

КАРДИОВАСКУЛЯРНЫЕ ЭФФЕКТЫ D-Ala², Leu⁵, Arg⁶-ЭНКЕФАЛИНА (ДАЛАРГИН) СВЯЗАНЫ С АКТИВАЦИЕЙ ПЕРИФЕРИЧЕСКИХ ОПИОИДНЫХ μ -РЕЦЕПТОРОВ

Л. Н. Маслов¹, Ю. Б. Лишманов¹, Е. И. Барзах¹, И. В. Максимов¹, И. Н. Ворожцова¹, И. Л. Буховец¹, С. М. Минин¹, Е. Б. Орлова¹, А. Г. Лавров¹, М. В. Овчинников²

Было установлено, что внутривенное введение даларгина в дозе 0,1 мг/кг вызывало гипотензивный, положительный инотропный и положительный хронотропный эффект у пациентов с инфарктом миокарда. Даларгин не вызывал появления “синдрома обкрадывания” у пациентов с инфарктом миокарда. Положительный хронотропный эффект даларгина был связан с оккупацией периферических опиоидных μ -рецепторов. Повышение ЧСС, вызванное даларгином, имело рефлекторную природу. Прямое действие даларгина на сердце сопровождалось снижением ЧСС и замедлением проведения возбуждения в области атриовентрикулярного узла.

Ключевые слова: даларгин, опиоидные рецепторы, сердце, человек, крыса

ВВЕДЕНИЕ

D-Ala², Leu⁵, Arg⁶-энкефалин (даларгин) является первым опиоидным пептидом, разрешенным к клиническому применению у нас в стране. Во многом это заслуга сотрудников Всесоюзного кардиологического научного центра АМН, которые синтезировали этот пептид и провели его доклинические и клинические испытания [2, 3, 7, 8]. В экспериментах *in vitro* показано, что даларгин обладает высоким сродством к μ -опиоидным рецепторам (ОР) и к δ -ОР [3]. Однако, по данным [15], даларгин является преимущественным агонистом μ -ОР. При внутривенном введении даларгина крысам время его полуэлиминации составляет 12 мин [2]. В крови он деградирует до Tug-D-Ala-Gly-Phe-Leu и Tug-D-Ala-Gly-Phe [2]. Первый из названных пептидов является преимущественным агонистом δ -ОР, а второй взаимодействует как с μ -ОР, так и с δ -ОР [3]. Показано, что даларгин в дозе 0,5 мг/кг внутрибрюшинно проникает через гематоэнцефалический барьер (ГЭБ), а в меньших дозировках действует только на периферические ОР [7]. По данным других авторов даларгин оказывает центральные эффекты в дозе более 20 мг/кг [1].

Результаты наших клинических наблюдений свидетельствуют, что даларгин оказывает антиангинальный и антиатерогенный эффект при курсовом внутривенном введении [6]. Согласно данным экспериментальных исследований, даларгин проявляет антифибрилляторные свойства при экспериментальной коронароокклюзии [12] и повышает порог желудочковой фибрилляции у крыс с постинфарктным кардиосклерозом [11]. Эти факты позволяют надеяться, что этот пептид может найти применение в клинической прак-

тике в качестве антиаритмического препарата у больных с острым инфарктом миокарда и у пациентов с постинфарктным кардиосклерозом. Однако говорить о возможности подобного клинического испытания препарата на антиаритмическую активность можно только будучи уверенным, что даларгин не усугубляет сократительную дисфункцию сердца у пациентов с инфарктом миокарда и не провоцирует появление “синдрома обкрадывания”. Однако до настоящего исследования оставалось не ясным, как скажется внутривенное введение D-Ala², Leu⁵, Arg⁶-энкефалина на состоянии центральной гемодинамики и коронарной кровотоке у пациентов с инфарктом миокарда. Кроме того, не было известно: с активацией каких опиоидных рецепторов связаны кардиоваскулярные эффекты даларгина?

Поэтому цель данной работы носила двоякий характер: (а) выяснить, как повлияет внутривенное введение даларгина на состояние центральной гемодинамики и коронарного кровообращения у пациентов с инфарктом миокарда; (б) определить, с активацией каких ОР связаны кардиоваскулярные эффекты D-Ala², Leu⁵, Arg⁶-энкефалина.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Даларгин является лекарственным препаратом, разрешенным для клинического применения в России. Однако селективные антагонисты ОР можно использовать только в экспериментальных исследованиях. Поэтому выполненная работа была представлена двумя фрагментами: (а) клинические наблюдения, связанные с изучением влияния даларгина на показатели гемодинамики; (б) экспериментальные исследования, связанные с изучением рецепторной природы кардиоваскулярных эффектов даларгина.

Влияние даларгина на показатели гемодинамики, состояние коронарной перфузии и показатели ЭКГ оценивали у 19 мужчин, госпитализированных в кли-

¹ НИИ кардиологии Томского научного центра СО РАМН, Томск, 634050, ул. Киевская, 111 а.

² Лаборатория синтеза пептидов Российского кардиологического научно-производственного комплекса МЗ РФ, Москва.

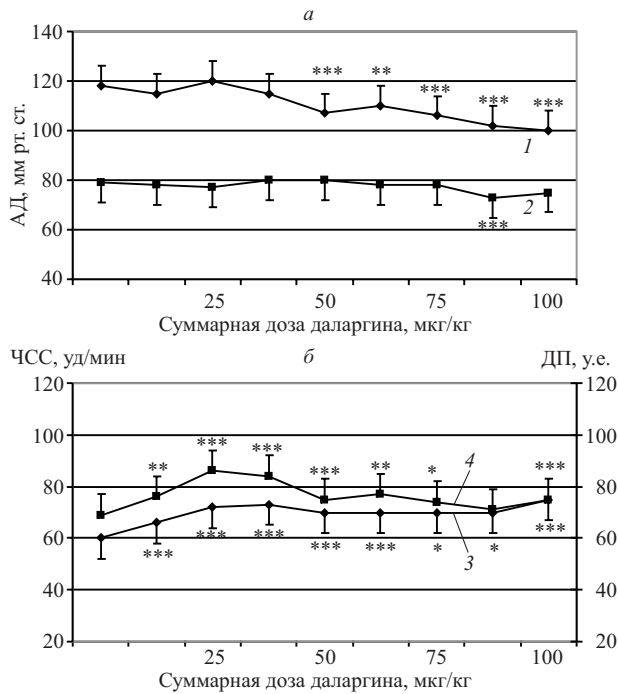


Рис. 1. Влияние далааргина на артериальное давление, частоту сердечных сокращений и двойное произведение.

Примечание: количество обследованных пациентов — 19, 1 — систолическое артериальное давление, 2 — диастолическое артериальное давление, 3 — частота сердечных сокращений (ЧСС), 4 — двойное произведение (ДП). * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,01$; *** — $p < 0,001$ по сравнению с исходным значением.

ники НИИ кардиологии ТНЦ СО РАМН с диагнозом — острый инфаркт миокарда (ИМ). Средний возраст больных составлял 53 г. Средний срок от момента госпитализации до момента проведения обследования составлял 10 дней. В исследование были включены больные инфарктом миокарда, верифицированным по наличию трех общепринятых критериев: (1) возникновение приступа боли, характерной для ишемии миокарда, длительностью 30 мин и более; (2) появление патологических зубцов Q на ЭКГ; (3) активность креатинфосфокиназы (КФК), превышающая верхнюю границу нормы в 2 раза. Исследование было одобрено этическим комитетом при НИИ кардиологии ТНЦ СО

Таблица 1. Сцинтиграфические показатели у больных при проведении исследования с далааргином в сравнении с исследованием в покое ($M \pm m$)

Показатель	Покой	Далааргин
Величина дефекта перфузии	23 ± 0,02 %	21 ± 0,02 %
Средний процент аккумуляции индикатора в дефекте перфузии	45,8 ± 2,26 %	45,1 ± 3,6 %
Минимальный процент аккумуляции индикатора в дефекте перфузии	38,6 ± 3,9 %	37,1 ± 3,8 %
Интегральный индекс дефекта перфузии	8,6 ± 0,7 %	7,1 ± 0,4 %

Примечание. В группах 19 больных.

РАМН. Все пациенты дали письменное согласие на участие в проводимом исследовании.

К критериям исключения больных из исследования относили возраст моложе 35 лет и старше 75 лет, кардиогенный шок, сохранение нестабильного состояния вплоть до 4 суток после начала заболевания, жизнеугрожающие аритмии (желудочковая тахикардия, желудочковая фибрилляция), систолическое артериальное давление (АД) менее 100 мм рт. ст. к моменту начала исследования, синусовую брадикардию с частотой сердечных сокращений (ЧСС) менее 60 уд/мин, мерцательную аритмию, нарушение внутрижелудочкового проведения (блокада пучка Гиса на момент исследования), наличие тяжелых сопутствующих заболеваний, существенно влияющих на прогноз ИМ (сахарный диабет, заболевания щитовидной железы, анемия, тяжелая дыхательная и печеночно-почечная недостаточность, злокачественные новообразования, нарушение мозгового кровообращения), отказ пациента от участия в исследовании. Если пациент принимал нитроглицерин, исследование начинали через 1 ч после приема этого препарата.

Перед введением плацебо и далааргина пациентам проводили катетеризацию локтевой вены. После изучения исходного состояния гемодинамики (АД, ЧСС) больным в качестве плацебо назначали 0,9 % раствор NaCl по 10 мл внутривенно, после чего внутривенно болюсами (по 1 мг с интервалом в 90 с) в течение 12 мин вводили далааргин в дозе 0,1 мг/кг (131 нМ/кг). При выборе дозы далааргина мы руководствовались нашими экспериментальными данными об антиаритмической активности этого пептида [11, 12]. Измерение АД и ЧСС осуществляли после каждого болюса. Перед инъекцией пептид разводили в 10 мл 0,9 % раствора NaCl.

В процессе исследования регистрировали ЭКГ на шестиканальном электрокардиографе Bioset 600 (компания “Norman”, Германия). При анализе ЭКГ принимали во внимание ЧСС и продолжительность интервалов PQ, QRS, QT. Систолическое артериальное давление (САД) и диастолическое артериальное давление (ДАД) измеряли по способу Короткова. Двойное произведение (показатель, который отражает работу сердца) рассчитывали по формуле: $ДП = (ЧСС \cdot САД) / 100$, где ДП — двойное произведение.

Участникам исследования проводили полное эхокардиографическое исследование на ультразвуковом сканере HDI-5000 Sono-CT (компания “Philips-ATL”, Германия — США) с применением фазированного датчика 2,5 МГц по стандартной методике. Оценивали следующие показатели функции левого желудочка: конечный систолический объем (мл); конечный диастолический объем (мл); ударный объем (мл); минутный объем кровообращения (л/мин); фракция выброса (%). Указанные показатели оценивали в покое и в процессе введения далааргина с интервалом в 90 с сразу же после введения далааргина в дозе 1 мг. Всего регистра-

ция показателей гемодинамики проводилась 10 раз: (1) исходно; (2) после введения плацебо (0,9 % NaCl); (3) каждый раз после инъекции 1 мг даларгина (всего 8 болюсов). Достоверность изменений показателей гемодинамики после инъекции даларгина оценивали по отношению к исходным значениям у тех же пациентов. Во время регистрации показателей гемодинамики пациенты находились в горизонтальном положении.

Однофотонную эмиссионную компьютерную томографию миокарда выполняли на томографической гамма-камере ГКС-301Т (ВНИИМП-ВИТА, Москва, Россия), используя в качестве индикатора ^{99m}Tc-*myoview* компании "Nucomed Amersham" (Великобритания). Исследование проводили дважды: через 30 – 35 мин после внутривенного введения даларгина (0,1 мг/кг) и в покое на следующий день (через 24 ч). Инъекция радиофармпрепарата (РФП) выполнялась сразу же после введения указанного опиоидного пептида. Запись нативного скинтиграфического изображения проводили через 30 – 35 мин после введения 370 МБк ^{99m}Tc-*myoview*. Регистрация изображений и обработка томограмм проводилась на компьютерной системе Сцинти производства НПО "Гелмос" (Москва, Россия). Для оценки и интерпретации результатов использовали метод обратного проецирования [5]. Суть метода заключается в формировании 20 – 25 поперечных томографических срезов сердца с последующей компьютерной реконструкцией срезов сердца по длинной и короткой осям миокарда [5]. Рассчитывали размеры дефектов перфузии и интегральный индекс дефектов перфузии [5].

Второй фрагмент исследований был выполнен на крысах линии Вистар массой 200 – 250 г, наркотизированных α-хлоралозой в дозе 20 мг/кг внутривенно. При выборе хлоралозы в качестве наркозного средства мы руководствовались данными литературы о том, что кардиоваскулярные эффекты энкефалинов у животных, наркотизированных хлоралозой, идентичны их эффектам у бодрствующих особей [17].

В течение 15 – 25 мин после инъекции лигандов опиоидных рецепторов у крыс регистрировали ЭКГ в

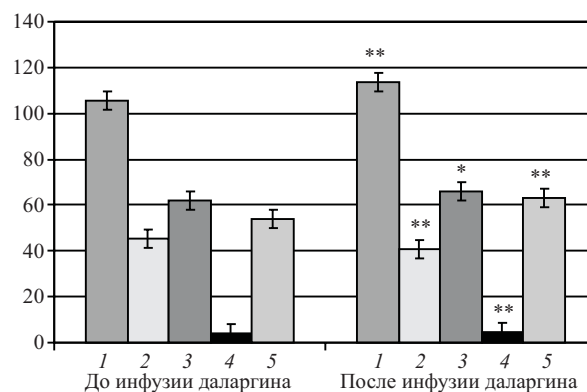


Рис. 2. Влияние внутривенной инфузии даларгина (75 мкг/кг) на показатели центральной гемодинамики.

1 — конечный диастолический объем, мл; 2 — конечный систолический объем, мл; 3 — ударный объем, мл; 4 — минутный объем, л/мин; 5 — фракция выброса, %. * — $p < 0,05$; ** — $p < 0,001$ по сравнению с исходным значением. Обследованных пациентов — 19.

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 ЧСС и продолжительность интервалов PQ, QRS, QT. Кроме того, рассчитывали интервал QT, скорректированный на ЧСС (QT_c). Животным внутривенно струйно вводили следующие агонисты опиоидных рецепторов: агонист μ- и δ-ОР даларгин (Tyr-D-Ala-Gly-Phe-Leu-Arg) [3] в дозе 0,1 мг/кг; селективный агонист μ-ОР DAMGO (H-Tyr-D-Ala²-Gly-N-Me-Phe-Gly⁵-ol) [16] в дозе 0,08 мг/кг; селективный агонист μ-ОР DALDA (NH₂-Tyr-D-Arg-Phe-Lys-NH₂) [18] в дозе 0,1 мг/кг; селективный агонист δ-ОР DPDPE (H-Tyr-D-Pen-Gly-Phe-D-Pen-OH) [18] в дозе 0,09 мг/кг; селективный агонист κ-ОР (-)-U-50,488 гидрохлорид (trans-(-)-3,4-dichloro-N-methyl-N-[2-(1-pyrrolidinyl) cyclohexyl] benzenazeneacetamide) [16] в дозе 1 мг/кг. Пептидные агонисты ОР использовали в дозах, эквивалентных дозе даларгина; (-)-U-50,488

Таблица 2. Влияние агонистов опиоидных рецепторов на частоту сердечных сокращений крыс ($M \pm m$)

Воздействие	До введения	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 15 мин
Контроль (физраствор)	345,18 ± 5,55	338,18 ± 2,02	348,12 ± 4,61	347,54 ± 5,85
Даларгин	342,73 ± 6,11	355,05 ± 5,85	369,4 ± 6,14 $p < 0,01$	368,60 ± 6,16 $p < 0,01$
DPDPE	340,79 ± 4,46	341,98 ± 4,18	330,79 ± 3,81	318,91 ± 2,86 $p < 0,001$
DALDA	331,9 ± 4,31	338,26 ± 6,56	346,36 ± 5,36 $p < 0,05$	326,29 ± 7,43
DAMGO	308,24 ± 6,4	270,39 ± 8,17 $p < 0,01$	310,56 ± 4,78	310,42 ± 5,70
(-)-U-50,488	335,85 ± 6,38	313,68 ± 4,85 $p < 0,01$	312,84 ± 5,54 $p < 0,01$	312,49 ± 6,09 $p < 0,01$

Примечание. Здесь и в табл. 3 в группе 8 животных. Достоверность указана относительно исходных показателей.

применяли в дозе 1 мг/кг, в которой он оказывает антиаритмический эффект [9]. В работе были использованы следующие антагонисты опиоидных рецепторов: преимущественный антагонист μ -ОР налоксон, преимущественный антагонист μ -ОР налоксона метиодид, не проникающий через ГЭБ [14], селективный μ -антагонист NH_2 -D-Phe-Cys-Tyr-D-Trp-Arg-Thr-L-Pen-Thr- NH_2 (СТАР) [16, 19], селективные δ -антагонисты N,N-Diallyl-Tyr-Aib-Aib-Phe-Leu-OH (ICI 174,864) и налтриндола гидрохлорид [16]. Все антагонисты вводили внутривенно за 25 мин до коронароокклюзии. Налоксон применяли в дозе 0,05 мг/кг, налоксона метиодид — 0,5 мг/кг, СТАР — 0,5 мг/кг, ICI 174,864 — 0,2 и 0,5 мг/кг, налтриндол — 1 мг/кг. Ганглиоблокатор гексаметоний вводили внутривенно в дозе 10 мг/кг за 10 мин до даларгина. Все препараты растворяли в 0,9 % растворе NaCl. При выборе доз препаратов мы руководствовались литературными данными [14, 17, 19] и результатами собственных исследований [9, 13].

Даларгин был синтезирован в лаборатории синтеза пептидов Российского кардиологического научно-производственного комплекса (РКНПК). Стерильная ампулированная форма пептида была приготовлена на экспериментальном производстве при РКНПК. Пептидные лиганды опиоидных рецепторов СТАР, DAMGO, DALDA, DPDPE и ICI 174,864 были синтезированы в компании “Multiple Peptide Systems” (США). Налтринден, (-)-U-50,488 и налоксон были приобретены в

компании “Tocris Cookson Ltd.” (Великобритания). В компании “Sigma-Aldrich” (США) был приобретен налоксона метиодид и гексаметоний.

Статистическую обработку данных осуществляли с помощью t-критерия Стьюдента для сопряженных пар.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

У 17 из 19 обследованных пациентов введение даларгина сопровождалось появлением ощущением жара в руках, груди, голове, нижних конечностях и возникновением чувства сухости во рту, а у 9 из 19 добровольцев в ответ на инфузию D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина возникало кратковременное головокружение. Чувство головокружения усиливалось при переходе пациентов из горизонтального в вертикальное положение. Не было зафиксировано аллергических реакций или каких-то иных проявлений побочного действия энкефалина, кроме вышеуказанных субъективных ощущений и падения АД. Так, у двух пациентов инфузия D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина была прекращена после введения даларгина в дозе 75 мкг/кг, потому что у них отмечалось значительное снижение систолического АД до 73 и 75 мм рт. ст. Такое снижение артериального давления наблюдалось только у двух добровольцев из 19, у обоих было исходно низкое САД (106 мм рт. ст.). В среднем по мере инфузии D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина САД снижалось с 118 мм рт. ст. до 100 мм рт. ст. после введения пептида в дозе 100 мкг/кг (рис. 1, а). Максимальное снижение

Таблица 3. Влияние блокаторов опиоидных рецепторов и даларгина на частоту сердечных сокращений крыс ($M \pm m$)

Воздействие	До введения	Через 5 мин	Через 10 мин	Через 15 мин	Через 20 мин	Через 25 мин
Контроль (физраствор)	345,18 ± 5,55	338,18 ± 2,02	348,12 ± 4,61	347,54 ± 5,85	352,13 ± 3,35	356,04 ± 1,46
Налоксон	342,94 ± 5,35	323,06 ± 3,79 <i>p</i> < 0,01	320,11 ± 4,01 <i>p</i> < 0,001	335,08 ± 5,37	336,46 ± 7,18	340,18 ± 6,37
Налоксон+ даларгин	339,64 ± 6,47	332,68 ± 5,03	330,60 ± 5,02	338,39 ± 6,71	338,46 ± 6,87	328,44 ± 6,38
Налоксона метиодид	356,01 ± 3,22	368,81 ± 4,34 <i>p</i> < 0,05	352,04 ± 5,00	347,55 ± 5,43	343,18 ± 6,00	349,64 ± 6,20
Налоксона метиодид+ даларгин	351,05 ± 7,13	365,48 ± 5,17	349,53 ± 4,42	318,05 ± 6,94 <i>p</i> < 0,01	314,35 ± 3,41 <i>p</i> < 0,001	306,79 ± 3,60 <i>p</i> < 0,001
СТАР	336,37 ± 5,87	328,83 ± 4,80	315,20 ± 6,06 <i>p</i> < 0,05	320,64 ± 5,68	324,85 ± 4,79	331,34 ± 5,39
СТАР+даларгин	369,28 ± 4,26	358,86 ± 4,14	335,88 ± 6,93 <i>p</i> < 0,001	354,62 ± 3,96 <i>p</i> < 0,05	349,09 ± 3,67 <i>p</i> < 0,001	347,95 ± 3,94 <i>p</i> < 0,001
Гексаметоний	338,42 ± 4,28	306,55 ± 4,31 <i>p</i> < 0,001	315,99 ± 5,41 <i>p</i> < 0,01	321,82 ± 6,90 <i>p</i> < 0,05	328,15 ± 7,70	322,84 ± 7,07
Гексаметоний+ даларгин	346,47 ± 9,14	303,18 ± 7,80 <i>p</i> < 0,001	302,22 ± 8,6 <i>p</i> < 0,001	273,16 ± 7,00 <i>p</i> < 0,001	285,18 ± 7,90 <i>p</i> < 0,001	288,78 ± 7,50 <i>p</i> < 0,001
ICI 174,864 (0,5 мг/кг)	349,28 ± 4,36	332,84 ± 3,88 <i>p</i> < 0,01	321,92 ± 4,91 <i>p</i> < 0,001	310,17 ± 5,79 <i>p</i> < 0,001	306,45 ± 7,65 <i>p</i> < 0,001	301,84 ± 7,50 <i>p</i> < 0,001
ICI 174,864 (0,2 мг/кг)	345,96 ± 8,41	332,12 ± 6,01	319,73 ± 7,44 <i>p</i> < 0,05	302,73 ± 7,34 <i>p</i> < 0,001	295,41 ± 9,45 <i>p</i> < 0,001	300,84 ± 8,30 <i>p</i> < 0,001
Налтриндол	380,68 ± 5,08	377,16 ± 5,13	364,24 ± 5,02 <i>p</i> < 0,05	353,68 ± 4,13 <i>p</i> < 0,001	344,56 ± 4,33 <i>p</i> < 0,001	353,84 ± 5,50 <i>p</i> < 0,001

САД по времени совпадало с максимальным подъемом ЧСС. Инфузия даларгина не повлияла существенно на величину диастолического АД. Этот показатель достоверно снижался только после инфузии даларгина в дозе 27 мкг/кг. Несколько иной была динамика изменения ЧСС. Как показано на рис. 1, б, в ходе инфузии даларгина отмечалось увеличение ЧСС с 58 уд/мин исходно до 71 уд/мин после инфузии 2 мг (25 мкг/кг), затем, по мере введения даларгина происходило постепенное снижение ЧСС до 68 уд/мин (87 мкг/кг), с последующим повышением этого параметра до 75 уд/мин после инфузии даларгина в дозе 100 мкг/кг. Двойное произведение после применения опиоида увеличивается, но не столь значительно, как ЧСС (рис. 1, а). Продолжительность интервалов PQ, QRS и QT после инфузии пептида достоверно не изменялась. Плацебо (0,9 % NaCl) не оказывало достоверного эффекта на ЧСС, САД, ДАД и показатели ЭКГ.

Внутривенная инфузия даларгина изменяла и другие показатели центральной гемодинамики. Как показано на рис. 2, даларгин (75 мкг/кг) вызывал увеличение конечного диастолического объема на 7 %, конечный систолический объем, напротив, уменьшался на 11 % по сравнению с исходными показателями. При этом ударный объем увеличивался на 6 %, а фракция выброса — на 16 % по сравнению с показателями до инфузии пептида. Минутный объем кровообращения после инфузии даларгина (75 мкг/кг) увеличивался на 20 % по сравнению с исходной величиной.

Результаты выполненных исследований свидетельствуют о том, что внутривенное введение даларгина вызывает увеличение ЧСС у человека. Наряду с увеличением ЧСС после инфузии D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина обнаружено снижение САД, что косвенно свидетельствует о барорефлекторной природе увеличения ЧСС у испытуемых. Достоверных изменений продолжительности интервалов QRS, QT и PQ после инфузии даларгина не выявлено. Казалось бы, данный факт говорит о том, что этот пептид не влияет на электрофизиологические процессы в миокарде. Однако данные экспериментальных исследований свидетельствуют об обратном, о чем речь пойдет ниже.

После инфузии D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина возростала величина двойного произведения, что принято трактовать как увеличение работы, выполняемой сердечной мышцей. В пользу положительного инотропного действия D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина говорят и другие наши данные. Так, после инфузии даларгина в дозе 75 мкг/кг зафиксировано уменьшение конечного систолического объема на 11 % и увеличение фракции выброса на 16 %. Одновременно отмечается не только усиление сократимости сердца, но и улучшение процесса релаксации сердечной мышцы. В пользу подобного утверждения говорит увеличение конечного диастолического объема на 7 %.

Каков механизм гипотензивного действия даларгина? Ответ на этот вопрос дают результаты наших собственных исследований. Известно, что величина САД зависит от сердечного выброса и общего периферического сопротивления. Согласно нашим данным, минутный объем кровообращения после применения даларгина увеличивался на 20 %, а ударный объем — на 6 %, поэтому связать возникшую гипотензию с уменьшением сердечного выброса нельзя. Следовательно, снижение артериального давления после применения пептида можно объяснить только уменьшением сосудистого сопротивления. Действительно, ранее нами было показано, что курсовое введение даларгина вызывает снижение удельного периферического сопротивления [6]. Возможно, что подобное уменьшение сосудистого тонуса имеет место и в случае внутривенной однократной инфузии пептида. Следовательно, есть основания утверждать, что даларгин обладает сосудорасширяющим действием, что приводит к снижению САД. Кроме того, препарат оказывает положительный хронотропный эффект, о чем говорит увеличение ЧСС. Увеличение ударного объема свидетельствует о положительном инотропном действии пептида. Такое сочетание инотропного и хронотропного эффекта даларгина приводит к существенному повышению минутного объема.

Как показано в табл. 1, после введения даларгина величина дефектов перфузии не изменялась. Кроме того, инъекция пептида не оказывала достоверного эффекта на минимальный и средний процент аккумуляции индикатора (^{99m}Tc-myoview). Интегральный индекс дефекта перфузии, который применяется для выявления феномена “обкрадывания” [5], после инъекции даларгина также не изменялся. Данный факт может говорить о том, что D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалин не оказывает достоверного влияния на коронарную перфузию и не провоцирует появление синдрома “обкрадывания” у пациентов с инфарктом миокарда.

В ходе экспериментальных исследований, выполненных на крысах, установлено, что D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалин в дозе 100 мкг/кг вызывает у подопытных животных тахикардию уже через 10 мин после инъекции (табл. 2). При этом увеличение ЧСС исчезало только через 25 мин после инъекции. Продолжительность интервалов PQ, QRS и QT после инъекции даларгина не изменялась (данные не представлены в таблице). Как показано в табл. 2, инъекция селективного агониста δ-ОР DPDPE, напротив, вызывала снижение ЧСС на 15-й минуте после инъекции. Селективный агонист κ-ОР (-)-U-50,488 также вызывал брадикардию, которая возникала через 5 мин после инъекции и сохранялась в течение 15 мин. μ-Агонист DALDA не влиял на ритм сердечных сокращений, а μ-агонист DAMGO вызывал кратковременное снижение ЧСС (на 5-й минуте). Продолжительность интервалов PQ, QRS и QT после инъекции перечисленных опиоидов не из-

менялась (данные не представлены в таблице). Следует отметить, что все использованные нами препараты (DPDPE, (-)-U-50,488, DALDA, DAMGO) являются стандартными селективными агонистами соответствующих опиоидных рецепторов и используются в экспериментальных исследованиях. Единственным исключением является D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалин, который, согласно данным биологического тестирования *in vitro*, является преимущественным агонистом δ-ОР, который проявляет умеренное сродство к δ-ОР, но не взаимодействует с κ-ОР [15]. Результаты наших исследований свидетельствуют, что из всех агонистов ОР только даларгин вызывает увеличение ЧСС. Аналогичное увеличение ЧСС после инъекции D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина мы отмечали у животных, наркотизированных диэтиловым эфиром (данные не представлены в таблице). Складывается впечатление, что кардиоваскулярные эффекты даларгина не связаны с активацией опиоидных рецепторов. Однако аналогичное увеличение ЧСС после инъекции пептидных смешанных агонистов μ- и δ-ОР (мет- и лей-энкефалин) у бодрствующих и наркотизированных животных отмечали G. E. Sander и соавт. [17]. Разобраться в вопросе о рецепторной специфичности кардиоваскулярных эффектов даларгина мы решили, используя антагонисты опиоидных рецепторов.

Оказалось, что неселективный антагонист ОР налоксон в дозе 0,05 мг/кг полностью устраняет хронотропный эффект D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина (табл. 2). Сам налоксон в указанной дозе вызывает транзиторную брадикардию, которая исчезает через 15 мин после инъекции (табл. 3). Поскольку даларгин вводили через 10 мин после инъекции налоксона, а показатели в группе налоксон + даларгин регистрировали через 15 мин после введения антагониста, то суммацию хронотропных эффектов налоксона и даларгина можно исключить. Следовательно, обнаруженный нами положительный хронотропный эффект D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина связан с активацией опиоидных рецепторов. Мы попытались выяснить, находятся ли эти рецепторы в головном мозге или на периферии. Для этой цели мы использовали аналог налоксона — налоксона метиодид, который в отличие от налоксона не проникает через гематоэнцефалический барьер и проявляет сродство к опиоидным рецепторам в 10 – 20 раз более низкое, чем налоксон [14], поэтому мы применяли налоксона метиодид в дозе 0,5 мг/кг, что в 10 раз больше дозы налоксона. Выяснилось, что после блокады периферических опиоидных рецепторов с помощью налоксона метиодида положительный хронотропный эффект даларгина сменяется отрицательным хронотропным (табл. 2). Сам налоксона метиодид вызывает снижение ЧСС через 5 мин после инъекции, но уже через 10 мин после инъекции ритм сердечных сокращений возвращается к исходным показателям (табл. 3). Следовательно, суммацией эффектов обоих

препаратов инверсию хронотропного эффекта даларгина объяснить нельзя. Таким образом, отрицательный хронотропный эффект D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина мог быть связан с активацией центральных ОР, поскольку периферические ОР уже заблокированы налоксоном метиодидом. Однако подобная возможность представляется нам маловероятной, так как даларгин плохо проникает через ГЭБ и оказывает центральные эффекты в дозе более 20 мг/кг [1], мы же применяли этот пептид в дозе 0,1 мг/кг. Обсуждая представленные данные, мы хотели бы обратить внимание читателя на тот известный факт, что налоксон блокирует все опиоидные рецепторы, но проявляет в 15 раз большее сродство к μ-ОР, чем к δ- или κ-ОР [16]. Рецепторная специфичность налоксона метиодида изучена в меньшей степени, но полагают, что она аналогично таковой для налоксона, с той разницей, что сродство к ОР у налоксона метиодида в 10 – 20 раз ниже чем у налоксона [14]. Сопоставив эти факты, мы предположили, что налоксона метиодид в использованной нами дозе (0,5 мг/кг) блокирует только κ-ОР, а инверсия хронотропного эффекта даларгина связан с активацией δ-рецепторов, поскольку с κ-ОР этот пептид не взаимодействует [15]. Чтобы проверить эту гипотезу мы решили использовать селективные антагонисты μ- и δ-ОР.

Оказалось, что селективный антагонист μ-ОР СТАР также вызывает инверсию хронотропного эффекта D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина (табл. 2). Сам СТАР индуцирует только транзиторную брадикардию, которая исчезает через 15 мин после введения антагониста. Следовательно, снижение ЧСС, вызванное даларгином на фоне блокады μ-ОР, связано с активацией какого-то иного опиоидного рецептора. Согласно данным [3], D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалин в тестах *in vitro* может активировать μ- и δ-рецепторы, поэтому мы предположили, что инверсия хронотропного эффекта даларгина связана с активацией δ-рецепторов. Чтобы проверить это предположение, мы решили использовать селективные антагонисты δ-ОР. Однако в вопросе о применении селективных антагонистов δ-рецепторов мы столкнулись с неожиданными трудностями. Оказалось, что пептидный δ-антагонист ICI 174,864 в дозе 0,2 или 0,5 мг/кг вызывает выраженную стойкую брадикардию, которая сохраняется по меньшей мере в течение 25 мин наблюдения (табл. 3). Такой же эффект оказывал непептидный δ-антагонист налтриндол в дозе 1 мг/кг (табл. 3). Дельта-антагонист ICI 174,864 не влиял на длительность интервалов PQ, QRS, QT. Налтриндол вызвал достоверное увеличение интервала QT на 25-й минуте после инъекции (данные не представлены в таблице). Однако подобное увеличение интервала QT не было связано с замедлением реполяризации желудочков, а являлось результатом брадикардии (в пользу подобного утверждения говорит отсутствие изменений интервала QT_c).

По нашему мнению, существуют три альтернативных объяснения брадикардии, вызванной обоими селективными δ -антагонистами. Во-первых, эта брадикардия может быть связана с блокадой периферических δ -ОР, но селективный δ -агонист DPDPE также вызывал брадикардию. Следовательно, брадикардия, вызванная δ -антагонистами не может быть связана с блокадой периферических δ -ОР. Во-вторых, известно, что пептиды с трудом проникают через ГЭБ, поэтому DPDPE-индуцированная брадикардия может быть связана с активацией периферических δ -ОР, а налтриндол-индуцированная брадикардия может быть результатом блокады центральных δ -ОР. Однако пептидный δ -антагонист ICI 174,864 также вызывает брадикардию, поэтому брадикардия, вызванная δ -антагонистами, может быть результатом взаимодействия налтриндола и ICI 174,864 с какими-то периферическими рецепторами. В-третьих, поскольку названные антагонисты могут взаимодействовать с какими-то рецепторами, отличными от δ -ОР, остается только одно возможное объяснение брадикардии, вызванной этими антагонистами. На наш взгляд, налтриндол и ICI 174,864 ведут себя *in vivo* как парциальные агонисты δ -ОР. Подобный эффект у этих препаратов в литературе пока не описан, но у нас нет иного объяснения отрицательного хронотропного эффекта этих препаратов.

Является ли положительный хронотропный эффект даларгина следствием активации кардиальных опиоидных рецепторов или же увеличение ЧСС после инъекции D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина имеет рефлекторную природу? Чтобы ответить на этот вопрос, мы использовали ганглиоблокатор гексаметоний, который позволяет добиться кратковременной “химической денервации” органов и тканей. Ранее G. E. Sander и соавт. показали, что предварительное введение этого ганглиоблокатора полностью устраняет тахикардию, вызванную введением энкефалинов [17]. Оказалось, что сам гексаметоний вызывает кратковременную брадикардию, которая исчезает через 15 мин после инъекции (табл. 3). На фоне блокады периферических вегетативных ганглиев гексаметонием D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалин вызывал брадикардию (табл. 2) и увеличение длительности интервала PQ (данные не представлены в таблице), что свидетельствует о замедлении проведения возбуждения в области атриовентрикулярного узла. Как мы уже отмечали выше, гексаметоний вызывает “химическую денервацию” органов и тканей. Следовательно, есть основания полагать, что брадикардия связана с прямым действием даларгина на синусовый узел, а удлинение интервала PQ является результатом активации опиоидных рецепторов в области атриовентрикулярного узла. Это предположение согласуется с нашими ранее опубликованными данными о том, что добавление даларгина в раствор, которым перфузируют изолированное сердце, вызывает выраженное снижение ЧСС [4]. В реализации этого

отрицательного хронотропного эффекта D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина, по всей видимости, принимают участие кардиальные δ -ОР. Наши эксперименты с применением гексаметония показывают, что положительный хронотропный эффект даларгина имеет рефлекторную природу и, по всей видимости, связан с повышением активности симпатического звена вегетативной нервной системы.

На наш взгляд, с повышением активности симпатoadренальной системы связан положительный инотропный и хронотропный эффекты даларгина, отмеченные нами у пациентов с инфарктом миокарда. Известно, что активация симпатoadренальной системы приводит к повышению ЧСС и увеличению скорости проведения возбуждения в области атриовентрикулярного узла. Очевидно, оба эти эффекта маскировали прямое действие даларгина на синусовый и атриовентрикулярный узел. Сосудорасширяющий эффект D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина, на наш взгляд, может быть связан активацией синтеза NO в эндотелии артерий и вен в результате стимуляции μ -рецепторов эндотелиоцитов, как это показано для морфина [10]. Завершая обсуждение представленных данных, мы хотели бы обратить внимание читателя на одно противоречие, которое обнаружилось в ходе наших экспериментов. Так, согласно нашим данным, положительный хронотропный эффект D-Ala²-Leu⁵-Arg⁶-энкефалина связан с активацией μ -рецепторов, в то же время селективные агонисты μ -ОР DAMGO и DALDA не вызывают увеличения ЧСС, хотя мы применяли эти препараты в дозах, эквивалентных дозе даларгина. Это противоречие, по всей видимости, связано с известным полиморфизмом μ -рецепторов. Мы предполагаем, что даларгин, с одной стороны, и DAMGO, DALDA — с другой, действуют на разные подтипы μ -ОР, поэтому даларгин вызывает тахикардию, а использованные нами селективные агонисты μ -ОР — нет.

ВЫВОДЫ

1. Даларгин (0,1 мг/кг внутривенно) вызывает у человека гипотензивный, положительный инотропный и положительный хронотропный эффекты.
2. Даларгин (0,1 мг/кг внутривенно) не оказывает достоверного влияния на коронарную перфузию и не провоцирует появление “синдрома обкрадывания” у пациентов с инфарктом миокарда.
3. Положительный хронотропный эффект даларгина связан с активацией периферических опиоидных μ -рецепторов.
4. Повышение ЧСС, вызванное введением даларгина, имеет рефлекторную природу и, по видимому, является результатом повышения активности симпатического звена вегетативной нервной системы.
5. Прямое действие даларгина на миокард сопровождается снижением ЧСС и замедлением проведения возбуждения в атриовентрикулярном узле.

Работа выполнена при поддержке РФФИ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Р. Н. Аляутдин, В. Е. Петров, А. А. Иванов, и др., *Экспер. и клин. фармакол.*, **59**(3), 57 – 60 (1996).
2. Е. И. Каленикова, О. Ф. Дмитриева, Н. В. Коробов и др., *Вопр. мед. химии*, № 1, 75 – 83 (1988).
3. Н. В. Коробов, *Фармакол. и токсикол.*, № 4, 35 – 38 (1988).
4. Т. В. Ласукова, Л. Н. Маслов, Ю. К. Подоксенов и др., *Бюл. экспер. биол.*, **137**(1), 35 – 38 (2004).
5. Ю. Б. Лишманов, В. И. Чернов, *Сцинтиграфия миокарда в ядерной кардиологии*, Изд-во Том. ун-та, Томск (1997), 276 с.
6. Л. Н. Маслов, Н. А. Федорова, В. А. Дудко, Р. С. Карпов, *Клин. фармакол. и терапия*, **12**(4), 80 – 83 (2003).
7. В. М. Полонский, К. Н. Ярыгин, И. Г. Кривошеев, *Бюл. экпер. биол.*, № 4, 433 – 434 (1987).
8. М. Б. Самаренко, Ю. А. Карпов, *Бюл. ВКНЦ АМН СССР*, № 2, 96 – 98 (1983).
9. Д. С. Угдыжекова, Л. Н. Маслов, А. В. Крылатов и др. *Экспер. и клин. фармакол.*, **64**(4), 17 – 20 (2001).
10. P. Cadet, T. V. Bilfinger, C. Fimiani, et al., *Endothelium*, **7**, 185 – 191 (2000).
11. Yu. B. Lishmanov, L. N. Maslov, N. V. Naryzhnaya, and S. W. Tam, *Life Sci.*, **65**(1), PL13 – 17 (1999).
12. L. N. Maslov and Yu. B. Lishmanov, *Int. J. Cardiol.*, **40**(2), 89 – 94 (1993).
13. L. N. Maslov, Y. B. Lishmanov, N. V. Solenkova, et al., *Life Sci.*, **73**(7), 947 – 952 (2003).
14. R. J. Milne, J. M. Coddington, and G. D. Gamble, *Neurosci. Lett.*, **11**, 259 – 264 (1990).
15. N. Pencheva, J. Pospisek, L. Hauzerova, et al., *Br. J. Pharmacol.*, **128**(3), 569 – 576 (1999).
16. B. P. Roques, G. Gacel, V. Dauge, et al., *Neurophysiol. Clin.*, **20**, 369 – 387 (1990).
17. G. E. Sander, R. F. Lowe, and T. D. Giles, *Peptides*, **7**(2), 259 – 265 (1986).
18. P. W. Schiller, T. M.-D. Nguyen, I. Berezowska, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **35**, 895 – 901 (2000).
19. J. E. Shook, J. T. Pelton, W. Kazmierski, et al., *NIDA Research Monograph Series*, **76**, 295 – 301 (1986).

Поступила 04.12.07

CARDIOVASCULAR EFFECTS OF D-ALA², LEU⁵, ARG⁶-ENKEPHALIN (DALARGIN) ARE MEDIATED BY PERIPHERAL μ -OPIOID RECEPTOR ACTIVATION

L. N. Maslov¹, Yu. B. Lishmanov¹, E. I. Barzakh¹, I. V. Maksimov¹, I. N. Vorozhtsova¹, I. L. Bukhovets¹, S. M. Minin¹, E. B. Orlova¹, A. G. Lavrov¹, and M. V. Ovchinnikov²

¹ Institute of Cardiology, Tomsk Scientific Center, Siberian Division, Russian Academy of Medical Sciences, ul. Kievskaya 111, Tomsk, 634050 Russia;

² Laboratory of Peptide Synthesis, State Cardiology Research and Production Association, Ministry of Public Health, ul. Cherepkovskaya 15A, Moscow, 121552 Russia

It has been established that intravenous administration of dalargin at a dose of 0.1 mg/kg induced hypotensive, positive inotropic, and positive chronotropic response in patients with myocardial infarction, while not producing the “steal syndrome.” The positive chronotropic effect of dalargin was mediated by peripheral μ -opioid receptors. Increase in the heart rate induced by dalargin had a reflex nature. Direct action of dalargin on the heart was accompanied by a decrease in the heart rate and a delay in the cardiac conductance in the atrioventricular junction region.