

УДК 612.59 + 612.43/.45 + 612.59

©Коллектив авторов

РЕГУЛЯТОРНОЕ ВЛИЯНИЕ ОПИОИДНЫХ ПЕПТИДОВ НА АКТИВНОСТЬ АНТИОКИСЛИТЕЛЬНЫХ ФЕРМЕНТОВ И СИСТЕМУ ПРОСТАНОИДОВ В МИОКАРДЕ ПРИ СТРЕССЕ

Т.Ю. Реброва, Л.Н. Маслов, Ю.Б. Лишманов.

НИИ кардиологии СО РАМН.

634050 Томск, ул. Киевская 111а; тел.: (3822)- 262174; факс:(3822)-55-50-57;
эл. почта: maslov@cardio.tsu.ru

Шестичасовой стресс моделировали по методу Desiderato. Повреждение сердца оценивали по аккумуляции в миокарде радиоактивного ^{99}Tc -пирофосфата. Стимуляция μ и δ -опиатных рецепторов с помощью внутривенного введения $\text{Ala}^2, \text{Leu}^3, \text{Arg}^6$ -энкефалина (даларгин), неспособного проникать через гематоэнцефалический барьер, в дозе 0,1 мг/кг внутривенно перед стрессом уменьшает стресс-индуцированный захват ^{99}Tc -пирофосфата. Предварительное введение даларгина полностью устраняло стрессорное увеличение уровня конъюгированных диенов и малонового диальдегида в миокарде и предупреждало уменьшение общего содержания жирорастворимых антиоксидантов в сердце после стресса. Стресс сопровождается увеличением активности каталазы, глутатионпероксидазы, глутатион-редуктазы и уменьшением активности супероксиддисмутазы (СОД). Предварительное введение даларгина полностью устраняло стресс-индуцированное уменьшение активности СОД, но не оказывало существенного влияния на активность антиоксидантных ферментов. Кроме того, стресс вызывает увеличение содержания в миокарде тромбоксана и уменьшение уровня простациклина и простагландина Е в сердце. Предварительное введение даларгина полностью устраняет эти стрессорные изменения уровня простаноидов в сердце. Мы предполагаем, что стрессорное повреждение сердца зависит от активации процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) и изменения уровня простаноидов в сердце. Кардиопротекторный эффект даларгина во время стресса может быть опосредован через стимуляцию периферических μ - и δ -опиатных рецепторов и ингибирование процессов липопероксидации через активацию СОД и восстановление нормального уровня простаноидов в сердце.

Ключевые слова: повреждение сердца, стресс, опиатные рецепторы, перекисное окисление липидов, антиоксиданты, тромбоксан, простациклин.

ВВЕДЕНИЕ. Ежегодно от внезапной сердечной смерти в мире погибают десятки тысяч людей. [1, 2]. Далеко не всегда у них на аутопсии находят атеросклероз коронарных сосудов [1, 3, 4]. Полагают, что в данном случае первопричиной гибели организма является стресс-индуцированная электрическая нестабильность сердца, повлекшая за собой возникновение фатальной фибрилляции желудочков миокарда [3, 4]. Некоторые исследователи считают, что ведущим патогенетическим звеном такой фибрилляции желудочков являются глубокие нарушения вегетативной регуляции миокарда, вызванные тяжелым и длительным эмоциональным стрессом [3, 4]. В то же время, другие авторы полагают, что причиной стресс-индуцированной электрической нестабильности сердца могут быть тонкие молекулярные изменения в самих кардиомиоцитах,

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ДАЛАРГИНА ПРИ СТРЕССЕ

возникающие в ответ на экстремальное воздействие [5, 6]. Группой исследователей, возглавляемых проф. Ф.З. Меерсоном, была выдвинута рабочая гипотеза, согласно которой избыточная активация симпатoadренальной системы в условиях стресса может повлечь за собой развитие "липидной триады". Ее основными компонентами считаются активация липаз и фосфолипаз, увеличение интенсивности процессов ПОЛ и накопление лизофосфатидов и свободных жирных кислот, что сопровождается повреждением клеточных мембран, нарушением ионного транспорта и появлением электрической нестабильности сердца [5, 6]. Этими же исследователями было выдвинуто предположение о существовании в организме эндогенных "стресс-лимитирующих систем" (СЛС), способных ограничивать стресс-реакцию и "защищать" органы и ткани от повреждений при экстремальных воздействиях [5, 6]. Стресс-лимитирующие системы подразделяют на центральные (ГАМК-, серотонин-, дофамин-, опиатергические) и периферические (система простаноидов, адениннуклеотидов и антиоксидантов). Вопрос о взаимодействии этих систем в процессе адаптации организма к стрессу, по существу, остается открытым. Наименее изучено в этом плане влияние опиоидных пептидов на систему простаноидов (ПГ) и процессы перекисного окисления липидов в миокарде. Вместе с тем, есть основания полагать, что опиоидные пептиды играют роль центрального звена СЛС, модулирующего и координирующего реакции периферических представителей.

Ранее нами было показано, что предварительное введение экспериментальным животным синтетического энзиморезистентного аналога эндогенных энкефалинов D-Ala²,Leu⁵,Arg⁶-энкефалина (даларгина) способно предотвратить появление стресс-индуцированной электрической нестабильности миокарда и уменьшить степень мембранных повреждений сердца в указанных условиях [7]. В связи с этим, можно предположить, что указанные эффекты опиоидов могут быть обусловлены их способностью модулировать активность периферических стресс-лимитирующих систем, в частности, простагландинов и антиоксидантов.

Для того, чтобы проверить наши предположения, мы попытались оценить влияние системной активации опиатных рецепторов при помощи синтетического аналога энкефалинов – даларгина – на синтез простаноидов в ткани миокарда при стрессе, а также его эффекты на интенсивность процессов перекисного окисления липидов и активность антиокислительных ферментов в указанных условиях.

МЕТОДИКА. Эксперименты выполнены на белых крысах самцах массой 200-250 г. Стресс моделировали в течение 6 часов по методу [8], особенностью которого состоит, во-первых, в наличии конфликта между выработанным условным рефлексом избегания болевого раздражения путем ухода на платформу и безусловным болевым раздражением, возникающим во время нахождения животных на платформе, и, во-вторых, в напряженном ожидании болевого воздействия, обусловленного нанесением раздражающих импульсов через случайные промежутки времени. Пептидный агонист μ - и δ -опиатных рецепторов (ОР) D-Ala²,Leu⁵,Arg⁶-энкефалин (даларгин) [9] вводили внутривенно в дозе 0.1 мг/кг в 0,9% растворе NaCl (1 мл/кг) за 20 мин до моделирования стресса. Животные контрольной группы получали изотонический раствор в эквивалентных объемах. Степень стрессорного повреждения миокарда оценивали по проценту захвата сердечной мышцей радиоактивного пирфосфата технеция (^{99m}Tc-ПФ) [10]. Известно, что аккумуляция этого радиофармпрепарата прямо пропорциональна степени повреждения мембран кардиомиоцитов [10]. Препарат вводили внутривенно в дозе 560 МБк/кг массы тела за 1,5 часа до окончания стрессорного воздействия. Животных декапитировали под легким эфирным наркозом. Сердце выделяли из грудной клетки и отмывали от крови, после чего проводили регистрацию радиоактивности образцов сердечной мышцы на гамма-счетчике "Гамма-1" (Россия) и выражали в процентах от вводимой дозы на грамм ткани.

В образцах миокарда проводили определение активности антиоксидантных ферментов: супероксиддисмутазы (КФ 1.15.1.11), каталазы (КФ 1.11.1.6), глутатионпероксидазы (КФ 1.11.1.9) (ГП) [11] и глутатионредуктазы (ГРКФ 1.6.4.2.) [12]. Активность супероксиддисмутазы (СОД) оценивали по способности гомогенатов ткани миокарда ингибировать спонтанное окисление адреналина в щелочной среде ($\text{pH}=10,2$) и выражали в ммоль/мин/мг белка [13]. В качестве стандарта использовали очищенный препарат СОД ("ICN Biomedicals", США). Каталазную активность исследуемых образцов определяли спектрофотометрически и выражали в ммоль/мин/г белка [14]. Липиды из ткани сердца экстрагировали по методу Folch и соавт. [15]. Общую антиокислительную активность (ОАА) липидных экстрактов оценивали по методу Glevind [16]. О содержании первичных продуктов ПОЛ - диеновых конъюгатов (ДК) судили по характерному для них поглощению при длине волны 232 нм [17]. Содержание малонового диальдегида (МДА) в миокарде определяли по методу Jagi [18].

Радиоиммунному определению содержания простаноидов предшествовала процедура их экстракции из опытных образцов миокарда. Простаноиды из ткани миокарда экстрагировали по методу Jaffe и соавт. [19]. В экстрактах миокарда радиоиммунохимическим методом с помощью стандартных наборов "Izinta" (Венгрия) проводили определение простаглицина (ПЦ), тромбоксана A_2 (TxA_2) и простаглицина Е (ПГЕ). О содержании ПЦ и TxA_2 судили по уровню их стабильных метаболитов 6-кето-простаглицина F_1 и тромбоксана B_2 .

Даларгин был синтезирован в лаборатории синтеза пептидов Российского кардиологического научно-производственного комплекса МЗ РФ. Все химические реагенты, использованные для определения активности ферментов и антиокислительной активности липидов, были закуплены в компании "ICN Biomedical Research Products" (США). Для экстракции липидов использовали хлороформ отечественного производства и метанол компании "ЛАХЕМА" (Чехия).

Статистическую обработку результатов исследования производили с использованием t-критерия Стьюдента.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ. Моделирование 6-часового стресса сопровождалось достоверным усилением аккумуляции $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ПФ в кардиомиоцитах животных контрольной группы по сравнению с интактными особями (рисунок). Согласно данным литературы, накопление $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде коррелирует с развитием повреждений кардиомиоцитов и повышением проницаемости сарколеммы для Ca^{2+} [20], поэтому подъем содержания $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -ПФ в миокарде рассматривается в качестве индикатора стрессорной деструкции клеток сердца [10].

Согласно известной гипотезе проф. Ф.З. Меерсона, триггером подобных деструктивных изменений мембранного аппарата кардиомиоцитов является стресс-индуцированная гиперсекреция катехоламинов, которая приводит к активации адренорецепторов на сарколемме и увеличению концентрации ионов кальция $[\text{Ca}]_i$ в миоплазме кардиомиоцитов [5]. Избыток $[\text{Ca}^{2+}]_i$ обеспечивает инициацию "липидной триады", в процессе развития которой наблюдается активация липаз и фосфолипаз, увеличение интенсивности процессов ПОЛ и накопление лизофосфатидов и свободных жирных кислот, которые оказывают детергентное действие на клеточные мембраны [5].

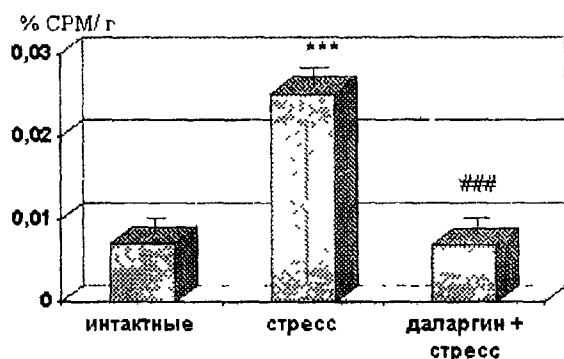
Об активации процессов ПОЛ в миокарде животных, подвергшихся стрессу, свидетельствует увеличение содержания продуктов пероксидации липидов - ДК на 65% и МДА на 152% относительно показателей в интактной группе (табл 1), которые, по всей видимости, и вызывают необратимые повреждения кардиомиоцитов [21].

Одновременно с увеличением накопления продуктов ПОЛ в ткани сердца было отмечено повышение активности антиокислительных ферментов. Так, активность каталазы увеличилась на 23%, глутатионпероксидазы - на 18%, а глутатионредуктазы - на 27% относительно аналогичных показателей в группе интактных животных (табл 1). В то же время, моделирование стресса приводило

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ДАЛАРГИНА ПРИ СТРЕССЕ

к снижению активности СОД в 1,3 раза. Антиокислительная активность липидных экстрактов ткани миокарда уменьшалась в два раза.

Возможно, что указанные стрессорные нарушения антиоксидантной системы кардиомиоцитов возникают в результате избыточного образования свободных радикалов, которые, в свою очередь, обуславливают быстрый расход таких



Рисунок

Влияние предварительного введения даларгина на степень стрессорного повреждения миокарда крыс

Примечания: *** - достоверность отличий от показателей в группе интактных животных ($p < 0,001$).

- достоверность различий относительно показателей в группе стресс-контроля ($p < 0,001$)

Таблица 1 Влияние предварительного введения даларгина на показатели, характеризующие процессы перекисного окисления липидов в миокарде стрессированных животных

Группа животных	Интактные животные n = 12	6 часов ЭБС n = 12	Даларгин + 6 часов ЭБС n = 12
Показатель			
МДА нмоль/г ткани	$0,65 \pm 0,03$	$1,64 \pm 0,12$ ***	$0,56 \pm 0,02$ ###
ДК ΔE_{232} /г ткани	$0,41 \pm 0,02$	$0,68 \pm 0,05$ *	$0,49 \pm 0,05$ #
ОАА пмоль ГХ/ мг липидов	$2,31 \pm 0,23$	$0,98 \pm 0,08$ **	$1,99 \pm 0,18$ #*
СОД ммоль/мин/мг белка	$9,26 \pm 0,08$	$6,95 \pm 0,07$ *	$9,79 \pm 0,07$ #
Каталаза ммоль/мин /г белка	$11,93 \pm 0,62$	$14,75 \pm 0,74$ **	$11,93 \pm 0,62$ ##
ГП Ед /г белка	$0,67 \pm 0,05$	$0,79 \pm 0,07$	$0,69 \pm 0,08$
ГР Ед /г белка	$0,95 \pm 0,08$	$1,21 \pm 0,27$	$1,20 \pm 0,09$

Примечания: * - достоверность отличий от показателей в группе интактных животных ($p < 0,05$), ** - $p < 0,01$, *** - $p < 0,001$, # - достоверность различий относительно показателей в группе стресс-контроля ($p < 0,05$), ## - $p < 0,01$, ### - $p < 0,001$. Здесь и в табл. 2 n - количество животных в группе.

жирорастворимых антиоксидантов, как α -токоферол и убихинон [21]. Кроме того, согласно данным литературы, активные формы кислорода и гидроперекиси липидов могут вызывать ингибирование СОД, воздействуя на активный центр этого фермента [22]. Увеличение ферментативной активности каталазы, глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы, на наш взгляд, носит компенсаторно-приспособительный характер и является ответной реакцией антиоксидантной системы кардиомиоцитов на увеличение образования гидроперекисей липидов. К сожалению, подобная реакция, по всей видимости, не

может компенсировать снижения активности СОД и ОАА липидов, поскольку, как известно, глутатионзависимые ферменты отвечают в клетке за утилизацию гидропероксидов липидов и влияют на нейтрализацию супероксиданиона кислорода ($O_2^{\cdot-}$), образующегося при деградации адреналина. Таким образом, в условиях снижения активности СОД процессы образования $O_2^{\cdot-}$ становятся неконтролируемыми, вследствие чего может происходить увеличение образования гидропероксидов липидов и нарушение целостности липидных структур клетки.

Процессы пероксидации липидов в клеточных мембранах взаимосвязаны с каскадом синтеза простаноидов [23]. Согласно литературным данным, некоторые простагландины могут оказывать регуляторное влияние на адренергическую активацию процессов ПОЛ, ограничивая выход катехоламинов из надпочечников и симпатических терминалей в миокарде [24]. В свою очередь, пероксидация липидов также может оказывать влияние на синтез простагландинов [5].

Определение содержания простаноидов в образцах миокарда стрессированных крыс показало, что развитие стресс-реакции сопровождается увеличением содержания TxA_2 в 1,6 раза по сравнению с группой интактных животных (табл. 2). Содержание функционального антагониста TxA_2 – простациклина в ткани сердца, напротив, снизилось в 1,3 раза (табл. 2). Соответственно при моделировании стресса индекс ПЦ/ TxA_2 уменьшился в 1,5 раза по отношению к данному показателю у интактных особей. В процессе развития стрессорного ответа не было отмечено изменений содержания в миокарде ПГЕ (табл. 2).

Предполагают, что одним из главных механизмов усиления образования TxA_2 из арахидоновой кислоты в условиях стресса является адренергическая активация фосфолипазы A_2 и тромбоксансинтетазы [5]. В то же время, образующиеся в избытке при стрессе перекиси жирных кислот являются мощными ингибиторами ПЦ-синтетазы [25], следствием чего, по-видимому, и является снижение уровня ПЦ в образцах миокарда, отмеченное нами в группе стресс-контроля. Выявленное нами уменьшение индекса ПЦ/ TxA_2 в ответ на экстремальное воздействие может косвенно свидетельствовать о превалировании эффектов TxA_2 над эффектами ПЦ.

Известно, что TxA_2 обладает вазоконстрикторными свойствами и способствует повреждению кардиомиоцитов в процессе развития острого инфаркта миокарда [26]. Простациклин, являющийся физиологическим антагонистом тромбоксана, оказывает кардиопротекторный эффект при ишемии миокарда [27]. Таким образом,

Таблица 2. Влияние предварительного введения даларгина на синтез простагландинов в миокарде при стрессе.

Группа животных Исследуемый показатель	интактные животные n=12	Стресс-контроль n=12	даларгин + стресс n=12
Простациклин (пг/мг ткани)	32,2 ± 1,9	24,8 ± 3,3 $p_1 < 0,05$	56,5 ± 2,1 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$
Тромбоксан A_2 (пг/мг ткани)	6,3 ± 0,4	9,8 ± 0,8 $p_1 > 0,05$	6,9 ± 0,3 $p_1 > 0,05$ $p_2 < 0,01$
ПЦ/ TxA_2 (усл.ед.)	4,8 ± 0,8	2,5 ± 0,9 $p_1 < 0,01$	8,1 ± 0,9 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,001$
ПГЕ (пг/мг ткани)	892,4 ± 94,3	885,5 ± 51,6 $p_1 > 0,05$	1245,8 ± 65,0 $p_1 < 0,01$ $p_2 < 0,01$

Примечания: p_1 - достоверность различий относительно группы интактных животных; p_2 - достоверность различий по отношению к группе животных, подвергшихся стрессу.

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ДАЛАРГИНА ПРИ СТРЕССЕ

смещение баланса ПШ/ТхА₂ в сторону тромбосана, можно рассматривать как один из факторов патогенеза стрессорного повреждения сердца [5].

Стимуляция μ - и δ -опиатных рецепторов при помощи даларгина способствовала повышению резистентности сердца к повреждающему действию тяжелого стресса, о чем свидетельствует достоверное, по сравнению с группой контроля, снижение накопления кардиомиоцитами меченного технецием пирофосфата (рисунок), являющегося индикатором деструкции сарколеммы клеток миокарда [10]. Полученные нами экспериментальные данные дают основания считать, что стимуляция опиатных рецепторов способствует ограничению стресс-индуцированных повреждений миокарда.

Причиной подобного опиатергического повышения толерантности миокарда к стрессорным повреждениям может быть ограничение интенсивности процессов пероксидации липидов, на что указывает снижение накопления МДА и ДК в миокарде животных, получавших перед стрессом даларгин (табл. 1).

Стимуляция опиатных рецепторов с помощью введения даларгина предупреждает стрессорное снижение активности СОД и общей антиокислительной активности липидов в ткани миокарда (табл.1). Такая стимуляция антиоксидантных систем может способствовать ингибированию процессов пероксидации липидов и, тем самым, повышать толерантность миокарда к патогенному действию стресса. Активность каталазы в сердцах животных опытной группы не отличалась от контрольных значений до стресса. Изменений активности глутатионпероксидазы и глутатионредуктазы в сердцах животных этой группы нами отмечено не было (табл. 1).

До настоящего времени остается открытым вопрос о механизмах опиатергической стимуляции антиокислительных систем клетки. Сопоставление литературных данных о регуляторном влиянии NO на активность миокардиальной СОД [28] и сведений о способности опиоидов стимулировать синтез NO в изолированных препаратах сердца [29] позволило нам предположить, что оксид азота может принимать участие в реализации индуцированного даларгином повышения активности данного фермента в условиях стресса. В пользу данного предположения свидетельствует и тот факт, что предварительная блокада NO-синтазы при помощи L-NAME устраняла δ -ОР-опосредованное повышение активности СОД в препаратах изолированного сердца крысы в условиях активации свободнорадикальных процессов [30]. Следовательно, опиатергическая активация NO-синтазы может быть тем триггером, который способствует повышению активности СОД и обеспечивает защиту миокарда от патогенного действия стресса. Вместе с тем, остается неизвестным механизм опиоид-индуцированного повышения ОАА липидов миокарда.

Возможно, что в основе способности даларгина ограничивать активацию ПОЛ лежит антиадренергический эффект этого пептида [31]. Так, следуя гипотезе о ключевой роли катехоламинов в патогенезе стрессорного повреждения миокарда [5], можно предложить, что повышение устойчивости мембран кардиомиоцитов к стрессу после активации опиатных рецепторов, является результатом ограничения выброса катехоламинов из надпочечников и адренергических терминалей сердца [7, 31]. Установлено, что кардиопротекторное действие опиоидных пептидов в условиях стресса зависит от их способности супрессировать повышение активности симпатoadреналовой системы [7]. Результатом подобного антиадренергического действия опиоидов может быть снижение мобилизации эндогенных катехоламинов и, соответственно, исчезновение причин, обуславливающих развитие "липидной триады", о которой в свое время писал проф. Ф.З. Меерсон [5]. Конечным результатом подобной последовательности событий может быть снижение интенсивности свободнорадикальных процессов в миокарде и повышение резистентности сердца к патогенному действию стресса.

Вместе с тем, результаты наших исследований свидетельствуют, что в реализацию кардиопротекторных свойств даларгина при стрессе определенный

вклад вносит не только повышение активности антиоксидантов, но и модуляция процессов биосинтеза простагландинов. Так, инъекция даларгина, предшествующая моделированию стресса, сопровождалась достоверным увеличением в 2,1 раза содержания простаглицлина и снижением в 1,3 раза уровня тромбоксана A_2 в ткани миокарда. При этом индекс ПЦ/Тх A_2 увеличился с 3,88 усл. ед. при стрессе до 8,14 усл. ед. в опытной группе (табл. 2). Введение даларгина сопровождалось так же увеличением в 1,5 раза содержания простаглицлина Е в миокарде по отношению к группе стрессированных животных.

Представленные данные позволяют думать, что в основе обнаруженного положительного эффекта даларгина на синтез простаглицлина лежит его способность предупреждать повышенное образование продуктов ПОЛ, являющихся, как отмечалось выше, ингибиторами простаглицлинсинтетазы [25]. В свою очередь, увеличение уровня ПЦ в ткани сердца может способствовать повышению толерантности кардиомиоцитов к действию активных форм кислорода, поскольку показана способность простаглицлина подавлять процессы ПОЛ [32]. Вместе с тем, остаются неясными механизмы энкефалинергического ингибирования синтеза тромбоксана. Усиление синтеза ПГЕ под влиянием даларгина также оказывает позитивное влияние на толерантность миокарда в условиях стресса, поскольку показана способность ПГЕ уменьшать выход катехоламинов из симпатических терминалей [33].

Таким образом, выполненные эксперименты показали, что стимуляция опиатных рецепторов с помощью системного введения D-Ala²,Leu⁵,Arg⁶-энкефалина приводит к повышению активности СОД, снижению интенсивности перекисидации липидов в ткани миокарда, а так же повышению уровня простаглицлина и простаглицлина Е и снижению содержания тромбоксана A_2 . Отмеченные эффекты даларгина могут лежать в основе его кардиопротекторного действия в условиях стресса.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований. Авторы выражают признательность проф. М.В. Овчинникову и Э.Ю. Лопотухину за предоставленный для работы даларгин.

ЛИТЕРАТУРА.

1. Козловский В.И. (1996) Кардиология, **36**(10), 76-78.
2. Oakley C. (1991) Am. J. Cardiol., **67**, 26C-28C.
3. Lown B., and Verrier R.L. (1976) N. Engl. J. Med., **294**, 1165-1169.
4. Lown B., DeSilva R.A., and Lenson R (1978) Am. J. Cardiol., **41**, 979-985.
5. Меерсон Ф.З. (1984) Патогенез и предупреждение стрессорных и ишемических повреждений сердца, Медицина, Москва.
6. Меерсон Ф.З., Мальшиев И.Ю. (1993) Феномен адаптационной стабилизации структур и защита сердца. Наука. Москва.
7. Нарыжная Н.В., Маслов Л.Н., Ревинская Ю.Г., Лишманов Ю.Б. (1998) Росс. физиол. журн. им. И.М Сеченова., **84**, 791-797.
8. Desiderato O., VcKinnon J., and Hisson H. (1974) J. Comp. Physiol., **87**, 208-211.
9. Коробов Н.В. (1988) Фармакол. токсикол., № 4, 35-38.
10. Miller D.G., and Malloy S. (1977) Pharm. Biochem. Behav., **7**, 139-145.
11. Little C., and O'Brien P.J. (1968) Biochem. Biophys. Res. Commun., **31**, 145-151.
12. Carlberg G., and Mannervi C.B. (1975) J. Biol. Chem., **250**, 5475-5480.
13. Брусков О.С., Герасимов А.М., Панченко Л.Ф. (1976) Бюлл. exper. биол. мед., №1, 33-34.
14. Королюк М.А., Иванова Л.И., Майорова И.Г. (1988) Лаб. дело, №1, 16-19.
15. Folch J., Lees M., and Sloane Stanley G.H. (1957) J. Biol. Chem., **226**, 497-509.
16. Glevind V. (1963) Acta Chem. Scand., **17**, 1635-1640.
17. Bolland J.L. and Koch U.P. (1945) J. Chem. Soc., **7**, 445.
18. Jagi K. (1976) Biochem. Med., **15**, 212-216.

КАРДИОПРОТЕКТОРНЫЙ ЭФФЕКТ ДАЛАРГИНА ПРИ СТРЕССЕ

19. Jaffe B.M. and Berman H.R. (1979) Methods of Hormone Radioimmunoassay, New York, p. 19-42.
20. Chien K.R., Reeves J.P., Buja L.M. et al. (1981) Circ. Res. **48**, 711-719.
21. Владимиров Ю.А., Азизова О.А., Деев А.И., Козлов А.В., Осипов А.Н., Роцупкин Д.И. (1991) Свободные радикалы в живых системах, ВИНТИ, Москва.
22. Гудзь Т.И., Пешкова Е.Г., Гончаренко Е.Н. (1982) Радиобиология, №5, 674-677.
23. Herbaczynska-Cedro K., and Gordon-Majszak W. (1986) Pharmacol. Res. Commun., **18**, 321-332.
24. Небольсина Л.И. (1982) Патол. физиол. exper. тер., № 6, 48-50.
25. Moncada S., and Vane J.R. (1981) Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci., **294**, 305-329.
26. Tada M., Hochiba S., Kusuya T., Inoue B., Minamino T., and Abe H. (1985) Int. J. Cardiol., **8**, 301-312.
27. Darius H., Osbonde J.A., Reibel D.K., and Lefer A.M. (1987) J. Moll. Cell. Cardiol., **19**, 243-250.
28. Yang B.C., and Mechta J.L. (1997) Life Sci., **61**, 229-236.
29. Bilfinger T.V., Salzet M., Fimiani C., Deutsch D.G., Tramu G., and Stefano G.B. (1998) Int. J. Cardiol., **64**(1.1), 15-22.
30. Реброва Т.Ю., Маслов Л.Н., Лешманов А.Ю., Там С.В. (2001) Биохимия, **66**, 520-528.
31. Лешманов А.Ю., Кондратьев Б. Ю. (1995) Физиол. журн., **81**(5), 77-85.
33. Ефимов В.В., Ладный А.И. (1986) Патол. физиол. exper. тер., №1, 14-16.
34. Пшеничкова М.Г. (2000) Патол. физиол. exper. тер., №1, 24-31.

Поступила 05.06.2003

REGULATORY INFLUENCE OF OPIOID PEPTIDES ON THE ACTIVITY OF ANTIOXIDANT ENZYMES AND PROSTANOID SYSTEM IN MYOCARDIUM DURING STRESS

T.Yu. Rebrova, L.N. Maslov, Yu.B. Lishmanov

Institute of Cardiology, Kievskaya 111a, Tonisk, 634050 Russia.

e-mail: maslov@cardio.tsu.ru

The six hour stress in rats was modeled by the method of O. Desiderato. Cardiac damage was estimated by myocardial uptake of radioactive ⁹⁹Tc-pyrophosphate. Intravenous administration of mixed mu and delta opioid receptor agonist, D-Ala²,Leu⁵,Arg⁶-enkephalin (dalargin), (non-penetrating through the blood brain barrier) at a dose of 0.1 mg/kg before stress decreased stress-induced ⁹⁹Tc-pyrophosphate uptake. Pretreatment with dalargin completely abolished the stress-induced increase in conjugated dienes and malondialdehyde levels in myocardium and prevented a decrease in total lipid soluble antioxidant levels in the heart after stress exposure. Stress is accompanied by an increase in activity of catalase, glutathione peroxidase, glutathione reductase and a decrease in activity of superoxide dismutase (SOD). Pretreatment with dalargin completely reversed stress-induced decrease in SOD activity but had minor effect on the activity of other antioxidant enzymes. Stress also resulted in an increase in myocardial content of thromboxane and a decrease in prostacycline and prostaglandin E levels in the heart. Pretreatment with dalargin completely eliminated these stress-induced changes in myocardial prostanoid levels. We propose that stress-induced heart injury depends on the activation of lipid peroxidation processes and changes in the prostanoid levels in the heart. Cardioprotective effect of dalargin during stress may be mediated via peripheral mu and delta opioid receptor stimulation and an inhibition of lipid peroxidation processes through SOD activation and also a recovery of normal prostanoid levels in the heart.

Key words: heart damage, stress, opioid receptors, lipid peroxidation, antioxidants, thromboxane, prostacycline