

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ ИССЛЕДОВАНИЯ

Л.Н. Маслов<sup>1,2</sup>, А.Ю. Лишманов<sup>1</sup>

### ПРЕПАРАТ (-)-U-50,488 ПОВЫШАЕТ ТОЛЕРАНТНОСТЬ СЕРДЦА К АРИТМОГЕННОМУ ДЕЙСТВИЮ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИШЕМИИ И РЕПЕРФУЗИИ СЕРДЦА ЗА СЧЁТ АКТИВАЦИИ $\kappa_1$ -ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

<sup>1</sup>НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН, <sup>2</sup>Томский гос. пед. Университет, Томск, Россия;

*С целью выяснения рецепторной природы антиаритмического эффекта U-50,488 в условиях острой коронароокклюзии и реперфузии, моделированных с помощью перевязки левой коронарной артерии, выполнены эксперименты на крысах линии Вистар массой 200-250 г, наркотизированных кетамин (50 мг/кг, внутривенно).*

**Ключевые слова:** коронарные артерии, желудочковые аритмии, ишемия, реперфузия, опиоидные рецепторы, U-50,488, крысы линии Вистар

*To clarify the nature of the antiarrhythmic effect of U-50,488 in acute coronary occlusion and reperfusion modeled by the left coronary artery ligation, experiments were made on Wistar rats with body weight of 200-250 g narcotized with Ketamine (50 mg/kg intraperitoneally).*

**Key words:** coronary arteries, ventricular arrhythmias, ischemia, reperfusion, opiate receptors, U-50,488, Wistar rats.

Общеизвестно, что терапия и профилактика нарушений сердечного ритма с помощью антиаритмических препаратов I-IV класса далеко не всегда дает положительный эффект. Более того, применение самих антиаритмиков нередко ведет к появлению тяжелых, злокачественных аритмий и может стать причиной внезапной сердечной смерти [13]. Вполне очевидно, что необходимо создание новых антиаритмических средств, принципиально отличных по механизму действия от тех препаратов, которые в настоящее время используются в клинической практике. В связи с этим, на наш взгляд, заслуживают внимания агонисты  $\kappa$ -опиоидных рецепторов (ОР). Эти препараты обладают антиаритмической активностью [1, 10, 11] и, в отличие от опиатов, не вызывают формирования наркотической зависимости даже при хроническом применении [5].

Вместе с тем, литературные данные о роли  $\kappa$ -ОР в аритмогенезе носят достаточно противоречивый характер. Так, ряд авторов сообщают, что антиаритмический эффект  $\kappa$ -агонистов не связан с активацией опиоидных рецепторов, а является следствием неспецифической блокады  $\text{Na}^+$ -каналов [10, 11]. Более того,  $\kappa$ -агонисты могут оказывать аритмогенный эффект в случае добавления этих опиоидов в раствор, которым перфузируют изолированное сердце крысы [2]. Подобный противоречивый характер литературных данных, касающихся антиаритмической активности лигандов  $\kappa$ -опиоидных рецепторов, может быть следствием двух причин: полиморфизма  $\kappa$ -ОР и низкой селективности использованных ранее лигандов  $\kappa$ -рецепторов [10, 11]. Ранее нами было показано, что  $\kappa$ -агонист U-50,488 может повысить устойчивость сердца к аритмогенному действию адреналина, коронароокклюзии и реперфузии [1]. Однако рецепторная природа этого эффекта U-50,488 не известна. Поэтому целью настоящей работы явилось выяснение рецепторной природы антиаритмического эффекта U-50,488 в условиях острой коронароокклюзии и реперфузии.

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты по моделированию нарушений сердечного ритма проведены на крысах линии Вистар массой 200-250 г, наркотизированных кетамин (50 мг/кг, внутривенно). Острую 10-мин ишемию моделировали с помощью перевязки левой коронарной артерии, как изложено нами ранее [1]. Во время выполнения этой процедуры животные находились на искусственной вентиляции комнатным воздухом, которую осуществляли с помощью модернизированного аппарата искусственной вентиляции РО-2 (Петербург, Россия). В течение 10 мин ишемии и 10 мин реперфузии регистрировали ЭКГ в первом грудном отведении с помощью усилителя биопотенциалов (УБФ4-03, Россия) и компьютера Pentium с использованием оригинального пакета прикладных программ.

При анализе ЭКГ принимали во внимание частоту возникновения множественных желудочковых экстрасистол (ЖЭ), желудочковой тахикардии (ЖТ), фибрилляции желудочков (ФЖ). Кроме того, в отдельной серии наблюдений, выполненных на интактных наркотизированных крысах, оценивали эффект некоторых агонистов  $\kappa$ -рецепторов на частоту сердечных сокращений (ЧСС) и параметры ЭКГ (продолжительность интервалов PQ, QRS, QT). Интервал QT, нормализованный на ЧСС (QT<sub>c</sub>) и отражающий скорость реполяризации кардиомиоцитов желудочков, рассчитывали по методу, предложенному A. Van de Water и соавт. [14].

В работе были использованы следующие лиганды  $\kappa$ -опиоидных рецепторов: агонист  $\kappa_1$ -ОР (-)-trans-(1S,2S)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]benzeneacetamide hydrochloride ((-)-U-50,488), его «неактивный» энантиомер (+)-trans-(1R,2R)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]benzeneacetamide hydrochloride ((+)-U-50,488), обладающий низким сродством к  $\kappa_1$ -рецепторам [6], агонист  $\kappa_2$ -ОР 4-[(3,4-dichlorophenyl)acetyl]-3-(1-pyrrolidinylmethyl)-

1-piperazinecarboxylic acid methyl ester fumarate (GR-89696) [4], антагонист  $\kappa_1$ -ОР норбинаторфимин, антагонист  $\mu$ -,  $\delta$ - и  $\kappa_2$ -ОР квадазоцин [7]. Агонисты вводили внутривенно за 15 мин до моделирования ишемии, квадазоцин - за 25 мин до коронароокклюзии, а норбинаторфимин за 1,5 ч до перевязки коронарной артерии. Агонист  $\kappa_1$ -рецепторов (-)-U-50,488 использовали в дозах 0,5, 1 и 2 мг/кг, (+)-U-50,488 - в дозе 1 мг/кг, GR-89696 - в дозе 25 мкг/кг, норбинаторфимин - в дозе 9 мг/кг, квадазоцин - в дозе 3 мг/кг. При выборе доз и схемы введения лигандов  $\kappa$ -опиоидных рецепторов мы руководствовались собственными данными об антиаритмической активности U-50,488 [1], а также литературными сведениями об антиноцицептивной активности этих препаратов [4, 9].

Все препараты растворяли в 0,9% растворе NaCl за исключением квадазоцина, который растворяли в диметилсульфоксиде (DMSO) с последующим разведением в 45% водном растворе 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin. Кетамин был приобретен в ФГУП «Московский эндокринный завод» (Москва), (-)-U-50,488, (+)-U-50,488 и 2-hydroxypropyl- $\beta$ -cyclodextrin - в Tocris Cookson (Bristol, Великобритания). Норбинаторфимин был синтезирован в Research Triangle Institute (Research Triangle Park, США) и любезно предоставлен д-р Kevin J. Gormley (NIDA, Bethesda, США). Квадазоцин был синтезирован в Sanofi-Synthelabo Research (Malvern, США), а GR-89696 - в GlaxoSmithKline (Herts, Великобритания).

Контролем служили крысы, у которых моделировали коронароокклюзию и реперфузию без введения препаратов. Результаты обрабатывали статистически с использованием критерия  $\chi^2$ .

### ПОЛУЧЕННЫЕ РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Как следует из табл. 1, коронароокклюзия и реперфузия приводила к появлению желудочковых аритмий у всех контрольных животных. Преобладающей формой нарушений сердечного ритма была ЖЭ, которая регистрировалась у 93% крыс, сравнительно редко возникала ФЖ. Она была зафиксирована только у одной крысы из 16 при коронароокклюзии и у 46% подопытных животных при реперфузии.

Предварительное введение селективного агониста  $\kappa_1$ -ОР (-)-U-50,488 в дозе 1 мг/кг сопровождалось снижением частоты возникновения ЖЭ и ЖТ во время острой ишемии в 2 раза с одновременным увеличением количества животных в группе без нарушений ритма в 3,6 раза (табл. 1). После применения (-)-U-50,488 (1 мг/кг) 37% крыс приобретали устойчивость к аритмогенному действию реперфузии, частота появления ЖЭ в этой серии уменьшалась в 2 раза, а ФЖ вообще не возникала. Антиаритмический эффект (-)-U-50,488 носил дозозависимый характер. Так, после инъекции указанного опиоида в дозе 0,5 мг/кг количество крыс, устойчивых к аритмогенному действию коронароок-

Таблица 1.

*Влияние агонистов  $\kappa_1$ - и  $\kappa_2$ - опиоидных рецепторов на устойчивость сердца к аритмогенному действию острой ишемии и постшемической реперфузии*

	n	Ишемия 10 мин				Реперфузия 10 мин			
		БЖА	ЖЭ	ЖТ	ФЖ	БЖА	ЖЭ	ЖТ	ФЖ
Контроль	16	0	15 (93%)	12 (75%)	1 (6%)	0	15 (93%)	11 (69%)	6 (46%)
(+)U-50,488 (1 мг/кг)	15	2 (13%)	13 (87%)	8 (57%)	1 (7%)	0	9 (60%) p<0,025	6 (40%)	2 (13%)
(-)U-50,488 (1 мг/кг)	19	9 (47%) p<0,01	10 (59%) p<0,01	7 (37%) p<0,025	0	7 (37%) p<0,01	10 (53%) p<0,01	8 (42%)	0 p<0,01
-U-50,488 (2 мг/кг)	15	9 (60%) p<0,001	6 (40%) p<0,01	4 (27%) p<0,01	2 (13%)	7 (47%) p<0,01	6 (40%) p<0,01	6 (40%)	0 p<0,01
-U-50,488 (0,5 мг/кг)	14	6 (43%) p<0,01	7 (50%) p<0,01	5 (36%) p<0,05	1 (7%)	6 (43%) p<0,01	7 (50%) p<0,01	5 (36%)	0 p<0,01
GR-89 (25 мкг/кг)	14	3 (21%)	10 (71%)	9 (64%)	0	4 (29%)	11 (78%)	6 (43%)	4 (28%)

здесь и далее, БЖА - без желудочковых аритмий, ЖЭ - желудочковые экстрасистолы, ЖТ - желудочковая тахикардия, ФЖ - фибрилляция желудочков, n - количество животных.

Таблица 2.

*Влияние антагонистов  $\kappa_1$ - и  $\kappa_2$ - опиоидных рецепторов на антиаритмический эффект (-)-U50,488*

	n	Ишемия 10 мин				Реперфузия 10 мин			
		БЖА	ЖЭ	ЖТ	ФЖ	БЖА	ЖЭ	ЖТ	ФЖ
Контроль	15	2 (13%)	13 (87%)	10 (67%)	4 (26%)	1 (7%)	12 (80%)	12 (80%)	4 (28%)
Норбинаторфимин + (-)-U50,488	14	2 (14%)	12 (86%)	8 (57%)	1 (7%)	0	14 (100%)	10 (71%)	3 (21%)
Квадазоцин + (-)-U50,488	24	10 (42%)	13 (54%) p<0,05	10 (42%)	0 p<0,01	6 (25%)	16 (66%)	12 (50%)	0 p<0,01

где, (-)-U50,488 использовали в дозе 1 мг/кг, квадазоцин - в дозе 3 мг/кг, норбинаторфимин - в дозе 9 мг/кг

клюдии составило 43%, после введения препарата в дозе 1 мг/кг - 47%, а после применения (-)-U-50,488 в дозе 2 мг/кг - 60% (табл. 1).

В свою очередь, инъекция «неактивного» энантиомера (+)-U-50,488 (1 мг/кг) не влияла на частоту и характер окклюзионных и реперфузионных аритмий по сравнению с группой контроля. Внутривенное введение селективного агониста  $\kappa_2$ -ОР GR-89696 также не сопровождалось изменениями устойчивости сердца к аритмогенному действию острой ишемии и реперфузии (табл. 1).

С целью выяснения рецепторной природы антиаритмического эффекта (-)-U-50,488 нами были проведены серии экспериментов с инъекцией указанного лиганда на фоне предварительной блокады  $\kappa_1$ -ОР с помощью норбиналторфимина или  $\kappa_2$ -ОР с помощью квадазоцина. Предварительное введение норбиналторфимина полностью устраняло антиаритмический эффект (-)-U-50,488, тогда как на фоне блокады  $\kappa_2$ -ОР квадазоцином данный агонист сохранял свое антиаритмическое действие (табл. 2). Сами по себе квадазоцин или норбиналторфимин не влияли на частоту и характер нарушений сердечного ритма в условиях коронароокклюзии и последующего возобновления коронарного кровотока (данные не представлены в таблице).

В отдельной серии экспериментов, выполненных на интактных животных, мы проанализировали влияние  $\kappa_1$ -агониста (-)-U-50,488 и его «неактивного» стереоизомера (+)-U-50,488 на параметры ЭКГ интактных животных. Нами было обнаружено, что инъекция (-)-U-50,488 сопровождалась уменьшением ЧСС на 14-18% по сравнению с исходной величиной, причем этот эффект возникал уже через 5 мин после введения препарата и сохранялся на протяжении, по меньшей мере, 15 мин наблюдения. В то же время, после инъекции (-)-U-50,488 у интактных животных в течение 15 мин не отмечалось изменений длительности интервалов QRS, QT, QT<sub>c</sub> по сравнению с исходными значениями. Интервал PQ удлинялся по сравнению с исходными значениями, но не отличался от контроля (инъекция 0,9% NaCl наркотизированным крысам) (данные не представлены на рисунке). Через 5 мин после введения «неактивного» стереоизомера (+)-U-50,488 мы также наблюдали брадикардию, но она была менее выражена (снижение ЧСС на 5-8% по сравнению с исходным уровнем) и кратковременна, о чем свидетельствует возвращение ЧСС к исходному уровню уже через 15 мин после инъекции (рис. 1). Кроме того, как и в случае использования (-)-U-50,488, нами было зарегистрировано (+)-U-50,488-индуцированное удлинение интервала PQ на 19% идентичное тому, которое мы наблюдали, у наркотизированных этиловым эфиром контрольных животных. Продолжительность других интервалов ЭКГ после введения (+)-U-50,488 не изменялась по сравнению с исходными значениями.

Результаты наших исследований свидетельствуют, что после инъекции селективного агониста  $\kappa_1$ -ОР (-)-U-50,488 наблюдается снижение частоты возникновения нарушений ритма как во время коронароокклюзии, так и в период возобновления коронарного кровотока. Антиаритмический эффект (-)-U-50,488 был

связан с активацией  $\kappa_1$ -ОР. Это положение представляется нам наиболее важным, поскольку до недавнего времени было принято считать, что антиаритмический эффект U-50,488 и других  $\kappa$ -агонистов связан не с активацией ОР, а с неспецифической блокадой быстрых Na<sup>+</sup>-каналов кардиомиоцитов [10, 11]. В пользу нашего утверждения о важной роли  $\kappa_1$ -ОР в аритмогенезе говорят следующие факты: антиаритмическими свойствами не обладал энантиомер (+)-U-50,488, проявляющий низкое сродство к  $\kappa_1$ -ОР; селективный агонист  $\kappa_2$ -ОР GR-89696 так же не влиял на устойчивость сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии и реперфузии; антиаритмический эффект (-)-U-50,488 исчезал после предварительной блокады  $\kappa_1$ -рецепторов норбиналторфиминном; блокатор  $\kappa_2$ -ОР квадазоцин не устранял (-)-U-50,488-индуцированную резистентность сердца к аритмогенному влиянию острой ишемии и реперфузии.

Остановимся на некоторых из вышеперечисленных фактов более подробно, поскольку их трактовка может вызвать возражения. Изомер (+)-U-50,488 не оказывал антиаритмического эффекта в дозе 1 мг/кг, хотя (-)-U-50,488 в этой же дозе повышал толерантность сердца к аритмогенному действию ишемии и реперфузии. Данный факт не должен вызвать удивления, поскольку (+)-U-50,488 по сродству к  $\kappa_1$ -рецепторам в 300 раз уступает (-)-U-50,488 [6], поэтому для эффективной стимуляции  $\kappa_1$ -рецепторов с помощью (-)-U-50,488 потребовалось бы использовать дозы, как минимум, в 10-30 мг/кг. Однако при столь значительном увеличении дозы препарата возрастает вероятность его неспецифического взаимодействия с неопиоидными рецепторами или ионными каналами и, как следствие, появление антиаритмического эффекта, не связанного с ОР. Вероятно, подобная ситуация имела место в работе М.К. Pugsley и соавт. [11], которые использовали рацемат U-50,488 в дозе 13 мг/кг и обнаружили у него антиаритмический эффект, не связанный с активацией ОР.

Селективный агонист  $\kappa_2$ -ОР GR-89696 мы использовали в дозе 25 мкг/кг, что в 40 раз меньше дозы (-)-U-50,488. Столь радикальное различие между дозами препаратов связано с тем, что (-)-U-50,488 обладает низким сродством к  $\kappa$ -ОР, а GR-89696 про-

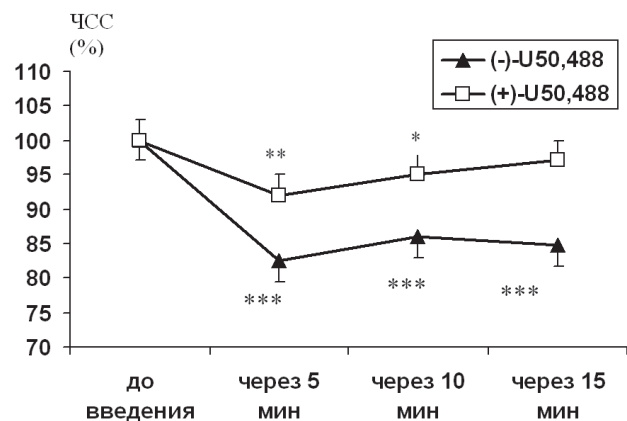


Рис. 1. Влияние агонистов  $\kappa$ -опиоидных рецепторов на частоту сердечных сокращений, где \* -  $p < 0,05$ ; \*\* -  $p < 0,01$ ; \*\*\* -  $p < 0,001$  - достоверность по отношению к исходным значениям.

являет высокий аффинитет к этим рецепторам и, соответственно, высокую биологическую активность [3, 4, 6]. Так, например, GR-89696 проявлял обезболивающие свойства, начиная с дозы 1 мкг/кг, а его антиноцицептивное действие достигало максимума в дозе 30 мкг/кг [3]. При анализе литературных данных мы не обнаружили ни одной публикации, в которой (-)-U-50,488 при системном введении повышал порог болевой чувствительности в дозах менее 1 мг/кг. Следовательно, у нас есть все основания утверждать, что активация  $\kappa_2$ -ОР с помощью инъекции GR-89696 (25 мкг/кг) не приводит к изменению толерантности сердца к аритмогенному действию острой ишемии и реперфузии. Блокатор  $\kappa_2$ -ОР квадазоцин не устранял антиаритмический эффект (-)-U-50,488, но частично его ослаблял. Подобное действие квадазоцина, по всей видимости, связано с его недостаточно высокой селективностью по отношению к-ОР. Этот препарат вообще проявляет низкую к-селективность. Так, например, он может блокировать  $\mu$ - и  $\delta$ -опиоидные рецепторы [9]. К сожалению, в настоящее время фармакологи не располагают высокоселективным ингибитором  $\kappa_2$ -ОР, поэтому мы в своей работе были вынуждены использовать квадазоцин.

Таким образом, сопоставление полученных фактов позволяет нам с уверенностью говорить о том, что активация  $\kappa_1$ -опиоидных рецепторов обеспечивает повышение резистентности сердца к аритмогенному действию кратковременной локальной ишемии и реперфузии *in vivo*. Вместе с тем, многие вопросы остаются пока без ответа. Так, например, неизвестно, где в организме локализованы  $\kappa_1$ -ОР, активация которых обеспечивает высокую электрическую стабильность сердца. Было показано, что активация кардиальных  $\kappa_1$ -ОР с помощью добавления (-)-U-50,488 в раствор Кребса-Хензеляйта, которым перфузируют изолированное сердца крыс, может приводить к появлению желудочковых аритмий [2]. Следовательно, позитивную роль кардиальных  $\kappa_1$ -ОР в повышении электрической стабильности сердца, видимо, можно исключить.

Активация центральных к-опиоидных рецепторов с помощью интрацеребровентрикулярного введения агонистов этих рецепторов усиливает аритмогенный эффект адреналина [8], а внутривенное введение (-)-U-50,488 предупреждает появление адреналин-индуцированных аритмий [1]. Следовательно, маловероятно, чтобы стимуляция центральных  $\kappa_1$ -ОР могла обеспечить толерантность сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии. Однако это последнее утверждение не является бесспорным, поскольку патогенез аритмий при ишемии-реперфузии существенно отличается от механизма адреналин-индуцированных аритмий. Так, например, внутривенная инъекция как (-)-U-50,488, так и его «неактивного» энантиомера (+)-U-50,488, в равной мере повышает резистентность сердца к аритмогенному действию адреналина [1].

Таким образом, вопрос о локализации  $\kappa_1$ -опиоидных рецепторов, обеспечивающих устойчивость сердца к аритмогенному действию коронароокклю-

зии и реперфузии, нуждается в тщательном, всестороннем анализе. Наиболее простым объяснением антиаритмического действия (-)-U-50,488 при ишемии и реперфузии может быть  $\kappa_1$ -рецептор-опосредованное изменение функционального состояния вегетативной нервной системы. Так, например, известно, что стимуляция *p. vagus* способствует снижению частоты появления ФЖ при экспериментальной коронароокклюзии [12]. Основными проявлениями повышения активности вагуса являются: брадикардия, удлинение интервала PQ, уменьшение продолжительности QT<sub>c</sub> [12]. После инъекции (-)-U-50,488 отмечается только брадикардия. Следовательно, повышение тонуса *p. vagus* в ответ на инъекцию (-)-U-50,488 представляется сомнительным.

Общеизвестно, что активация симпатического звена вегетативной нервной системы способствует появлению аритмий, а блокада  $\beta$ -адренорецепторов обеспечивает повышение устойчивости сердца к аритмогенным воздействиям. Основными проявлениями блокады  $\beta$ -адренорецепторов является брадикардия [12]. Именно брадикардию мы наблюдали после инъекции (-)-U-50,488, поэтому есть основания предполагать, что в основе антиаритмической активности этого опиоида может лежать его антиадренергическое действие. Разумеется, мы далеки от мысли, что (-)-U-50,488 ингибирует  $\beta$ -адренорецепторы. Однако указанный препарат может супрессировать аденилатциклазу, сопряженную с  $\beta$ -адренорецепторами, или, активируя пресинаптические к-опиоидные рецепторы, подавлять выброс эндогенных катехоламинов из нервных окончаний в миокарде [см. обзор 15].

Именно эти эффекты могут лежать в основе антиадренергического действия использованного нами к-агониста. В пользу антиадренергического влияния к-агонистов говорят и данные наших собственных исследований. Так, нами было обнаружено, что (-)-U-50,488 повышает резистентность сердца к аритмогенному действию адреналина [1]. Этот эффект исчезал после инъекции норбиналторфимина [1], что говорит об участии к-опиоидных рецепторов в механизме антиаритмического влияния препарата. Вместе с тем, реальный вклад антиадренергического действия (-)-U-50,488 в механизм увеличения толерантности сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии нуждается в тщательной проверке. Таким образом, нам удалось убедительно показать, что антиаритмический эффект (-)-U-50,488 связан с активацией  $\kappa_1$ -опиоидных рецепторов. Однако механизм антиаритмического действия указанного опиоида нуждается в дальнейшем изучении.

## ВЫВОДЫ

1. Опиоид (-)-U-50,488 оказывает антиаритмический эффект в условиях моделирования кратковременной коронароокклюзии и реперфузии.
2. Активация  $\kappa_1$ -опиоидных рецепторов приводит к увеличению устойчивости сердца к аритмогенному действию кратковременной ишемии-реперфузии сердца.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Угдыжекова Д.С., Маслов Л.Н., Крылатов А.В. и др. К вопросу о специфичности антиаритмического эффекта агонистов опиатных  $\kappa_1$ -рецепторов // Экспер. и клин. фармакол. 2001; Т. 64, № 4. С. 17-20.
2. Bian J.-S., Zhang W.-M., Xia Q., Wong T.M. Phospholipase C inhibitors attenuate arrhythmias induced by  $\kappa$ -receptor stimulation in the isolated rat heart // J. Mol. Cell. Cardiol. 1998; V. 30, P. 2103-2110.
3. Birch P.J., Rogers H., Hayes A.G. et al. Neuroprotective actions of GR89696, a highly potent and selective  $\kappa$ -opioid receptor agonist // Br. J. Pharmacol. 1991; V. 103, P. 1819-1823.
4. Butelman E.R., Ko M.C., Traynor J.R. et al. GR89,696: a potent kappa-opioid agonist with subtype selectivity in rhesus monkeys // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2001; V. 298, N 3, P. 1049-1059.
5. Cowan A., Zhu X.Z., Mosberg H.I. et al. Direct dependence studies in rats with agents selective for different types of opioid receptor // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1988; V. 246, N 3, P. 950-955.
6. De Costa B.R., Bowen W.D., Hellewell S.B. et al. Alterations in the stereochemistry of the  $\kappa$ -selective opioid agonist U50,488 results in high-affinity  $\sigma$  ligands // J. Med. Chem. 1989; V. 32, N 8, P. 1996-2002.
7. Horan P.J., de Costa B.R., Rice K. et al. Differential antagonism of bremazocine- and U-69,593-induced antinociception by quadazocine: further functional evidence of opioid  $\kappa$  receptor multiplicity in the mouse // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993; V. 266, N 2, P. 926-933.
8. Lishmanov Yu.B., Maslov L.N., Ugdyzhkova D.S., Smagin G.N. Participation of central kappa-opioid receptors in arrhythmogenesis // Life Sci., 1997; V. 61, N 3, P. PL33-PL38.
9. Negus S.S., Burke T.F., Medzihradsky F., Woods J.H. Effects of opioid agonists selective for mu, kappa and delta opioid receptors on schedule-controlled responding in rhesus monkeys: antagonism by quadazocine // J. Pharmacol. Exp. Ther. 1993; V. 267, N 2, P. 896-903.
10. Pugsley M.K., Saint D.A., Penz M.P., Walker M.J. Electrophysiological and antiarrhythmic actions of the kappa agonist PD 129290, and its R,R(+)-enantiomer, PD 129289 // Br. J. Pharmacol. 1993; V. 110, N 4, P. 1579-1585.
11. Pugsley M.K., Saint D.A., Walker M.J. An electrophysiological basis for the antiarrhythmic actions of the kappa-opioid receptor agonist U-50,488H // Eur. J. Pharmacol. 1994; V. 261, N 3, P. 303-309.
12. Rosenshtraukh L., Danilo P., Anyukhovskiy E.P. et al. Mechanisms for vagal modulation of ventricular repolarization and of coronary occlusion-induced lethal arrhythmias in cats // Circ. Res. 1994; V. 75, P. 722-732.
13. The Cardiac Arrhythmia Suppression Trial (CAST) Investigators. Preliminary report: effect of encainide and flecainide on mortality in a randomized trial of arrhythmia suppression after myocardial infarction // N. Engl. J. Med. 1989; V. 321, P. 406-412.
14. Van de Water A., Verheyen J., Xhonneux R., Reneman R.S. An improved method to correct the QT interval of electrocardiogram for changes in heart rate // J. Pharmacol. Methods 1989; V. 22, P. 207-217.
15. Wong T.M., Wu S. Roles of kappa opioid receptors in cardioprotection against ischemia the signaling mechanisms // Acta Physiol. Sin. 2003; V. 55, N 2, P. 115-120.

Работа выполнена при поддержке грантов Министерства образования и науки (2.1.1/530 и 2.1.1/211), при поддержке РФФИ грант 10-04-00288-а и Федерального агентства по науке и инновациям контракт 02.740.11.0714.

ПРЕПАРАТ (-)-U-50,488 ПОВЫШАЕТ ТОЛЕРАНТНОСТЬ СЕРДЦА К АРИТМОГЕННОМУ ДЕЙСТВИЮ КРАТКОВРЕМЕННОЙ ИШЕМИИ И РЕПЕРFUЗИИ СЕРДЦА ЗА СЧЁТ АКТИВАЦИИ  $\kappa_1$ -ОПИОИДНЫХ РЕЦЕПТОРОВ

*Л.Н. Маслов, А.Ю. Лешманов*

С целью выяснения рецепторной природы антиаритмического эффекта U-50,488 в условиях острой коронароокклюзии и реперфузии эксперименты по моделированию нарушений сердечного ритма проведены на крысах линии Вистар массой 200-250 г. Острую ишемию моделировали с помощью перевязки левой коронарной артерии, в течение 10 мин ишемии и 10 мин реперфузии регистрировали ЭКГ в первом грудном отведении, анализировали частоту возникновения множественных желудочковых экстрасистол (ЖЭ), желудочковой тахикардии (ЖТ), фибрилляции желудочков (ФЖ). Оценивали эффект некоторых агонистов  $\kappa$ -рецепторов на частоту сердечных сокращений (ЧСС) и параметры ЭКГ (продолжительность интервалов PQ, QRS, QT). Использовали следующие лиганды  $\kappa$ -опиоидных рецепторов (ОР): агонист  $\kappa_1$ -ОР (-)-trans-(1S,2S)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]-benzeneacetamide hydrochloride ((-)-U-50,488), его «неактивный» энантиомер (+)-trans-(1R,2R)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]-benzeneacetamide hydrochloride ((+)-U-50,488), обладающий низким сродством к  $\kappa_1$ -рецепторам [6], агонист  $\kappa_2$ -ОР 4-[(3,4-dichlorophenyl)acetyl]-3-(1-pyrrolidinylmethyl)-1-piperazinecarboxylic acid methyl ester fumarate (GR-89696) [4], антагонист  $\kappa_1$ -ОР норбинаторфимин, антагонист  $\mu$ -,  $\delta$ - и  $\kappa_2$ -ОР квадазоцин.

Коронароокклюзия и реперфузия приводили к появлению желудочковых аритмий у всех контрольных животных, ЖЭ регистрировалась у 93% крыс. Предварительное введение селективного агониста  $\kappa_1$ -ОР (-)-U-50,488 в дозе 1 мг/кг сопровождалось снижением частоты возникновения ЖЭ и ЖТ во время острой ишемии в 2 раза. После применения (-)-U-50,488 (1 мг/кг) 37% крыс приобретали устойчивость к аритмогенному действию реперфузии, частота появления ЖЭ в этой серии уменьшалась в 2 раза, а ФЖ вообще не возникала. Антиаритмический эффект (-)-U-50,488 носил дозозависимый характер. Инъекция «неактивного» энантиомера (+)-U-50,488 (1 мг/кг)

не влияла на частоту и характер аритмий. Введение селективного агониста  $\kappa_2$ -ОП GR-89696 также не сопровождалось изменениями устойчивости сердца к аритмогенному действию острой ишемии и реперфузии. Предварительное введение норбинаторфимина полностью устраняло антиаритмический эффект (-)-U-50,488, тогда как на фоне блокады квадазоцином данный агонист сохранял свое антиаритмическое действие. Инъекция (-)-U-50,488 сопровождалась уменьшением ЧСС на 14-18%, в течение 15 мин не отмечалось изменений длительности интервалов QRS, QT, QT<sub>c</sub>. Интервал PQ удлинялся по сравнению с исходными значениями, но не отличался от контроля. Через 5 мин после введения «неактивного» стереоизомера (+)-U-50,488 мы также наблюдали брадикардию, но она была менее выражена

Таким образом, активация  $\kappa_1$ -опиоидных рецепторов обеспечивает повышение резистентности сердца к аритмогенному действию кратковременной локальной ишемии и реперфузии *in vivo*. Вопрос о локализации  $\kappa$ -опиоидных рецепторов, обеспечивающих устойчивость сердца к аритмогенному действию коронароокклюзии и реперфузии, нуждается в тщательном, всестороннем анализе. Опиоид (-)-U-50,488 оказывает антиаритмический эффект в условиях моделирования кратковременной коронароокклюзии и реперфузии. Активация  $\kappa_1$ -опиоидных рецепторов приводит к увеличению устойчивости сердца к аритмогенному действию кратковременной ишемии-реперфузии сердца.

#### COMPOUND (-)-U-50,488 IMPROVES THE HEART TOLERANCE TO THE ARRHYTHMOGENIC EFFECT OF SHORT-TERM ISCHEMIA DUE TO ACTIVATION OF $\kappa_1$ -OPIATE RECEPTORS

*L.N. Maslov, A.Yu. Lishmanov*

To clarify the receptor nature of the antiarrhythmic effect of U-50,488 in acute coronary occlusion and reperfusion, experiments in modeling cardiac arrhythmia were performed on Wistar rats with body weight of 200-250 g. The acute ischemia was induced by ligation of the left coronary artery; within 10 min of ischemia and 10 min of reperfusion, ECG in lead I was recorded; the incidence of multiple ventricular premature beats (VPB), ventricular tachycardia (VT), and ventricular fibrillation (VF) was analyzed. The impact of some  $\kappa$ -receptor agonists on the heart rate (HR) and ECG data (duration of PQ, QRS, and QT intervals) was assessed. The following ligands of  $\kappa$ -opiate receptors ( $\kappa$ OP) were used: an agonist of  $\kappa_1$ -OP-(-)-trans-(1S,2S)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]-benzeneacetamide hydrochloride ((-)-U-50,488); its "inactive" enantiomer (+)-trans-(1R,2R)-3,4-Dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl)cyclohexyl]-benzeneacetamide hydrochloride ((+)-U-50,488) with a low affinity with  $\kappa_1$ -receptors, agonist of  $\kappa_2$ -OP-4-[(3,4-dichlorophenyl)acetyl]-3-(pyrrolidinylmethyl)-1-piperazinecarboxylic acid methyl ester fumarate (GR-89696), antagonist of  $\kappa_1$ -OP norbinaltorphimine, and antagonist of  $\mu$ -,  $\delta$ - and  $\kappa_2$ -OP quadazocine.

The coronary occlusion and reperfusion resulted in appearance of ventricular arrhythmias in all control animals, VPBs were recorded in 93% of rats. The administration of the selective agonist of  $\kappa_1$ -OP, (-)-U-50,488, prior to coronary occlusion in a dose of 1 mg/kg was associated with a 2-fold decrease in the incidence of VPB and VT during the acute ischemia. Following the administration of (-)-U-50,488 (1 mg/kg), 37% of rats became tolerant to the arrhythmogenic effect of reperfusion, the VPB incidence in these series of experiments decreased 2 times, no cases of VF occurred. The antiarrhythmic effect of (-)-U-50,488 was dose-dependent. An injection of the "inactive" enantiomer (+)-U-50,488 (1 mg/kg) did not affect the incidence and pattern of arrhythmias. The administration of the selective agonist of  $\kappa_2$ -OP, GR-89696, did not lead to changes in the tolerance of the myocardium to the arrhythmogenic effect of ischemia and reperfusion as well. The administration of nor-binaltorphimine prior to occlusion completely eliminated the antiarrhythmic effect of (-)-U-50,488, whereas the antiarrhythmic effect of the agonist was retained at the background of the block by quadazocine. The (-)-U-50,488 injection was associated with a decrease in the heart rate by 14-18%; no changes in the QRS, QT, and QT<sub>c</sub> interval duration were observed within 15 minutes. The PQ interval increased as compared with baseline but did not differ from the control values. Five minutes after administration of "inactive" stereoisomer (+)-U-50,488, bradycardia was also revealed, but of a lesser extent.

Thus, activation of  $\kappa_1$ -opiate receptors leads to an increase in the myocardium tolerability to the arrhythmogenic effect of the short-term local ischemia and reperfusion *in vivo*. The issue of location of  $\kappa_1$  opiate receptors that ensure the heart tolerance to the arrhythmogenic effect of coronary occlusion and reperfusion needs further thorough and detailed analysis. The activation of  $\kappa_1$ -opiate receptors leads to an improvement of the heart tolerance to the arrhythmogenic effect of the short-term cardiac ischemia/reperfusion.