

Миронов Андрей Владимирович, младший научный сотрудник лаборатории клеточных технологий отдела экспериментальной и клинической кардиологии Федерального государственного бюджетного научного учреждения "Научно-исследовательский институт

комплексных проблем сердечно-сосудистых заболеваний".

Адрес: 650002, г. Кемерово, Сосновый бульвар, 6.

E-mail: miroav@kemcardio.ru.

УДК 616,12-008

УЧАСТИЕ ЭНДОГЕННЫХ АГОНИСТОВ ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ В ПОВЫШЕНИИ УСТОЙЧИВОСТИ СЕРДЦА К ПОВРЕЖДАЮЩЕМУ ДЕЙСТВИЮ РЕПЕРФУЗИИ

А.В. Мухомедзянов

Научно-исследовательский институт кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии

E-mail: sasha_m91@mail.ru

INVOLVEMENT OF ENDOGENOUS OPIOID RECEPTOR AGONISTS IN INCREASING CARDIAC RESISTANCE TO THE DAMAGING EFFECTS OF REPERFUSION

A.V. Mukhomedzyanov

Cardiology Research Institute, Tomsk National Research Medical Center, Russian Academy of Sciences

Установлено, что при внутривенном введении неселективный антагонист опиоидных рецепторов (ОР) налтрексон (5 мг/кг), а также селективный антагонист δ_1 -ОР BNTX (0,7 мг/кг), селективный блокатор δ_2 -ОР налтрибен (0,3 мг/кг), селективный антагонист κ -ОР нор-бинаторфимин (2 мг/кг) не влияют на реперфузионное повреждение сердца *in vivo*. Установлено, что селективный антагонист μ -ОР CTAP ограничивает размер инфаркта.

Ключевые слова: опиоидные рецепторы, опиоиды, сердце, реперфузия.

It was found that an intravenous administration of the nonselective of opioid receptor (OR) antagonists naltrexone (5 mg/kg) and also the selective antagonist δ_1 -OR BNTX (0.7 mg/kg), the selective δ_2 -OR blocker naltriben (0.3 mg/kg), the κ -selective antagonist nor-binaltorphimine (2 mg/kg), do not affect cardiac reperfusion injury *in vivo*. It is established that the μ -selective antagonist CTAP limits infarct size.

Key words: opioid peptides, opioids, heart, reperfusion.

Введение

В 70-е и 80-е годы прошлого столетия были обнаружены эндогенные опиоиды [5]. Затем последовало открытие ОР на саркомере кардиомиоцитов [11]. В экспериментах на изолированном сердце было установлено, что блокада μ -ОР перед ишемией способствует уменьшению развития реперфузионной контрактуры [1]. Блокада δ - и κ -ОР перед ишемией, напротив, способствует ухудшению реперфузионной сократительной дисфункции изолированного сердца [10]. Есть данные о том, что блокада всех типов периферических ОР приводит к повышению устойчивости сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии [7]. Эти данные говорят о том, что эндогенные агонисты ОР могут регулировать устойчивость сердца к патогенному действию ишемии. Однако остается неясным, как влияют на размер зоны инфаркта эндогенные опиоиды при воздействии реперфузии *in vivo*. Впер-

вые будет изучено участие эндогенных агонистов ОР в повышении устойчивости сердца к действию реперфузии.

Цель исследования: выяснить, влияют ли эндогенные агонисты ОР на размер зоны инфаркта при действии реперфузии *in vivo*.

Материал и методы

Исследование было выполнено на 120 крысах-самцах линии Вистар массой 250–300 г. Животных наркотизировали внутрибрюшинным введением α -хлоралозы (60 мг/кг, внутрибрюшинно, Sigma) и подключали к аппарату искусственной вентиляции легких "SAR-830 Series" (CWE Inc. США). Коронароокклюзию и реперфузию осуществляли по методу J.E. Schultz и соавт. [9]. Регистрация АД осуществлялась с помощью датчика давления SS13L (BiopacSystemInc., Goleta, Калифорния, США), сопряжен-

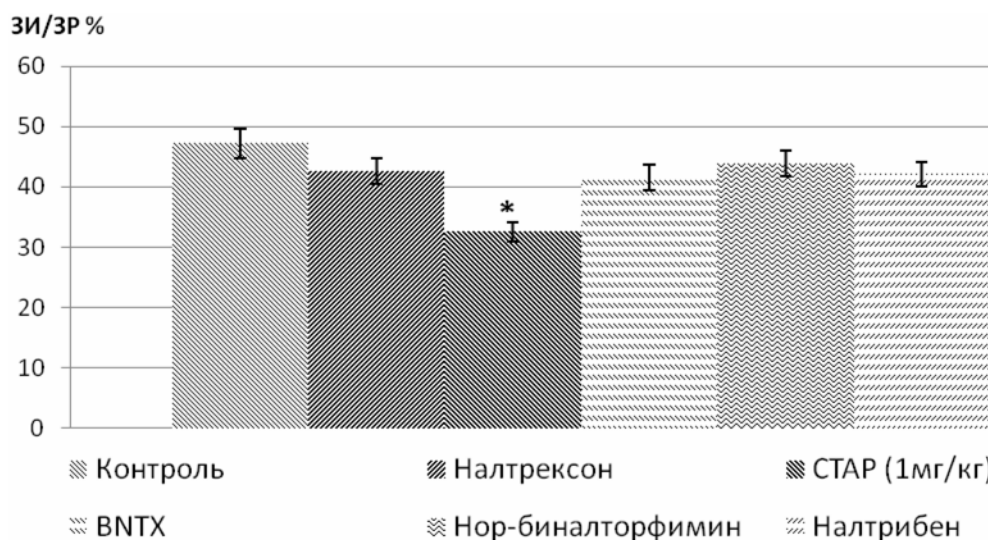


Рис. 1. Размер ЗИ/ЗР при 45-минутной коронароокклюзии и 120-минутной реперфузии у крыс (M±SEM): *p<0,05 по сравнению с контролем

ного с аппаратом для электрофизиологических исследований MP35 (BiopacSystemInc., Goleta, США). Измерение артериального давления проводили путем канюлирования правой сонной артерии с помощью датчика давления SS13L (BiopacSystemInc., Goleta, Калифорния, США), сопряженного с аппаратом для электрофизиологических исследований MP35 (BiopacSystemInc., Goleta, США) и персональным компьютером компании Intel. Данный прибор также использовался для регистрации ЭКГ. После 45 мин ишемии лигатуру снимали и восстановление кровотока подтверждали появлением эпикардиальной гиперемии. Продолжительность реперфузии составляла 2 ч. Выявление зоны некроза и области риска проводили по методу J. Neekar и соавт. [8]. После реперфузии сердце удаляли из грудной клетки и промывали ретроградно через аорту физиологическим раствором. Для определения зоны риска (ЗР) лигатуру вновь затягивали и миокард окрашивали струйно через аорту 5%-м перманганатом калия. ЗР принято называть миокард, подвергнутый ишемии-реперфузии. После промывки физиологическим раствором делали срезы сердца толщиной в 1 мм перпендикулярно к продольной оси с помощью слайсера HSRA001-1 (ZivicInstruments, Pittsburgh, США). Визуализацию зоны некроза от ЗР осуществляли путем окрашивания 1%-м раствором 2,3,5-трифенил тетразолия хлорида в течение 30 мин при 37 °C. В основе метода лежит способность 2,3,5-трифенил тетразолия хлорида приобретать стойкую окраску при переходе из окисленного состояния в восстановленное под действием дегидрогеназ. Поскольку в погибших кардиомиоцитах отсутствовали дегидрогеназы, некротизированный миокард не окрашивался. После окончания окраски срезы помещали в 10%-й раствор формальдегида на 1 сутки. Срезы сканировали с обеих сторон сканером HP Scanjet G4050. Размер ЗР и зоны инфаркта (ЗИ) определяли компьютеризированным планиметрическим методом. Размер ЗИ вы-

ражали в процентах от размера зоны гипоперфузии (ЗР), как соотношение ЗИ/ЗР.

Все антагонисты ОР вводили внутривенно за 10 мин до реперфузии. Для блокады всего пула ОР использовали налтрексон в дозе 5 мг/кг, производство "Sigma-Aldrich" (St. Louis, США). Для блокады μ -ОР применяли СТАР (NH_2 -D-Phe-c[Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-L-Pen]-Thr-NH₂), который вводили в дозе 1 мг/кг, синтезирован в "Multiple Peptide Systems" (San Diego, США). Ингибирование δ_1 -ОР осуществляли с помощью введения BNTX (7-Benzylidenenaltrexone) в дозе 0,7 мг/кг, а блокаду δ_2 -ОР – с помощью налтрибена в дозе 0,3 мг/кг, оба ингибитора были приобретены в "Tocris Bioscience" (Bristol, Великобритания). Антагонист κ -ОР нор-биналторфимин применяли в дозе 2 мг/кг, был закуплен в "Sigma-Aldrich" (St. Louis, США). В группу контроля были включены животные, которым внутривенно вводили физиологический раствор из расчета 1 мл/кг. При выборе доз препаратов мы руководствовались данными литературы [2, 6, 12].

Налтрексон, СТАР и нор-биналторфимин растворяли в 0,9%-м NaCl. Налтрибен, BNTX растворяли в 0,1 мл DMSO, а затем в 0,9 мл 20%-го гидроксипропил- β -циклодекстрина.

Статистическую обработку данных проводили с помощью пакетов программы "STATISTICA 6.0". Для оценки значимости различий полученных результатов использовали критерий Манна–Уитни. Статистически значимыми считались различия при p<0,05. Результаты всех экспериментов представлены в виде среднего арифметического (M) ± стандартной ошибки среднего (SEM).

Результаты

Как показано на рисунке 1, в контрольной группе соотношение ЗИ/ЗР составило 47%. После внутривенного введения блокатора всего пула ОР налтрексона не было

выявлено статистически значимого изменения соотношения ЗИ/ЗР по отношению к контролю. Стоит отметить, что налтрексон имеет различную степень сродства по отношению к отдельным типам ОР. В связи с этим дальнейшие наши исследования были направлены на изучение блокаторов каждого типа ОР по отдельности. При использовании ингибитора μ -ОР СТАР в дозе 1 мг/кг мы обнаружили достоверное уменьшение индекса ЗИ/ЗР на 15% по сравнению с контрольной группой. Полученный результат стал для нас несколько неожиданным, т.к. до этого никому из исследователей не удавалось обнаружить кардиопротекторный эффект у блокаторов ОР.

При этом исследовании, проведенные в нашей лаборатории, показывают, что агонисты данных рецепторов не оказывают подобного эффекта. Следовательно, инфарктулимитирующий эффект СТАР в дозе 1 мг/кг, по всей видимости, является результатом взаимодействия этого пептида с неопиоидными рецепторами. В этой связи следует отметить, что пептид СТАР проявляет умеренное сродство к рецепторам соматостатина. Рецепторы соматостатина, как известно, присутствуют в сердце [4]. Представляется вполне вероятным, что инфарктулимитирующий эффект СТАР может быть связан с активацией рецепторов соматостатина или иных, пока неидентифицированных, рецепторов. Внутривенное введение селективного блокатора δ_2 -ОР налтрибена не оказывало достоверного эффекта на соотношение ЗИ/ЗР (рис. 1). Инъекция антагониста δ_1 -ОР BNTX также не влияла на значение ЗИ/ЗР (рис. 1). При использовании ингибитора κ -ОР мы не обнаружили статистически значимых изменений по отношению к контрольной группе. Эти данные согласуются с результатами других исследователей, которые также не смогли обнаружить изменения индекса ЗИ/ЗР при использовании антагонистов ОР во время реперфузии [3, 10].

Таким образом, полученные нами результаты указывают на то, что эндогенные агонисты ОР не участвуют в повышении функциональной устойчивости сердца к патогенному действию реперфузии.

Литература

1. Лешманов Ю.Б., Маслов Л.Н., Наумова А.В., Богомаз С.А. Активация μ -опиоидных рецепторов как фактор повышения устойчивости сердца к ишемическим и реперфузионным повреждениям // Рос. физиол. журн. – 1998. – Т. 84, № 11. – С. 1223–1230.
2. Guo H.T., Zhang R.H., Zhang Y. et al. Endogenous κ -opioid peptide mediates the cardioprotection induced by ischemic postconditioning // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 2011. – Vol. 58, No. 2. – P. 207–215.
3. Jang Y., Xi J., Wang H., Mueller R.A. et al. Postconditioning prevents reperfusion injury by activating δ -opioid receptors // Anesthesiology. – 2008. – Vol. 108, No. 2. – P. 243–250.
4. Ludvigsen E., Carlsson C., Tiensuu Janson E. et al. Somatostatin receptor 1-5; expression profiles during rat development // Ups. J. Med. Sci. – 2015. – Vol. 120, No. 3. – P. 157–168.
5. Maslov L.N., Khaliulin I., Oeltgen P.R. et al. Prospects of creation of cardioprotective and antiarrhythmic drugs based on opioid receptor agonists // Med. Res. Rev. – 2016. – Vol. 36, No. 5. – P. 871–923.
6. Maslov L.N., Lishmanov Yu.B., Oeltgen P.R. et al. Activation of peripheral δ_2 opioid receptors increases cardiac tolerance to ischemia/reperfusion injury: Involvement of protein kinase C, NO-synthase, K_{ATP} channels and the autonomic nervous system // Life Sci. – 2009. – Vol. 84, No. 19–20. – P. 657–663.
7. Murphy D.B., Murphy M.B. Opioid antagonist modulation of ischaemia-induced ventricular arrhythmias: a peripheral mechanism // J. Cardiovasc. Pharmacol. – 1999. – Vol. 33, No. 1. – P. 122–125.
8. Neckar J., Szarszoi O., Herget J. et al. Cardioprotective effect of chronic hypoxia is blunted by concomitant hypercapnia // Physiol. Res. – 2003. – Vol. 52, No. 2. – P. 171–175.
9. Schultz J.E.J., Hsu A.K., Gross G.J.J. Ischemic preconditioning and morphine-induced cardioprotection involve the delta (δ)-opioid receptor in the intact rat heart // Mol. Cell. Cardiol. – 1997. – Vol. 29, No. 8. – P. 2187–2195.
10. Tsutsumi Y.M., Yokoyama T., Horikawa Y. et al. Reactive oxygen species trigger ischemic and pharmacological postconditioning: *in vivo* and *in vitro* characterization // Life Sci. – 2007. – Vol. 81, No. 15. – P. 1223–1227.
11. Ventura C., Bastagli L., Bernardi P. et al. Opioid receptors in rat cardiac sarcolemma: effect of phenylephrine and isoproterenol // Biochim. Biophys. Acta. – 1989. – Vol. 987, No. 1. – P. 69–74.
12. Yamada H., Nakamoto H., Suzuki Y. et al. Pharmacological profiles of a novel opioid receptor-like1 (ORL1) receptor antagonist, JTC-801 // Br. J. Pharmacol. – 2002. – Vol. 135, No. 2. – P. 323–332.

Поступила 24.12.2016

Сведения об авторе

Мухомедзянов Александр Валерьевич, научный сотрудник лаборатории экспериментальной кардиологии Научно-исследовательского института кардиологии, Томский национальный исследовательский медицинский центр Российской академии наук.
Адрес: 634012, г. Томск, ул. Киевская, 111а.
E-mail: sasha_m91@mail.ru.