

## СТИМУЛЯЦИЯ $\delta_1$ -ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ ПОВЫШАЕТ ПОРОГ ЖЕЛУДОЧКОВОЙ ФИБРИЛЛЯЦИИ ПРИ ПОСТИНФАРКТНОМ КАРДИОСКЛЕРОЗЕ: РОЛЬ $K_{\text{АТР}}$ -КАНАЛОВ

Н. В. Соленкова<sup>1</sup>, Л. Н. Маслов<sup>2</sup>, Ю. Б. Лишманов<sup>2</sup>, В. Ю. Серебров<sup>1</sup>, С. А. Богомаз<sup>3</sup>, Г. Г. Гросс<sup>4</sup>, Дж. Б. Стефано<sup>5</sup>, С. В. Там<sup>6</sup>

Предварительное внутривенное введение селективного пептидного агониста  $\delta_1$ -опиоидных рецепторов (ОР) DPDPE (0,1 мг/кг) увеличивает величину порога фибрилляции желудочков (ПФЖ) при постинфарктном кардиосклерозе у крыс. Предварительное введение селективного  $\delta$ -ОР антагониста ICI 174,864 (0,5 мг/кг внутривенно), полностью устраняет DPDPE — индуцированное увеличение ПФЖ. Этот  $\delta$ -антагонист сам не влияет на ПФЖ. Предварительное введение селективного ингибитора АТР-зависимых  $K^+$ -каналов ( $K_{\text{АТР}}$ -каналов) глибенкламида (0,3 мг/кг внутривенно), полностью устраняет  $\delta_1$ -рецептор-опосредованное увеличение ПФЖ. Внутривенная инъекция блокатора митохондриальных  $K_{\text{АТР}}$ -каналов 5-гидроксидеканоата (5 мг/кг) совместно с DPDPE не только устраняет  $\delta_1$ -рецептор-опосредованный подъем величины ПФЖ, но и усугубляет падение ПФЖ, индуцированное кардиосклерозом. Введение только глибенкламида или 5-гидроксидеканоата не оказывает эффекта на величину ПФЖ. Авторы делают вывод, что стимуляция  $\delta_1$ -ОР увеличивает ПФЖ путем активации митохондриальных  $K_{\text{АТР}}$ -каналов.

**Ключевые слова:** агонисты и антагонисты опиоидных рецепторов, желудочковая фибрилляция

### ВВЕДЕНИЕ

Проблема поиска новых эффективных антиаритмических средств, лишенных серьезных побочных эффектов, является одной из актуальных задач современной фармакологии. Отрицательное инотропное действие, присущее многим классическим антиаритмикам [1], существенно ограничивает их применение у пациентов с сердечной недостаточностью. Одним из путей решения указанной проблемы может явиться разработка антиаритмических средств, которые не оказывали бы отрицательного влияния на сократимость миокарда. Определенный интерес в этом плане представляют агонисты опиоидных рецепторов (ОР), поскольку их использование позволяет в значительной степени предупредить возникновение экспериментальных аритмий [2 – 5, 7] и повреждений кардиомиоцитов при ишемии/реперфузии [7, 8, 15]. Некоторые лиганды ОР при этом существенно улучшают насосную функцию изолированного сердца [3]. В последнее время в литературе обсуждается роль митохондриаль-

ных АТФ-зависимых  $K^+$ -каналов ( $K_{\text{АТР}}$ -каналов) в аритмогенезе [7, 10] и реализации действия  $\delta_1$ -агонистов на миокард [7, 10, 15]. Однако вопрос о способности лигандов  $\delta_1$ -ОР не только предупреждать аритмии, но и устранять уже сформировавшуюся электрическую нестабильность сердца (например, при постинфарктном кардиосклерозе) остается открытым. Кроме того, представляет интерес зависимость вышеуказанных эффектов опиоидов от степени активности  $K_{\text{АТР}}$ -каналов.

Цель работы: изучить влияние агониста  $\delta_1$ -опиоидных рецепторов DPDPE на величину порога желудочковой фибрилляции в условиях постинфарктного кардиосклероза, а также оценить роль  $K_{\text{АТР}}$ -каналов в реализации обнаруженных эффектов.

### МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проведены на крысах линии Вистар массой 200 – 250 г, у которых для моделирования постинфарктного кардиосклероза (ПИК) перевязывали левую переднюю коронарную артерию на границе верхней и средней трети. Через 6 недель после коронароокклюзии у выживших животных определяли порог фибрилляции желудочков (ПФЖ). С этой целью сердце крысы стимулировали прямоугольными импульсами электрического тока продолжительностью в 2 мс, наносимыми в “ранимую фазу” сердечного цикла. За величину ПФЖ принимали минимальную силу тока, при которой возникала фибрилляция желудочков. Влияние лигандов  $\delta$ -ОР (селективный пептидный агонист

<sup>1</sup> Кафедра биохимии (зав. — проф. В. Ю. Серебров) Сибирского государственного медицинского университета, Томск.

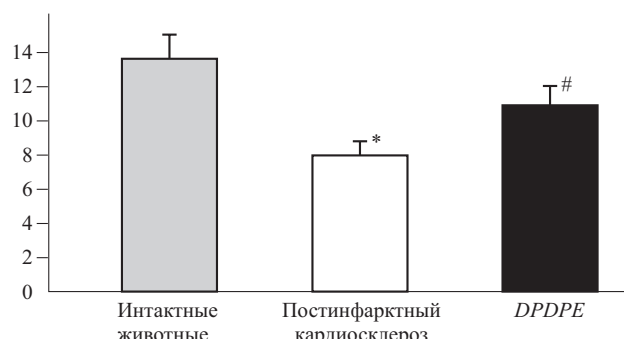
<sup>2</sup> Лаборатория экспериментальной кардиологии (зав. — Л. Н. Маслов) НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, Томск, 634050, ул. Киевская, 111.

<sup>3</sup> Томский государственный педагогический университет.

<sup>4</sup> Отдел фармакологии и токсикологии, Медицинский Колледж Висконсина, Милуоки, США.

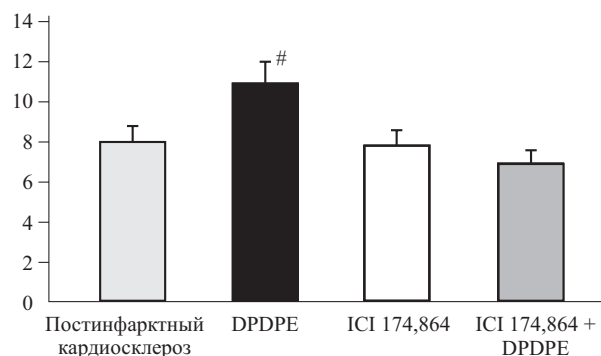
<sup>5</sup> Отдел хирургии, Государственный университет Нью-Йорка, Нью-Йорк, США.

<sup>6</sup> Компания NitroMed, Бедфорд, США.



**Рис. 1.** Влияние агониста  $\delta_1$ -ОР DPDPE (0,1 мг/кг) на величину ПФЖ на модели постинфарктного кардиосклероза.

Различия достоверны по отношению к группе: \* — интактных животных,  $p < 0,001$ , # — животных с постинфарктным кардиосклерозом,  $p < 0,01$ .



**Рис. 2.** Влияние предварительного введения блокатора  $\delta$ -ОР ICI 174, 864 (0,5 мг/кг) на антиаритмическое действие DPDPE (0,1 мг/кг) на модели постинфарктного кардиосклероза.

Различия достоверны по отношению к группе с постинфарктным кардиосклерозом при # —  $p < 0,01$ .

$\delta_1$ -рецепторов Н-Тур-D-Pen-Gly-Phe-D-Pen-ОН (DPDPE) [6],  $\delta$ -антагонист N,N-Diallyl-Тур-Aib-Aib-Phe-Leu-ОН (ICI 174,864) [6] на электрическую стабильность сердца оценивали по изменению ПФЖ у крыс с постинфарктным кардиосклерозом. Исследуемые препараты вводили внутривенно [DPDPE в дозе 0,1 мг/кг за 10 мин до определения ПФЖ, ICI 174, 864 (0,5 мг/кг) за 15 мин до введения агониста]. Сарколеммальные и митохондриальные АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы ( $K_{ATP}$ -каналы) ингибировали с помощью глибенкламида (0,3 мг/кг в вену за 45 мин до определения ПФЖ) [15]. Избирательную блокаду сарколеммальных  $K_{ATP}$ -каналов осуществляли с помощью внутривенного введения селективного ингибитора этих каналов 1-[[5-(5-chloro-o-anisamido)ethyl]-2-methoxyphenyl]sulfonyl]-3-methylthiourea (HMR 1098) [9] в дозе 3 мг/кг [7], а митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов — с помощью 5- гидроксидеканоата в дозе 5 мг/кг, соответственно за 25 или 15 мин до определения ПФЖ [14].

Пептидный агонист  $\delta_1$ -ОР DPDPE приобретен в компании “Multiple Peptide Systems” (San Diego, CA, США), 5-гидроксидеканоат, глибенкламид и 2-hydroxupropyl- $\beta$ -cyclodextrin — в компании RBI (Natick, MA, США). HMR 1098 предоставлен компанией “Aventis” (Германия). Глибенкламид растворяли в 45 % водном растворе 2-hydroxupropyl- $\beta$ -cyclodextrin. При выборе доз препаратов мы руководствовались литературными данными и результатами своих экспериментов, посвященных антиаритмическим и кардиопротекторными эффектам опиоидов и блокаторов  $K_{ATP}$ -каналов [2 – 5, 7, 8, 10]. Контролем служили интактные животные и крысы с постинфарктным кардиосклерозом, которым перед определением ПФЖ вместе лигандов ОР вводили изотонический раствор NaCl в эквивалентных объемах.

Результаты обрабатывали с помощью методов вариационной статистики для несвязанных между собой величин, используя  $t$ -критерий Стьюдента.

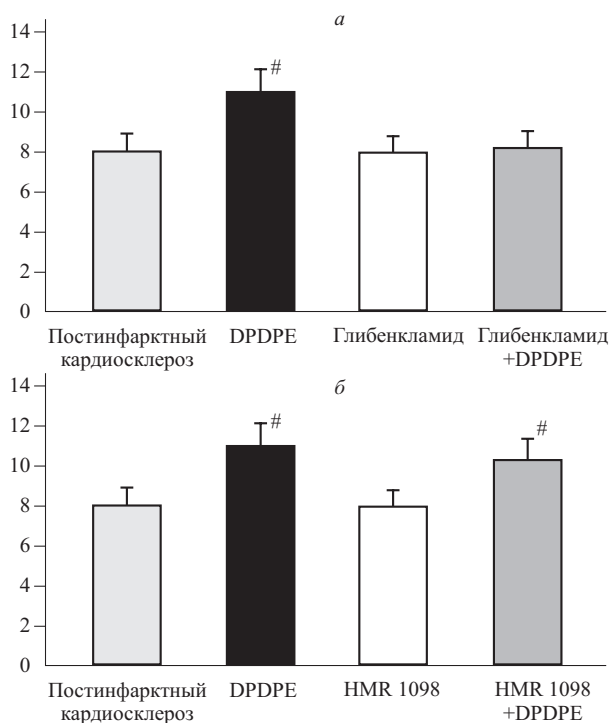
## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Развитие постинфарктного кардиосклероза сопровождалось достоверным уменьшением ПФЖ почти в 2 раза относительно интактных крыс, у которых данный параметр равнялся  $13,60 \pm 1,22$  mA (рис. 1). Введение DPDPE животным с постинфарктным кардиосклерозом повышало электрическую стабильность сердца, на что указывало увеличение ПФЖ на 34 % по сравнению с ПИК-контролем (см. рис. 1). Данный положительный эффект  $\delta_1$ -агониста удавалось полностью устранить предварительным введением ICI 174, 864 — блокатора  $\delta$ -ОР, который сам не влиял на величину ПФЖ в условиях постинфарктного кардиосклероза (рис. 2).

Внутривенная инъекция блокатора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида устраняла эффект DPDPE на величину ПФЖ, тогда как глибенкламид per se не оказывал действия на электрическую стабильность сердца (рис. 3, а). Предварительная блокада сарколеммальных  $K_{ATP}$ -каналов с помощью HMR 1098 не отразилась на величине ПФЖ в группе животных с постинфарктным кардиосклерозом (см. рис. 3, б). Кроме того, этот препарат не изменял антиаритмического действия DPDPE.

Как следует из рис. 4, ингибитор митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов 5-гидроксидеканоат не оказывал самостоятельного влияния на электрическую стабильность миокарда, но при совместном введении с DPDPE устранял защитный эффект последнего. Более того, в этой ситуации он усиливал снижение ПФЖ по сравнению с группой ПИК-контроля (см. рис. 4).

Результаты наших исследований свидетельствуют о том, что активация  $\delta_1$ -ОР способствует увеличению электрической стабильности миокарда у крыс с постинфарктным кардиосклерозом. На это указывает повышение ПФЖ у этих животных после введения селективного  $\delta_1$ -агониста DPDPE. Мы имеем основания говорить о рецепторной специфичности этого эффек-

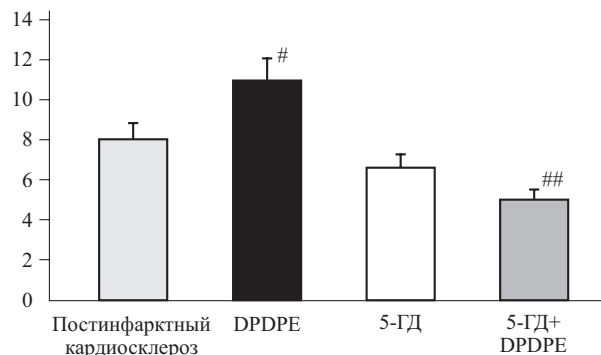


**Рис. 3.** Влияние предварительного введения блокатора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида (0,3 мг/кг) — *a* и блокатора сарколеммальных  $K_{ATP}$ -каналов HMR 1098 (3 мг/кг) — *б* на антиаритмическое действие DPDPE (0,1 мг/кг) на модели постинфарктного кардиосклероза.

# — различия достоверны по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом при  $p < 0,01$ .

та, поскольку фармакологическая блокада  $\delta$ -рецепторов их антагонистов ICI 174,864 полностью нивелирует антиаритмическое действие DPDPE.

В плане изучения механизмов вышеозначенного феномена определенным интересом представляет тот факт, что повышение электрической стабильности миокарда, наблюдаемое при стимуляции  $\delta_1$ -ОР, опосредуется через активацию  $K_{ATP}$ -каналов. В пользу этого утверждения свидетельствует устранение антиаритмического эффекта DPDPE под влиянием предварительной инъекции блокатора  $K_{ATP}$ -каналов глибенкламида. Вместе с тем известно, что в кардиомиоцитах существуют два пула  $K_{ATP}$ -каналов: сарколеммальные и митохондриальные [7, 11, 14, 15]. Результаты настоящего исследования позволяют заключить, что АТФ-зависимые  $K^+$ -каналы, расположенные на цитолемме клеток миокарда, не играют существенной роли в реализации антиаритмического эффекта DPDPE. Так, предварительная селективная блокада сарколеммальных  $K_{ATP}$ -каналов (HMR 1098) не влияла на DPDPE-опосредованное повышение величины ПФЖ, тогда как предварительная блокада митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов не только устраняла эффект DPDPE, но и сопровождалась снижением величины ПФЖ ниже контрольного значения. Это является аргументом в пользу того, что детерминирующую роль в реализации антиаритмического



**Рис. 4.** Влияние предварительного введения блокатора митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов 5-гидроксидекааноата (5-ГД) (5 мг/кг) на антиаритмическое действие DPDPE (0,1 мг/кг) на модели постинфарктного кардиосклероза.

Различия достоверны по отношению к группе животных с постинфарктным кардиосклерозом: # —  $p < 0,01$ ; ## —  $p < 0,001$ .

эффекта агониста  $\delta_1$ -рецепторов DPDPE играют  $K_{ATP}$ -каналы, локализованные на внутренней мембране митохондрий.

Отдельного обсуждения заслуживает феномен уменьшения ПФЖ в случае стимуляции  $\delta_1$ -рецепторов на фоне блокады митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов. Видимо, это связано не только со способностью  $\delta_1$ -агониста DPDPE активировать митохондриальные  $K_{ATP}$ -каналы, но и воздействовать на другие механизмы регуляции электрической стабильности сердца. В качестве одного из таких механизмов можно назвать увеличение выходящего  $K^+$ -тока в результате активации ОР и сопряженных с ними  $K^+$ -каналов на клеточной мембране [6], что, как известно, может способствовать возникновению фибрилляции по механизму re-entry [16].

Вместе с тем остается неясным, каким образом, активация митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов обеспечивает подавление рециркуляции возбуждения в миокарде в условиях уже сформировавшегося рубца в миокарде. Предполагают, что активация этих каналов сопровождается повышением уровня АТФ в клетке [11] и, как следствие, нормализацией функции ионных насосов, в частности Са-АТФазы саркоплазматического ретикулума, что обеспечивает сохранение кальциевого гомеостаза кардиомиоцитов [12] и, соответственно, электрическую стабильность клетки.

## ВЫВОДЫ

1. Активация  $\delta_1$ -опиоидных рецепторов способствует повышению порога желудочковой фибрилляции у крыс с постинфарктным кардиосклерозом.
2. Повышение электрической стабильности сердца в результате стимуляции  $\delta_1$ -опиоидных рецепторов связано с активацией митохондриальных  $K_{ATP}$ -каналов.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, гранта HL08311-34 for Garret J. Gross. Авторы выражают признательность др. K. Gormley (NIDA, США) за предо-

ставленные лиганды опиоидных рецепторов и The Wellcome Trust, предоставившей Л. Н. Маслову и Ю. Б. Лишманову travel grant для поездки на конференцию ЕОС'2000. Кроме того, авторы выражают признательность Н. Gogelein и К. Wirth (компания Aventis) за предоставленный препарат HMR 1098.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. А. Мазур, А. Абдалла, *Фармакотерапия аритмий*, Оверлей, Москва (1995).
2. Л. Н. Маслов, Д. С. Угдыжекова, А. В. Крылатов, Ю. Б. Лишманов, *Рос. физиол. журн.*, **84**(12), 1394 – 1401 (1998).
3. Л. Н. Маслов, Ю. Б. Лишманов, *Кардиология*, № 12, 25 – 30 (1998).
4. Ю. Б. Лишманов, Л. Н. Маслов, А. В. Крылатов, *Бюл. экпер. биол.*, **125**(6), 650 – 653 (1998).
5. Ю. Б. Лишманов, Л. Н. Маслов, Д. С. Угдыжекова, *Экспер. аритмология.*, **3**, 48 – 50 (1994).
6. В. N. Dhawan, F. Cesselin, R. Raghuram, et al., *Pharmacol. Rev.*, **48**(4), 567 – 592 (1996).
7. R. M. Fryer, A. K. Hsu, H. Nagase, and G. J. Gross, *J. Pharmacol Exp. Ther.*, **294**(2), 451 – 457 (2000).
8. R. M. Fryer, A. K. Hsu, J. T. Eells, et al, *Circ Res*, **16**, **84**(7), 846 – 51 (1999).
9. H. Gogelein, J. Hrtung, B. A. Scholkens, and H. C. Engelert, *J. Pharmacol. Exp. Ther.*, **286**(3), 1453 – 1464 (1998).
10. G. J. Gross, *Basic Res Cardiol*, **95**, 280 – 284 (2000).
11. G. J. Grover, *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, **75**(4), 309 – 315 (1997).
12. E. L. Holmuhamedov, L. Wang, and A. Terzic, *J. Physiol. I*, **519**, 347 – 60 (1999).
13. Yu. B. Lishmanov, L. N. Maslov, and D. S. Ugdyzhokova, *G. N. Life Sci.*, **61**(3), 33 – 38 (1997).
14. Y. Liu, T. Sato, J. Sheharseyon, et al., *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, **30**, 874, 27 – 37 (1999).
15. J. E. J. Schultz, A. K. Hsu, H. Nagase, and G. J. Gross, *Am. J. Physiol.*, **274**, H909 – H914 (1998).
16. P. J. Schwartz, S. G. Priori, and E. Vanoli, *Antiarrhythmic Drugs. Mechanisms of Antiarrhythmic and Proarrhythmic Actions*, New York, 240 – 250 (1995).

Поступила 19.05.2001

## STIMULATION OF $\delta_1$ -OPIOID RECEPTORS INCREASES THE THRESHOLD FOR VENTRICULAR FIBRILLATION IN POSTINFARCTION CARDIOSCLEROSIS: THE ROLE OF $K_{ATP}$ CHANNELS

N. V. Solenkova<sup>1</sup>, L. N. Maslov<sup>2</sup>, Yu. B. Lishmanov<sup>1</sup>, V. Yu. Serebrov<sup>1</sup>, S. A. Bogomaz<sup>3</sup>, G. G. Gross<sup>4</sup>, J. B. Stefano<sup>5</sup>, and S. W. Tam<sup>6</sup>

<sup>1</sup> Department of Biochemistry, Siberian State Medical University, Moskovskii trakt 2, Tomsk, 634050 Russia

<sup>2</sup> Laboratory of Experimental Cardiology, Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Kievskaya 111, Tomsk, 634050 Russia

<sup>3</sup> Tomsk State Pedagogical University, Tomsk, 634050 Russia

<sup>4</sup> Pharmacology and Toxicology Department, Wiskonsin Medical College, Milwaukee, USA

<sup>5</sup> Surgery Department, State University of New York, New York, USA

<sup>6</sup> NitroMed Company, Bedford, USA

Preliminary administration of the  $\delta_1$ -opioid receptor ( $\delta_1$ -OR) selective peptide agonist DPDPE (0.1 mg/kg, i.v.) increased the ventricular fibrillation threshold (VFT) in postinfarction cardiosclerosis in rats. Pretreatment with the selective  $\delta_1$ -OR antagonists ICI 174,864 (not affecting VFT) in a dose of 0.5 mg/kg completely eliminated the DPDPE-induced increase in the VFT. Pretreatment with the  $K_{ATP}$  channel selective blocker glibenclamide (0.3 mg/kg, i.v.) completely eliminated the  $\delta_1$ -OR mediated increase in the VFT protective effect of the  $\delta_1$ -OR stimulation. The intravenous injection of the mitochondrial  $K_{ATP}$  channel blocker 5-hydroxydecanoate (5 mg/kg) simultaneously with DPDPE not only eliminated the  $\delta_1$ -OR mediated increase on VFT, but additionally increased the VBFT drop caused by cardiosclerosis. Injected separately, neither glibenclamide nor hydroxydecanoate affected the VFT level. It is concluded that stimulation of the  $\delta_1$ -OR increases VFT by activating mitochondrial  $K_{ATP}$ -channels.