Carroll R. Delayed cardioprotection in a human cardiomyocyte-derived cell line: the role of adenosine, p38MAP kinase and mitochondrial K_{ATP} / R. Carroll, D.M. Yellon // *Basic. Res. Cardiol.* - 2000. - Vol.95. - P.243 - 249.
89. Cohen P. The role of cAMP-dependent protein kinase in the regulation of glycogen metabolism in mammalian skeletal muscle / P. Cohen // *Current Topics in Cellular Regulation* / Ed. by B.L. Horecker, E.R.N.Y. Stadtman. - L.: Academ Press, 1978. - Vol.14. - P.208 - 232.
90. Cole W.C. ATP-regulated K^+ channels protect the myocardium against ischemia/reperfusion damage / W.C. Cole, C.D. McPherson, D. Sontag // *Circ. Res.* - 1991. - Vol.69. - P.571 - 581.
91. Coop A. Role of δ -opioid receptors in biological processes / A. Coop, K.C. Rice // *Drug. News Perspect.* - 2000. - Vol.13. - P.481 - 487.
92. Crestanello J.A. Opening of potassium channel protects mitochondrial function from calcium overload / J.A. Crestanello, N.M. Doliba, A.M. Babsky // *J. Surg. Res.* - 2000. - Vol.94, № 2. - P.116 - 123.
93. 'Cross talk' between opioid peptide and adrenergic receptor signaling in isolated rat heart / S. Pepe, R.P. Xiao, C. Hohl et al. // *Circulation*. - 1997. - Vol.15. - P.2122 - 2129.

94. Currie R.W. Heat-shock response and limitation of tissue necrosis during occlusion/reperfusion in rabbit hearts / R.W. Currie, R.M. Tangauy, J.M. Kingma Jr. // Circulation. - 1993. - Vol.87. - P.963 - 971.
95. Curtis M.J. Endogenous chemical mediators of ventricular arrhythmias in ischemic heart disease / M.J. Curtis, M.K. Pugsley, M.J.A. Walker // Cardiovasc. Res. - 1993. - Vol.27, № 5. - P.703 - 719.
96. D'Alonzo A.J. Effects of intracoronary cromocalim on postischemic contractile function and monophasic action potential duration: possible mechanism of action and ischemia selectivity / A.J. D'Alonzo, R.B. Darbenzio, C.S. Parham // Cardiovasc. Res. - 1992. - Vol.26. - P.1046 - 1053.
97. Das D.K. Molecular adaptation of cellular defenses following preconditioning of the heart by repeated ischemia / D.K. Das, R.M. Engeiman, Y. Kimura // Cardiovasc. Res. - 1993. - Vol.27. - P.578 - 584.
98. Dauge V. Comparison of the behavioral effects induced by administration in rat nucleus accumbens or nucleus caudatus of selective μ - and δ -opioid peptides or ketorphan an inhibitor of enkephalin-degrading-enzymes / V. Dauge, P. Rossignol, B.P. Roques // Psychopharmacology. - 1988. - Vol.96. - P.343 - 352.
99. Delayed preconditioning with adenosine is mediated by opening of ATP-sensitive K^+ channels in rabbit heart / N.L. Bernardo, Sh. Okubo, M.M. Maaieh et al. // Am. J. Physiol. - 1999. - Vol.277, № 46. - P.H128 - H135.
100. Design and synthesis of conformationally constrained somatostatin analogues high potency and specificity for μ -opioid receptors / J.T. Pelton, W. Kazmierski, K. Gulya et al. // J. Med. Chem. - 1986. - Vol.29. - P.2370 - 2375.

101. Dispersion of the QT interval. A marker of therapeutic efficacy in the idiopathic long QT syndrome / S.G. Priory, C. Napolitano, L. Diehl, P.Z. Schwartz // Circulation. - 1994. - Vol.89, № 4. - P.1681 - 1689.
102. Dhawan B.N. International union of pharmacology. XII. Classification of opioid receptors / B.N. Dhawan, F. Cesselin, R. Raghbir et al. // Pharmacol. Rev. - 1996. - Vol.48, № 4. - P.567 - 592.
103. Duchen M.R. Mitochondria and Ca²⁺ in cell physiology and pathophysiology / M.R. Duchen // Cell. Calcium. - 2000. - Vol.28. - P.339 - 348.
104. Effect of the antiarrhythmic agent moricizine on survival after myocardial infarction (The Cardiac Arrhythmia Supression Trial II investigators) / W.J. Rogers, A.E. Epstein, J.G. Arciniegas et al. // Engl. J. Med. - 1992. - Vol.327. - P.227 - 233.
105. Effect of timing of treatment of the glyburide-reversible cardioprotective activity of BMS 180448 / A.W. Gommel, R.A. Roth, R.E. Swillo et al. // J.P.E.T. - 1997. - Vol.281. - P.24 - 33.
106. Effects of potassium on the action of the K_{ATP} modulators cromocalim, pinacidil or glibenklamide on arrhythmias in isolated perfused rat heart subjected to regional ischemia / A.J. D'Alonzo, R.B. Darbenzio, T.A. Hess et al. // Cardiovasc. Res. - 1994. - Vol.28. - P.881 - 887.
107. Effects of preconditioning on myocardial interstitial level of ATP and its catabolites during regional ischemia and reperfusion / A.I. Kuzmin, A.V. Gourine, A.I. Molosh et al. // Basic. Res. Cardiol. - 2000. - Vol.95. - P.127 - 136.
108. Ela C. Opioid effects on contractility, Ca²⁺-transients and intracellular pH in cultured cardiac myocytes / C. Ela, Y.

- Hasin, Y. Eilam // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1993. - Vol.26. - P.599 - 613.
109. Essential activation of PKC- δ in opioid-initiated cardioprotection / R.M. Fryer, Y. Wang, A.K. Hsu, G.J. Gross // Am. J. Physiol. - 2001. - Vol.280, № 3. - P.H1346 - H1353.
110. Evidence for differential opioid μ_1 - and μ_2 -receptor-mediated regulation of heart rate in the conscious rat / P. Paakkari, I. Paakkari, G. Feuerstein, A.L. Siren // Neuropharmacol. - 1992. - Vol.31, № 8. - P.777 - 827.
111. Evidence for involvement of opioid receptors in ischemic preconditioning in rat hearts / J.J. Schultz, E. Rose, Z. Yao, G.J. Gross // Am. J. Physiol. - 1995. - Vol.268. - P.H2157 - H2161.
112. Flow of injury current and patterns of excitation during early ventricular arrhythmias in acute regional myocardial ischemia in isolated porcine and canine hearts. Evidence for two different arrhythmogenic mechanisms / M.J. Janse, F.J.L. Van Capelle, H. Morsink et al. // Circ. Res. - 1980. - Vol.47. - P.151 - 165.
113. Foster J.P. The response of the pituitary gland to hypothalamic stimulation / J.P. Foster // Contr. Ovul. - London, 1978. - P.101 - 106.
114. Gacel G. D-Tyr-Ser-Gly-Phe-Leu-Thr, a highly preferential ligand for δ -opiate receptors / G. Gacel, M.C. Fournil-Zaluski, B.P. Roques // FEBS Letters. - 1980. - Vol.118, № 2. - P.245 - 247.
115. Gasser R.N.A. Mechanism of potassium efflux and action potential shortening during ischemia in isolated mammalian cardiac muscle / R.N.A. Gasser, R.D. Vaughan-Jones // J. Physiol. - 1990. - Vol.431. - P.713 - 741.

116. Genetic and molecular basis of cardiac arrhythmias: impact on clinical management. Part I and II / S.G. Priory, J. Barhanin, R.N.W. Hauer, W. Haverkamp // Circulation. - 1999. - Vol.99. - P.518 - 528.
117. Gintant G.A. Advances in cardiac cellular electrophysiology: Implications for automaticity and therapeutics / G.A. Gintant // Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol. - 1988. - Vol.28. - P.61 - 81.
118. Gogelein H. Effects of novel cardioprotective K_{ATP} channel blocker HMR 1883 on K_{ATP} channels in guinea pig hearts and on rat pancreatic β -cells / H. Gogelein, H.C. Englert, B.A. Schokens // Br. J. Pharmacol. - 1998. - Vol.124. - P.23.
119. Goldfrain T. Enzymatic control of the heart potential / T. Goldfrain // Progr. Pharmacol. - 1979. - Vol.2, № 1. - P.107.
120. Gross G.J. The role of mitochondrial K_{ATP} channels in cardioprotection / G.J. Gross // Basic. Res. Cardiol. - 2000. - Vol.95. - P.280 - 284.
121. Gross G.J. Blockade of ATP-sensitive potassium channels prevents myocardial preconditioning in dogs / G.J. Gross, J.A. Auchampach // Circ. Res. - 1992. - Vol.70. - P.223 - 233.
122. Gross G.J. Sarcolemmal versus mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels and myocardial preconditioning / G.J. Gross, R.M. Fryer // Circ. Res. - 1999. - Vol.84. - P.973 - 979.
123. Grover G.J. Protective effects of ATP-sensitive potassium channel openers in experimental myocardial ischemia / G.J. Grover // J. Cardiovasc. Pharmacol. - 1994. - Vol. 24, Suppl. 4. - P.S18 - S27.
124. Grover G.J. ATP-sensitive potassium channels: a review of their cardioprotective pharmacology / G.J. Grover, K.D.

- Garlid // J. Mol. Cell. Cardiol. - 2000. - Vol.32. - P.677 - 695.
125. Hamada K. Shortening of action potential duration is not a prerequisite for cardiac protection by ischemic preconditioning or K_{ATP} channel opener / K. Hamada, J. Yamazaki, T. Nagao // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1998. - Vol.30. - P.1369 - 1379.
126. Heat-shock protein induction in rat hearts: A direct correlation between the amount of heat-shock protein induced and the degree of myocardial protection / M.W. Hutter, R.E. Sievers, V. Barbosa, C.L. Wolfe // Circulation. - 1994. - Vol.89. - P.355 - 360.
127. Holmuhamedov E.L. ATP-sensitive K^+ channel openers prevent Ca^{++} overload in rat cardiac mitochondria / E.L. Holmuhamedov, L. Wang, A. Terzic // J. Physiol. - 1999. - Vol.519, № 2. - P.347 - 360.
128. Hyperpolarizing vasodilators activate ATP-sensitive K^+ channels in arterial smooth muscle / N.B. Standen, J.M. Quayle, N.W. Davies et al. // Science. - 1989. - Vol.245. - P.177 - 180.
129. ICI 174,864: a highly selective antagonist for the opioid δ -receptor / R. Cotton, M.G. Giles, J.S. Show, D. Timmas // Eur. J. Pharmacol. - 1984. - Vol.97. - P.331 - 332.
130. Illes P. Sympathoinhibitory opioid receptors in the cardiovascular system / P. Illes, R. Bettermann, D. Ramme // Brain Peptides and Catecholamines in Cardiovascular Regulation. - New York: Raven Press, 1987. - Vol.4. - P.169-184.
131. Induction of manganese superoxide dismutase in rat cardiac myocytes increases tolerance to hypoxia 24 hours after

- praconditioning / N. Yamashita, M. Nishide, S. Hoshida et al.
// J. Clin. Invest. - 1994. - Vol.94. - P.2193 - 2199.
132. Inhibition of [³H]-U69593 binding and the cardiac effects of U50,488H by calcium channel blockers in the rat heart / W.M. Zhang, H.X. Wang, Q. Xia, T.M. Wong // Br. J. Pharmacol. - 1997. - Vol.120. - P.827 - 832.
133. Inositol 1,4,5-trisphosphate-induced Ca²⁺ release is inhibited by mitochondrial depolarization / T.J. Collins, P. Lipp, M.J. Berridge et al. // Biochem. J. - 2000. - Vol.347. - P.593 - 600.
134. Intra-atrial re-entry as a mechanism for atrial flutter induced by acetylcholine and rapid pacing in the dog / M.A. Allesie, W.Y.E.P. Lammers, F.I.M. Bonke et al. // Circulation. - 1984. - Vol.70, № 1. - P.123 - 135.
135. Ischemia-selectivity confers efficacy for suppression of ischemia-induced arrhythmias in rats / T.D. Barrett, E.S. Hayes, S.L. Yong et al. // Eur. J. Pharmacol. - 2000. - Vol.398. - P.365 - 374.
136. Ischaemic preconditioning delays ischaemia induced cellular electrical uncoupling in rabbit myocardium by activation of ATP-sensitive potassium channels / H. Tan, P. Mazon, H. Verberne et al. // Cardiovasc. Res. - 1993. - Vol.27. - P.644 - 651.
137. Ischemic preconditioning in rats: role of mitochondrial K_{ATP}-channel in preservation of mitochondrial function / R.M. Fryer, J.T. Eells, A.K. Hsu et al. // Am. J. Physiol. - 2000. - Vol.278. - P.H305 - H312.
138. Ischemic preconditioning slows energy metabolism and delays ultrastructural damage during a sustained ischemic episode / C.E. Murry, V.J. Richard, K.A. Reimer, R.B. Jennings // Circ. Res. - 1990. - Vol.66. - P.913 - 931.

139. Iversen L. Function and distribution of peptides in the nervous system / L. Iversen // Biochem. Soc. Trans. - 1985. - Vol.13, № 1. - P.35 - 37.
140. Jaffe J.H. Opioid analgesics and antagonists / J.N. Jaffe, W.R. Martin // The Pharmacological Basis of Therapeutics: 8 ed. / Ed. by A.G. Gilman, T.W. Rall, A.S. Nies, P. Taylor. - New York: Pergamon Press, 1990. - Chapter 21. - P.485-521.
141. κ and δ opioid receptor stimulation affects cardiac myocyte function and Ca^{2+} release from an intracellular pool in myocytes and neurons / C. Ventura, H.A. Spurgeon, E.G. Lakatta et al. // Circ. Res. - 1992. - Vol.70. - P.66 - 81.
142. K_{ATP} channels in rat heart: Blockade of ischemic and acetylcholine-mediated preconditioning by glibenclamide / Y.Z. Qian, J.E. Levasseuer, K.I. Yoshida et al. // Am. J. Physiol. - 1996. - Vol.271. - P.H23 - H28.
143. Keung E.C. Lactate activates ATP-sensitive potassium channels in guinea pig ventricular myocytes / E.C. Keung, L. Qian // J. Clin. Invest. - 1991. - Vol.88. - P.1772 - 1777.
144. Kim D. Potassium channels in cardiac cells activated by arachidonic acid and phospholipids / D. Kim, D. Clapham // Science. - 1989. - Vol.244. - P.1174 - 1176.
145. Lederer W.J. ADP and GDP modulate the ATP-sensitivity of K_{ATP} -channels in isolated rat ventricular cell membrane / W.J. Lederer, C.G. Nichols // J. Physiol. - 1989. - Vol.415. - P.4059.
146. Hale S.L. Left ventricular topographic alterations in the completely healed rat infarct caused by early and late coronary artery reperfusion / S.L. Hale, R.A. Kloner // Am. Heart J. - 1988. - Vol.116. - P.1508 - 1513.
147. Li Y. The transient nature of the effect of ischemic preconditioning on myocardial infarct size and ventricular

- arrhythmias / Y. Li, P. Whittacer, R.A. Kloner // Am. Heart J. - 1992. - Vol.123. - P.346 - 353.
148. Liang B.T. Direct preconditioning of cardiac myocytes via opioid receptors and K_{ATP} channels / B.T. Liang, G.J. Gross // Circ. Res. - 1999. - Vol.84. - P.396-400.
149. Lown B. Psychophysiologic factors in sudden cardiac death / B. Lown, R. DeSilva, P. Reich // Am. J. Psuchiatr. - 1980. - Vol.137, № 11. - P.1325 - 1335.
150. Maslov L.N. The antiarrhythmic effect of D-Ala², Leu⁵, Arg⁶-encephalin and its possible mechanism / L.N. Maslov, Yu. B. Lishmanov // Int. J. Cardiology. - 1993. - Vol.40. - P.89 - 94.
151. Mechanismes electrophysiologiques des arythmies ventriculaires de l'infarct du myocarde / G. Motte, S. Dinanian, C. Sebag et al. // Arch. Mal. Coeur. Vaiss. - 1994. - Vol.87, № 1. - P.55 - 60.
152. Mei D.A. K_{ATP} channels mediate late preconditioning against infarction produced by monophosphoryl lipid A / D.A. Mei, G.T. Elliot, G.J. Gross // Am. J. Physiol. - 1996. - Vol.271. - P.H2723 - H2729.
153. Mitochondrial ATP-dependent potassium channels: novel effectors of cardioprotection? / Y. Liu, T. Sato, B. O'Rourke, E. Marban // Circulation. - 1998. - Vol.97. - P.2463 - 2469.
154. Mitochondrial ATP-sensitive K^+ channels modulate cardiac mitochondrial function / E.L. Holmuhamedov, S. Jovanovic, P.P. Dzeja et al. // Am. J. Physiol. - 1998. - Vol.275. - P.H1567 - H1576.
155. Mitochondrial calcium transport: physiological and pathological relevance / T.E. Gunter, K.K. Gunter, S.S. Shen et al. // Am. J. Physiol. - 1994. - Vol.36. - P.313 - 339.

156. Murry C.E. Preconditioning with ischemia: A delay of lethal cell injury in ischemic myocardium / C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer // *Circulation*. - 1986. - Vol.75. - P.1124 - 1136.
157. Myocardial creatine kinase kinetics in hearts with postinfarction left ventricular remodeling / Y. Murikami, J. Zhang, M.H.J. Eijgelshoven et al. // *Am. J. Physiol.* - 1999. - Vol.276. - P.H892 - H900.
158. Myocardial preconditioning: basic concepts and potential mechanisms / S. Okubo, L. Xi, N.L. Bernardo et al. // *Mol. Cell. Biochem.* - 1999. - Vol.96. - P.3 - 12.
159. μ and δ receptors belong to a family of receptors that are coupled to potassium channels / R.A. North, J.T. Williams, A. Superenant, M.J. Christie // *Proc. Natl. Acad. Sci USA*. - 1987. - Vol.84. - P.5487 - 5491.
160. Naloxone-insensitive inhibition of acetylcholine release from parasympathetic nerves innervating guinea-pig trachea by the novel opioid, nociceptin / H.J. Patel, M.A. Giembycz, L. Spicuzza et al. // *Br. J. Pharmacol.* - 1997. - Vol.120. - P.735 - 736.
161. Nicorandil supresses early afterdepolarisation and ventricular arrhythmias induced by cesium chloride in rabbits in vivo / N. Takahashi, M. Ito, T. Saikawa et al. // *Cardiovasc. Res.* - 1991. - Vol.25. - P.445 - 452.
162. Noma A. ATP-regulated K^+ channels in cardiac muscle / A. Noma // *Nature*. - 1983. - Vol.305. - P.147 - 148.
163. Noma A. Membrane current through adenosine-triphosphate-regulated potassium channels in guinea-pig ventricular cells / A. Noma, T. Shibasaki // *J. Phusiol.* - 1985. - Vol.363. - P.463 - 480.

164. On the opioid receptor subtype inhibiting the evoked release of 3H-noradrenaline from guinea-pig atria in vitro. Naunyn-Schmiedeberg's / H. Fuder, M. Buder, H.D. Riers, G. Rothacher // Arch. Pharmacol. - 1986. - Vol.332, № 2. - P.148 - 155.
165. Oacley C. Genesis of arrhythmias in the failing heart and therapeutic implicatins / C. Oacley // Amer. J. Cardiol. - 1991. - Vol.67. - P.26 - 28.
166. Opioid-induced cardioprotection against myocardial infarction and arrhythmias: mitochondrial versus sarcolemmal ATP-sensitive potassium channels / R.M. Fryer, A.K. Hsu, H. Nagase, G.J. Gross // J. Pharmac. Exp. Ther. - 2000. - Vol.294. - P.451 - 457.
167. Opioid-induced second window of cardioprotection: potential role of mitochondrial K_{ATP} channel / R.M. Fryer, A. Hsu, J.T. Eells et al. // Circ. Res. - 1999. - Vol.84. - P.846 - 851.
168. Opioid peptide receptor stimulation reverses beta-adrenergic effects in rat heart cells. Pt.2 / R.P. Xiao, S. Pepe, H.A. Spurgeon et al. // Am. J. Physiol. - 1997. - Vol.272. - P.797 - 805.
169. Opioid receptors in rat cardiac sarcolemma: effect of phenylephrine and isoproterenol / C. Ventura, L. Bastagli, P. Bernardi et al. // Biochim. Biophys. Acta. - 1989. - Vol.987, № 1. - P.69 - 74.
170. Opposing effects on infarction of delta and kappa opioid receptor activation in the isolated rat heart: implications for ischemic preconditioning / K.A. Aitchison, G.F. Baxter, M.M. Awan et al. // Bacis Res Cardiol. - 2000. - Vol.95. - P.1 - 10.

171. Pardridge W. Transport of nutrients and hormones through the blood-brain barrier / W. Pardridge // Diabetologia. - 1981. - Vol.20, № 3. - P.246 - 254.
172. Pertussis toxin, but not tyrosine kinase inhibitors, abolishes effects of U-50,488H on $[Ca^{2+}]_i$ in myocytes / J.Z. Sheng, N.S. Wong, H.X. Wang, T.M. Wong // Am. J. Physiol. - 1997. - Vol.272. - P.560 - 564.
173. Podzuweit T. Catecholamine-cyclic-AMP- Ca^{2+} -induced ventricular tachycardia in the intact pig heart / T. Podzuweit // Basic. Res. Cardiol. - 1980. - Vol.75. - P.772 - 779.
174. Podzuweit T. Catecholamine-cyclic-AMP- Ca^{2+} -induces arrhythmias in the healthy pig heart / T. Podzuweit, G.C. Louw, B.C. Shanley // Advances in Myocardiology. - Baltimore, 1980. - Vol.2. - P.133 - 143.
175. Pogwisd S.M. The contribution of nonreentrant mechanisms to malignant ventricular arrhythmias / S.M. Pogwisd, B. Corr // Basic. Res. Cardiol. - 1992. - Vol. 87, Suppl.2. - P.115 - 129.
176. Potassium accumulation in the globally ischemic mammalian heart: A role for the ATP-sensitive potassium channel / A.A.M. Wilde, D. Escande, C.A. Schumacher et al. // Circ. Res. - 1990. - Vol.67. - P.835 - 843.
177. Preconditioning of isolated rat heart is mediated by protein kinase C / M.B. Mitchell, X. Meng, L. Ao et al. // Circ. Res. - 1995. - Vol.76. - P.73 - 81.
178. Preconditioning protects human cardiac myocytes from ischemic injury / J.S. Ikonomidis, L.S. Tumiati, R.D. Weisel, D.A.G. Mickle // Cardiovasc. Res. - 1994. - Vol.28. - P.1285 - 1291.

179. Priming effects of adenosine on K_{ATP} currents in intact ventricular myocytes: implications for preconditioning / Y. Liu, W.D. Gao, B. O'Rourke, E. Marban // Am. J. Physiol. - 1997. - Vol.273. - № 4. - P.H1637 - H1643.
180. Protection against infarction afforded by preconditioning is mediated by A_1 adonisine receptors in rabbit heart / G.S. Liu, J. Thornton, D.M. Van Winkle et al. // Circulation. - 1991. - Vol.84. - P.350 - 356.
181. Protection of cardiac myocytes via δ_1 -opioid receptors, protein kinase C and mitochondrial K_{ATP} channel / J. Huh, G.J. Gross, H. Nagase, B.T. Liang // Am. J. Physiol. - 2001. - Vol.280, № 1. - P.H377 - H383.
182. Qian W. Unidirectional block and reentry of cardiac excitation: a model study / W. Qian, Y. Rudy // Circ. Res. - 1990. - Vol.66, № 2. - P.367 - 382.
183. Rabkin S.W. Dynorphin A (1-13) in the brain suppresses epinephrine-induced ventricular premature complexes and venticular tachyarrhythmias / S.W. Rabkin // Regulatory Peptides. - 1992. - Vol.41. - P.95-107.
184. Rabkin S.W. Effect of DAGO on epinephrine-induced arrhythmias in the rat and the interrelationship to the parasympathetic nervous system / S.W. Rabkin // Life Science. - 1989. - Vol.45. - P.1039 - 1047.
185. Rabkin S.W. Morphine and morphiceptine increase the threshold of epinephrine-induced cardiac arrhythmias in the rat through brain mu opioid receptors / S.W. Rabkin // Clin. Experim. Pharmacol. Physiol. - 1993. - Vol.20. - P.95 - 102.
186. Reconstitution of the mitochondrial ATP-dependent potassium channel into bilayer lipid membrane / G.D. Mironova, Yu.Yu. Skraga, S.M. Grigoriev et al. // J. Bioenergetics Biomembranes. - 1999. - Vol.31, № 2. - P.159 - 163.

187. Re-entry as cause of ventricular tachycardia in patients with chronic ischemic heart disease: electrophysiologic and anatomic correlation / J.M.T. De Bakker, F.J.J. van Capelle, M.J. Janse et al. // *Circulation*. - 1988. - Vol.77, № 3. - P.589 - 606.
188. Remme C.A. K_{ATP} channel openers, myocardial ischemia and arrhythmias - should the electrophysiologist worry? / C.A. Remme, A.A.M. Wilde // *Cardiovasc. Drug and Ther.* - 2000. - Vol.14. - P.17 - 22.
189. Role of bradykinin in protection of ischemic preconditioning in rabbit hearts / M. Goto, Y. Liu, X.M. Yang et al. // *Circ. Res.* - 1995. - Vol.77. - P.611 - 621.
190. Ross E. Mechanism of action of catecholamines: biochemical basis of the regulation of catecholamine-stimulated adenylate cyclase / E. Ross // *The Biochemical Regulation of Blood Pressure* / Ed. by R.L. Soffer, N.Y. Wiley. - London, 1981. - P.301 - 318.
191. Saint D.A. Kappa opioid receptor agonists as antiarrhythmic agents / D.A. Saint // *Proc. Austral. Physiol. Pharmacol. Soc.* - 1995. - Vol.26, № 1. - P.35.
192. Sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} loading in rabbits 8 and 15 weeks after coronary artery ligation / M.A. Denvir, N.G. MacFarlane, S.M. Cobbe et al. // *Pflugers Arch.* - 1998. - Vol.436. - P.436 - 442.
193. Sato T. The role of mitochondrial K_{ATP} channels in cardioprotection / T. Sato, E. Marban // *Basic Res. Cardiol.* - 2000. - Vol.95. - P.285 - 289.
194. Sato T. Modulation of mitochondrial ATP-dependent K^+ channels by protein kinase C / T. Sato, B. O'Rourke, E. Marban // *Circ. Res.* - 1998. - Vol.83. - P.110 - 114.

195. Schultz J.J. Ischemic preconditioning in the intact rat heart is mediated by δ_1 - but not μ - or κ -opioid receptors / J.J. Schultz, A. Hsu, G.J. Gross // Circulation. - 1998. - Vol.97. - P.1282 - 1289.
196. Schultz J.J. Morphine mimics the cardioprotective effect of ischemic preconditioning via a glibenclamide-sensitive mechanism in the rat heart / J.J. Schultz, A.K. Hsu, G.J. Gross // Circ. Res. - 1996. - Vol.78. - P.1100 - 1104.
197. Seipel L. Inotropic and haemodynamic effects of d- and d,l-sotalol: comparison with other antiarrhythmics / L. Seipel, H.M. Hoffmeister // Eur. Heart J. - 1993. - Vol.14. - P.36 - 40.
198. Selective pharmacological agents implicates mitochondrial but not sarcolemmal K_{ATP} channel in ischemic cardioprotection / T. Sato, N. Sasaki, J. Seharaseyon et al. // Circulation. - 2000. - Vol.101. - P.2418 - 2423.
199. Shigematsu S. Anoxia-induced activation of ATP-sensitive K^+ channels in guinea pig ventricular cells and its modulation by glycolysis / S. Shigematsu, M. Arita // Cardiovasc. Res. - 1997. - Vol.37. - P.273 - 282.
200. Shiller P.W. Peripheral antinociceptive effect of an extremely μ -selective polar dermorphin analog (DALDA) / P.W. Shiller, T.M.D. Nguyen, N.N. Chung // The International Narcotics Research Conference'89. - NY,1990. - P.53 - 55.
201. Shiller P.W. Two new families of opioid peptide analogs displaying extraordinary μ -receptor selectivity and preference for either peripheral or central sites / P.W. Shiller, T.M.D. Nguyen, C. Lemieux // Advances in the Biosciences. - London: Pergamon Press, 1989. - Vol.75. - P.567 - 592.

202. Speechly-Dick M.E. Protein kinase C. Its role in ischemic preconditioning in the rat / M.E. Speechly-Dick, M.M. Mocanu, D.M. Yellon // *Circ. Res.* - 1994. - Vol.75. - P.586 - 590.
203. Spruce A.E. Voltage-dependent ATP-sensitive potassium channels of skeletal muscle membrane / A.E. Spruce, N.B. Standen, P.R. Stanfield // *Nature.* - 1985. - Vol.316. - P.736 - 738.
204. Suppression of reperfusion arrhythmias by preconditioning is inhibited by ATP-sensitive potassium blocker, 5-hydroxydecanoate, but not protein kinase C blocker in the rat / H. Kita, T. Miura, A. Tsuchida et al. // *Cardiovasc. Pharmacol.* - 1998. - Vol.32. - P.791 - 797.
205. Survival with oral d-sotalol in patients with left ventricular dysfunction after myocardial infarction: rationale design, and methods (the SWORD trial) / A.L. Waldo, A.J. Camm, H. de Ruyter et al. // *Am. J. Cardiol.* - 1995. - Vol.75. - P.1023 - 1027.
206. Synergistic modulation of ATP-sensitive K^+ currents by protein kinase C and adenosine implications for ischemic preconditioning / Y. Liu, W.D. Gao, B. O'Rourke, E. Marban // *Circ. Res.* - 1996. - Vol.78. - P.443 - 454.
207. Szewchyk A. Mitochondria: a new target for K^+ channel openers? / A. Szewchyk, E. Marban // *TIPS.* - 1999. - Vol.20. - P.157 - 161.
208. TAN-67, a δ_1 -opioid receptor agonist, reduces infarct size via activation of $G_{i/o}$ proteins and K_{ATP} channels / J.E.J. Schultz, A.K. Hsu, H. Nagase et al. // *Am. J. Physiol.* - 1998. - Vol.274, № 43. - P.H909 - H914.
209. Time dependent window for the contribution of the δ -opioid receptor to cardioprotection by ischemic preconditioning in

- the rat heart / A. Tsuchida, T. Miura, M. Tanno et al. // Cardiovascul. Drugs and Therapy. - 1998. - Vol.2. - P.365 - 373.
210. Toombs C.F. Limitation of infarct size in rabbit by ischemic preconditioning is reversible with glibenclamide / C.F. Toombs, T.L. Moore, R.J. Shebuski // Cardiovasc. Res. - 1993. - Vol.27. - P.617 - 622.
211. Traynor J.R. Delta-opioid receptor subtypes and cross-talk with mu-receptor / J.R. Traynor, J. Elliot // Trends Pharmacol. Sci. - 1993. - Vol.14. - P.84 - 85.
212. Treherne J.M. The regional distribution of sulfonylurea binding sites in rat brain / J.M. Treherne, M.L.J. Ashford // Neuroscience. - 1991. - Vol.40. - P.523 - 531.
213. Tsien R.W. Effects of epinephrine on the pacemaker potassium current of cardiac Purkinje fibers. The mode of action of chronotropic agent in cardiac Purkinje fibers / R.W. Tsien // J. Gen. Physiol. - 1974. - Vol.64, № 3. - P.293 - 342.
214. Tsuchida A. Role of α_1 -receptor and proteinkinase C in infarct size limitation by ischemic preconditioning in the rat heart / A. Tsuchida, T. Miura, T. Miki // Circulation. - 1994. - Vol.90. - P.647.
215. The effect of K_{ATP} channel activation on myocardial cationic and energetic status during ischemia and reperfusion: role in cardioprotection / H. Fukida, C.S. Luo, X. Gu et al. // J. Mol. Cell. Cardiol. - 2001. - Vol.33. - P.545 - 560.
216. The ischemia-selective K_{ATP} -channel antagonist, 5-hydroxydecanoate, blocks ischemic preconditioning in the rat heart / J.E. Schultz, Y.Z. Qian, G.J. Gross, R.C. Kukreja // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1997. - Vol.29. - P.1055 - 1060.

217. The K_{ATP} channel blocker HMR 1883 does not abolish the benefit of ischemic preconditioning in myocardial infarct mass in anesthetized rabbits / O. Jung, H.C. Englert, W. Jung et al. // Naunyn-Schmiedeberg's Arch Pharmacol. - 2000. - Vol.361. - P.445 - 451.
218. The mitochondrial K_{ATP} channel as a receptor for potassium channel openers / K.D. Garlid, P. Pausek, V. Yarov-Yarovoy et al. // J. Biol. Chem. - 1996. - Vol.271, № 15. - P.8796 - 8799.
219. The time limit of effective ischemic preconditioning in dogs / B.S. Nao, T.B. McClanahan, M.A. Groh, R.J. Schott // Circulation. - 1990. - Vol.82. - P.271.
220. Ventricular arrhythmias and electrophysiological consequences of myocardial ischemia and infarction / R. Lazzara, N. El-Sherif, R.R. Hope, B.J. Scherlag // Circ. Res. - 1978. - Vol.42. - P.740 - 749.
221. Ventura C. Leucineenkephalin increases the level of inositol (1,4,5) triphosphate and releases calcium from an intracellular pool in rat ventricular cardiac myocytes / C. Ventura, E.G. Lokatta, A. Sisini // Boll. Soc. Ital. Biol. Sper. - 1991. - Vol.67, № 3. - P.261 - 266.
222. Wilde A.A.M. Role of ATP-sensitive K^+ channel current in ischemic arrhythmias / A.A.M. Wilde // Cardiovasc. Drugs and Therapy. - 1993. - Vol.7. - P.521 - 526.
223. Wit A.L. Pathophysiologic mechanisms of cardiac arrhythmias / A.L. Wit, M.R. Rosen // Am. Heart J. - 1983. - Vol.106, № 4. - P.798 - 811.
224. Wooleben C.D. Influence of ATP-sensitive potassium modulators on ischemia-induced fibrillation in isolated rat heart / C.D. Wooleben, M.C. Sanguinetti, P.K.S. Siegl // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1989. - Vol.21. - P.783 - 788.

225. Yao Z. Effects of the K_{ATP} channel opener bimakalim on coronary blood flow, monophasic action potential duration and infarct size in dogs / Z. Yao, G.J. Gross // Circulation. - 1994. - Vol.89. - P.1768 - 1775.
226. Zhang W.M. Multiplicity of kappa opioid receptor binding in the rat cardiac sarcolemma / W.M. Zhang, W.Q. Jin, T.M. Wong // J. Mol. Cell. Cardiol. - 1996. - Vol.28. - P.1547 - 1554.