

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ
УЧРЕЖДЕНИЕ «НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ФАРМАКОЛОГИИ ИМЕНИ В.В. ЗАКУСОВА»

На правах рукописи

МИРОШКИНА ИРИНА АЛЕКСАНДРОВНА

**ОЦЕНКА КАРДИОПРОТЕКТИВНЫХ СВОЙСТВ ФАБОМОТИЗОЛА
НА МОДЕЛЯХ ИНФАРКТА МИОКАРДА И АЛКОГОЛЬНОЙ
КАРДИОМИОПАТИИ**

3.3.6. Фармакология, клиническая фармакология

Диссертация

на соискание ученой степени кандидата биологических наук

Научный руководитель:

доктор медицинских наук

Крыжановский Сергей Александрович

Научный консультант:

доктор медицинских наук, профессор, член-корр. РАН

Дурнев Андрей Дмитриевич

Москва - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ	4
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ	12
1.1. Структура сигма-1 рецепторов (σ_1 -R)	14
1.2. Внутриклеточная локализация и транслокация σ_1 -R	16
1.3. Роль σ_1 -R в регуляции функциональной активности кардиомиоцитов.....	19
1.4. Влияние блокады σ_1 -R на функциональную активность сердца	33
1.5. Роль σ_1 -R в кардиопротекции	39
1.6. Влияние фабомотизола на систему кровообращения	43
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ	48
2.1. Экспериментальные животные	48
2.2. Препараты и реактивы	49
2.3. Методы моделирования коронарогенного повреждения миокарда	50
2.3.1. Моделирование инфаркта миокарда	55
2.3.2. Моделирование хронической сердечной недостаточности	51
2.4. Метод моделирования некоронарогенного повреждения миокарда	52
2.5. Морфологические исследования	52
2.6. Молекулярно-биологические исследования	53
2.7. Электрофизиологические исследования	55
2.8. Оценка уровня поврежденности ДНК в клетках миокарда крыс	55
2.9. Статистическая обработка результатов	57
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ	59
3.1 Изучение морфологических особенностей и молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола при коронарогенном повреждении миокарда	59
3.1.1 Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с острым инфарктом миокарда	59

3.1.2. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с подострым инфарктом миокарда	67
3.1.3. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с хронической сердечной недостаточностью.....	75
3.1.4. Изучение механизмов кардиопротективного действия фабомотизола при коронарогенном повреждении миокарда.....	90
3.1.4.1. Изучение молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с хронической сердечной недостаточностью.....	90
3.1.4.2. Изучение влияния фабомотизола на уровень поврежденности ДНК в миокарде у крыс, перенесших острый инфаркт миокарда.....	92
3.1.5. Обсуждение результатов.....	95
3.2. Изучение особенностей кардиопротективного действия фабомотизола при некоронарогенном повреждении миокарда.....	103
3.2.1. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с алкогольной кардиомиопатией	103
3.2.2. Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола при некоронарогенном повреждении миокарда	114
3.2.2.1 Изучение влияния фабомотизола на порог электрической фибрилляции сердца у крыс с алкогольной кардиомиопатией.....	114
3.2.2.2 Изучение молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с алкогольной кардиомиопатией	116
3.2.2.3. Изучение влияния фабомотизола на уровень поврежденности ДНК в миокарде у крыс с алкогольной кардиомиопатией	118
3.2.4. Обсуждение результатов.....	122
ЗАКЛЮЧЕНИЕ	128
ВЫВОДЫ	132
ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ.....	133
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	134
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	138

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

По данным Минздрава (МЗ) России, среди всех причин смертности болезни системы кровообращения (БСК), несмотря на определенную положительную динамику, занимают лидирующее положение и на 2018 год составили 46,3%. Так, в 2014 г. смертность от БСК составила 623,7 случаев на 100 тыс. В 2019 г. летальность от БСК продолжала расти и составила 633,0 случаев на 100 тыс. населения [58]. За 6 месяцев 2020 года (январь-июнь) в РФ от COVID-19 умерли 7 317 человек, больных с COVID-19 от других причин – 5 825 человек. За это же время от острого коронарного синдрома (ОКС) скончались 39 985 россиян, от ишемической болезни сердца (ИБС) – 220 719 человек [63].

Согласно анализу, проведенному национальным медицинским исследовательским центром профилактической медицины, экономический ущерб от БСК составил 2,7 трлн. руб., что эквивалентно 3,2% ВВП [11]. Одним из факторов является недостаточная эффективность существующих средств фармакотерапии.

Поиск новых кардиотропных лекарственных средств и изучение кардиопротективного действия препаратов, используемых в клинической практике по другим показаниям, остается актуальной задачей.

Синтезированный и фармакологически изученный в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова под руководством академика РАН С.Б. Середенина оригинальный анксиолитик фабомотизола дигидрохлорид (афобазол) предотвращает стресс-индуцированное снижение связывания в бензодиазепиновом участке ГАМК-рецептора [46], обладает сродством к сигма-1 рецепторам (σ_1 -R), MT_1 - и MT_3 -мелатониновым рецепторам, подавляет активность [48] моноаминоксидазы А (МАО-А). При изучении спектра фармакологической активности фабомотизола было показано, что препарат помимо анксиолитического, обладает антимуtagenным [7] и цитопротекторным, в частности нейропротекторным [10, 94], и кардиопротективным [13] действием,

которое во многом связано с его сродством к σ_1 -R. При изучении кардиопротективной активности фабомотизола было показано, что препарат проявляет антиаритмическую, противофибрилляторную [57] и антиишемическую активность [12], что дает основание говорить о потенциальной возможности его применения в качестве кардиотропного лекарственного средства.

Степень разработанности проблемы

В НИИ фармакологии имени В.В. Закусова в течение многих лет проводятся исследования, посвященные изучению спектра и механизмов фармакологической активности фабомотизола. Показано, что препарат в условиях глобальной преходящей ишемии мозга, а также сочетанной ишемической патологии сердца и мозга вызывает усиление мозгового кровотока [52,29], обладает цитопротекторным, в частности нейропротекторным [10,29,94], и кардиопротективным [13] действием. При изучении кардиопротективной активности фабомотизола было показано, что препарат проявляет антиаритмическую, противофибрилляторную [57] и антиишемическую активность [12]. Кардиотропное действие фабомотизола реализуется и у животных с денервированным миокардом [56], т.е. на уровне сердечной мышцы. В основе кардиопротективного действия препарата лежит его агонистическое влияние в отношении σ_1 -R, поскольку на фоне блокады рецепторов таковое не реализуется [13]. Вместе с тем, систематические исследования, посвященные изучению морфологических особенностей и молекулярных механизмов кардиопротективного действия анксиолитика фабомотизола, выполненные на трансляционных моделях, воспроизводящих основные клинико-диагностические критерии какой-либо патологии сердца, до настоящего времени не проводились.

Цель исследования

Морфологическая характеристика и оценка молекулярных и генопротекторных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на моделях коронарогенного и некоронарогенного повреждения миокарда.

Задачи исследования

1. Морфологическая оценка особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на моделях острого и подострого инфаркта миокарда.

2. Морфологическая оценка особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на модели хронической сердечной недостаточности.

3. Изучение молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на модели хронической сердечной недостаточности.

4. Морфологическая оценка особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на модели алкогольной кардиомиопатии в сравнении с триметазидином.

5. Изучение электрофизиологических и молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на модели алкогольной кардиомиопатии.

6. Изучение эффектов фабомотизола методом ДНК-комет на поврежденность ДНК в кардиомиоцитах на моделях инфаркта миокарда и алкогольной кардиомиопатии.

Научная новизна

Впервые на моделях острого и подострого инфаркта миокарда показано, что фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 15 дней) уменьшает зону некроза, стимулирует ангиогенез в периинфарктной зоне, способствует сохранению

структуры кардиомиоцитов (КМ) и препятствует развитию патологического ремоделирования левого желудочка (ЛЖ) сердца.

Впервые на трансляционных моделях хронической сердечной недостаточности (ХСН) и алкогольной кардиомиопатии (АКМП) выявлены морфологические особенности кардиопротективного действия фабомотизола (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней).

Показано, что фабомотизол в условиях ХСН препятствует нарушению структурной целостности КМ, способствует обратному ремоделированию миокарда, снижает экспрессию генов рецепторов ангиотензина и вазопрессина, регуляторных белков Ерас2, а также повышает уровень экспрессии гена σ_1 -R в КМ.

Фабомотизол, как и триметазидин, в условиях АКМП снижает интенсивность жировой дистрофии миокарда, способствует восстановлению структурной целостности КМ и уменьшает степень патологического ремоделирования сердца. Фабомотизол на модели АКМП восстанавливает электрическую стабильность КМ и подавляет в КМ экспрессию генов инозитол-трифосфатных рецепторов 2-типа (IP3R2), рианодиновых рецепторов 2-типа (RyR2), регуляторных белков Ерас1 и Ерас2, кальмодулина (CaM).

Впервые показана способность фабомотизола снижать выраженность ДНК-повреждений в КМ животных с экспериментальной патологией миокарда.

Теоретическая и практическая значимость работы

Теоретическая значимость работы обусловлена морфологическим подтверждением кардиопротекторного действия фабомотизола в моделях острого и хронического коронарогенного, а также некоронарогенного повреждения миокарда. Полученные данные о влиянии на экспрессию генов рецепторов и регуляторных белков в КМ в условиях экспериментальной патологии миокарда расширяют представления о молекулярных механизмах кардиопротекторного действия фабомотизола.

Результаты исследования могут составить основу для расширения показаний применения фабомотизола в клинической практике.

Методология и методы исследования

В настоящей работе использована методология моделирования острого и хронического коронарогенного, а также некоронарогенного повреждения миокарда с применением фармакологических, гистологических, морфометрических, электрофизиологических, генотоксикологических и молекулярных методов исследования.

Связь темы диссертации с научными планами института

Исследования были начаты в рамках НИР ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» «Поиск и изучение средств коррекции цереброваскулярных расстройств и регуляции функций сердца» и продолжены в рамках НИР «Поиск фармакологических мишеней для создания инновационных кардио- и ангиотропных лекарственных средств» № 0521-2019-0005.

Положения, выносимые на защиту

1. Фабомотизол на модели инфаркта миокарда защищает кардиомиоциты от ишемического поражения и препятствует развитию патологического ремоделирования сердца.

2. Фабомотизол на модели хронической сердечной недостаточности способствует восстановлению структурной целостности кардиомиоцитов и значительно уменьшает степень патологического ремоделирования сердца.

3. Фабомотизол в условиях модели хронической сердечной недостаточности уменьшает повышенную экспрессию генов рецепторов ангиотензина и

вазопрессина, регуляторных белков Ерас2, а также повышает уровень экспрессии гена σ_1 -R в КМ.

4. Фабомотизол, как и триметазидин, понижает интенсивность жировой дистрофии миокарда, способствует восстановлению структурной цельности кардиомиоцитов и уменьшает степень патологического ремоделирования сердца на модели алкогольной кардиомиопатии.

5. Фабомотизол на модели алкогольной кардиомиопатии способствует восстановлению электрической стабильности кардиомиоцитов и подавляет в кардиомиоцитах повышенную экспрессию инозитол-трифосфатных рецепторов 2-типа (IP_3 -R2), рианодиновых рецепторов 2-типа (RyR2), регуляторных белков Ерас1 и Ерас2, кальмодулина (CaM).

6. Фабомотизол в условиях коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда оказывает генопротективное действие.

Степень достоверности и апробация работы

В настоящей работе были использованы адекватные и хорошо воспроизводимые методы исследования, соответствующие поставленным задачам. Статистическая обработка экспериментальных данных была проведена с применением современных методов математической статистики, что обеспечивает высокую степень достоверности полученных результатов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на IV съезде фармакологов России «Инновации в современной фармакологии» (Россия, Казань, 18-23 сентября, 2012), Первой Всероссийской Научно-практической конференции молодых учёных «Проблемы разработки новых лекарственных средств» (Россия, Москва, 3-5 июня 2013), Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова «Достижения современной фармакологической науки» (Россия, Рязань, 22-23 октября, 2015), 6-й Международной конференции «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам» (Россия,

Москва, 9-13 ноября, 2015), II Всероссийской научной конференции «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты», (Россия, Томск, 13 – 15 июня 2017), V съезде фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств» (Россия, Ярославль, 14 – 18 мая, 2018), Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки» (Россия, Рязань, 8-10 ноября, 2018). Аprobация диссертационной работы состоялась на расширенном заседании отдела лекарственной токсикологии и лаборатории фармакологического скрининга ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова» 5 октября 2022.

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 29 научных работ, из них 11 статей в рецензируемых научных журналах, рекомендованных ВАК Минобрнауки РФ, 4 статьи в журнале, входящем в РИНЦ, 1 патент РФ и 13 тезисов докладов в материалах научных конференций и съездов.

Личный вклад соискателя

Личный вклад автора состоит в анализе данных литературы по теме диссертационной работы, выполнении экспериментальной части исследования и анализа полученных результатов, проведении статистической обработки полученных данных, формулировании положений и выводов, написании диссертационной работы. При активном участии соискателя подготовлены публикации по результатам работы.

Объем и структура работы

Диссертация состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов, главы результатов и их обсуждения, заключения, выводов, практических рекомендаций, и списка цитируемой литературы, включающего 271 источник. Работа изложена на 173 страницах компьютерного текста, содержит 48 рисунков и 8 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

Открытые Martin W.R. в 1976 году сигма рецепторы (σ -R) изначально рассматривали как один из подтипов опиоидных рецепторов [168]. Однако позднее было показано, что σ -R, в отличие от канонических опиоидных рецепторов, имеют крайне низкий аффинитет к налоксону и налтрексону, что позволило Su T.P. с соавт. в 1982 году, выделить σ -R в самостоятельную группу [228]. В настоящее время идентифицировано 2-а подтипа σ -R – σ_1 -R и σ_2 -R, отличающиеся друг от друга по молекулярной массе, аффинитету к лигандам, а также распределением по тканям и органам [129,204]. Впервые σ_1 -R были выделены из микросом печени морской свинки в 1996 г. группой американских исследователей под руководством проф. Hanner M. [115]. Было показано, что σ_1 -R не являются гомологами каких-либо других белков млекопитающих и представляют собой самостоятельный класс цитозольных рецепторов. Впоследствии σ_1 -R были выделены также из тканей человека, мышей и крыс [173, 191, 212, 213]. В 2007 г. Hayashi T. с соавт. показали, что σ_1 -R являются шаперонами [125], а в 2017 г. Laurini E. с соавт. методом гомологичного моделирования создали трёхмерную пространственную модель σ -R [153]. В 2014 г. Gromek K.A. с соавт установили, что σ_1 -R в наиболее активном состоянии имеет олигомерную конформацию [110], а в 2016 г. Schmidt H.R. с соавт. впервые описали кристаллическую структуру σ_1 -R [214]. Показано, что σ_1 -R экспрессируются в нейронах коры головного мозга, полосатого тела, гиппокампа, в клетках печени, почек, грудного отдела аорты и в КМ [77]. На современном этапе σ_1 -R рассматривают как эволюционно сформировавшийся «ремонтный комплекс», обеспечивающий гомеостаз клетки и тем самым поддерживающий ее жизнедеятельность [48].

Если структура и биологическая роль σ_1 -R в настоящее время достаточно хорошо изучены, то структура и биологическая роль σ_2 -R до последнего времени оставалась неясной. σ_2 -R, идентифицированные S.B. Hellewell, W.D. Bowen в 1990 г. в клетках феохромоцитомы (PC12) крысы, были определены как сайт

связывания с высоким сродством к галоперидолу, умеренным к фенциклидину, но не к бензоморфанам [129]. Авторы этого исследования показали, что σ_2 -R представляет собой внутриклеточный мембранный белок 18-22 кДа, однако ген, кодирующий σ_2 -R, до последнего времени оставался неизвестным, что являлось главным препятствием для изучения его биологической роли. В 2011 г. Ху J. с соавт. высказали предположение, что σ_2 -R является компонентом мембраны рецептора прогестерона 1 (PGRMC1) [258]. Однако в более поздних исследованиях было показано, что соответственно нокдаун PGRMC1 по siRNA [65] и нокаут PGRMC1 по CRISPR [89] генов мышиноного и человеческого PGRMC1 не оказывают влияния на связывание σ_2 -R. Лишь в 2017 г. Alon A. с соавт. [67] с помощью метода аффинной хроматографии окончательно идентифицировали σ_2 -R как трансмембранный белок 97 (TMEM97). Показано, что σ_2 -R экспрессируются в нейронах центральной нервной (ЦНС) системы (мозжечок, моторная кора, черная субстанция, гиппокамп) [82], в клетках печени, почек и легких [130], а также в злокачественных клетках [258]. Убедительные данные, свидетельствующие о том, что σ_2 -R экспрессируются в КМ, отсутствуют. В литературе представлена только одна работа, опубликованная в 2007 г., из результатов которой следует, что агонисты σ_2 -R (трео-ифенпродил, LNP250A и 1,3-ди(2-толил)гуанидин) блокируют активность встроенных в клеточную мембрану КМ K^+ каналов – hERG (Kv11.1), через которые протекает быстрый выходящий K^+ ток замедленного выпрямления (IKr) [179]. Однако авторы этого исследования сообщают, что остается не выясненным вопрос, блокируют ли K^+ каналы собственно активированные σ_2 -R или блокада каналов осуществляется непосредственно использованными агонистами. В настоящее время σ_2 -R рассматривают как перспективную биомишень для создания психотропных лекарственных средств [215], а также средств для диагностики и и лечения злокачественных новообразований [244].

Как уже было отмечено выше, роль σ_1 -R в физиологии и патологии ЦНС достаточно хорошо изучена. Этой проблеме посвящены не только крупные

аналитические обзоры [51;136;156;197], но и ряд монографий [144;221], однако роль в регуляции функциональной активности КМ в них не рассматривается.

1.1. Структура сигма-1 рецепторов (σ_1 -R)

Показано, что σ_1 -R представляет собой интегральный мембранный белок, преимущественно экспрессируемый в саркоплазматическом ретикулуме (СПР). Ген σ_1 -R у человека локализован в коротком плече 9-й хромосомы, в положении 9p13.3 и кодирует 7 изоформ данного белка [184;200]. Каноническая изоформа 1 σ_1 -R имеет небольшие размеры (223 аминокислотных остатка с общей молекулярной массой 25 250 Да). Аминокислотные последовательности данных сигнальных белков у человека, морских свинок, мышей и крыс совпадают на 90% [142, 77], т.е. σ_1 -R является высококонсервативным белком млекопитающих [115; 84].

Единого мнения о пространственном строении σ_1 -R не существует. До 2016 г. общепризнанной считалась модель σ_1 -R с двумя трансмембранными доменами, располагающимися на N-терминале (аминокислотные остатки 81-101) и в центре белка (аминокислотные остатки 1-30) [125]. Особенностью трансмембранного домена является мотив GXXXG (Gly-87-Gly-88-Trp-89-Met-90-Gly-91), участвующий в олигомеризации белка из мономерного состояния, что приводит к изменению функциональной активности σ_1 -R. Постулируется, что трансмембранный домен содержит лиганд-связывающий фармакофор [229]. Эта трансмембранная область σ_1 -R по своему строению более чем на 80% идентична стероид-связывающему «карману» изомеразы стерола, что подтверждает предположение о том, что σ_1 -R является стероид-связывающим белком, использующим встроенный в мембрану домен для ассоциации с липидными лигандами [115].

C-домен, состоящий из β -спирали и фланговых α -спиралей, обладает шаперонной активностью, препятствующей агрегации белка. Полагают, что этот домен σ_1 -R, находящийся в просвете СПР, локализуется таким образом, что

стабилизирует СПР-люменальные и/или СПР-мембранные белки [153]. Шаперонная активность этого домена σ_1 -R регулируется прямым белково-белковым взаимодействием с другим шапероном (белок, связывающий иммуноглобулин /78 kDa или глюкозо-регулируемый белок теплового шока BiP/GRP-78), также расположенным в СПР [153].

В 2016 г. с помощью рентгеноструктурного анализа было показано, что σ_1 -R является олигомером и представляет собой тримерную структуру с тройной некристаллографической осью симметрии, перпендикулярной к плоскости мембраны СПР (рис.1) [214]. В отличие от большинства мембранных рецепторов, каждый из 3-х его протомеров содержит не два, а один трансмембранный домен. Трансмембранные домены σ_1 -R отделены друг от друга и располагаются в каждом углу треугольного тримера (рисунок 1а).

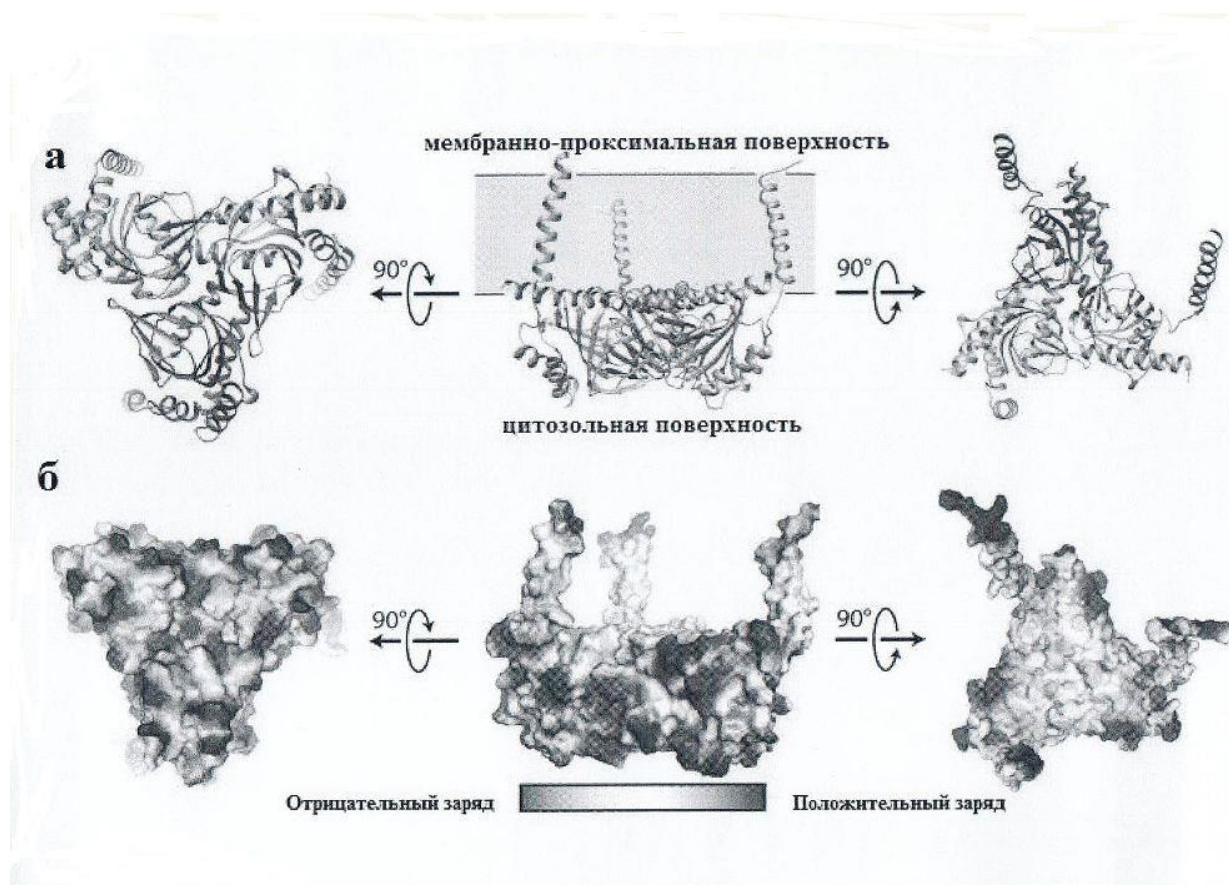


Рисунок 1 - Тримерная структура σ_1 -R [214]. Объяснения в тексте

Мембранно-проксимальная сторона цитозольных доменов представляет собой чрезвычайно плоскую гидрофобную поверхность, которая

прилежит/встроена в тело мембраны (рисунок 1б). Цитозольный домен каждого из трех протомеров образует окруженную четырьмя α -спиралями β -бочкообразную складку, в центре которой находится активный, лиганд-связывающий центр σ_1 -R. Лиганд-связывающий домен σ_1 -R высоко консервативен и сохраняет свою аминокислотную последовательность как у млекопитающих, так и у человека [214]. Авторы этого и других подобных исследований полагают, что необычное пространственное расположение σ_1 -R является уникальным среди других известных белковых структур.

1.2. Внутриклеточная локализация и транслокация σ_1 -R

Согласно современным представлениям, σ_1 -R локализуется в цитозоле клетки в сильно кластеризованных глобулярных структурах, содержащих умеренное количество свободного холестерина и нейтральных липидов, образующих детергентно-нерастворимые липидные микродомены (липидные плоты), называемые «липидной везикулой» (lipid droplet) [124]. В состав lipid droplet, помимо собственно σ_1 -R, входит IP₃-рецептор 3-го типа (IP₃R-3) и адаптерный якорный белок цитоскелета анкирин В 220 [89]. Также имеются данные о том, что в lipid droplet σ_1 -R ко-локализован с белком caveolin-2, связывающим холестерин и сфинголипиды [122].

Lipid droplet преимущественно локализуется на плазматической мембране СПР и располагается в области его митохондрией-связывающего участка (МММ), рядом с Ca²⁺ каналом. Помимо СПР отдельные пулы σ_1 -R могут располагаться на наружной ядерной мембране, мембране аппарата Гольджи и плазматических мембранах ряда внутриклеточных органелл [115]. В 2017 году были опубликованы результаты исследования, свидетельствующие о том, что σ_1 -R локализуется не только на наружной ядерной мембране, но и во внутриядерном пространстве. Авторы показали, что σ_1 -R располагаются в нуклеоплазматическом ретикулуме – специализированном ядерном отсеке, образованном путем инвагинации наружной ядерной мембраны (рисунок 2) в нуклеоплазму [172].

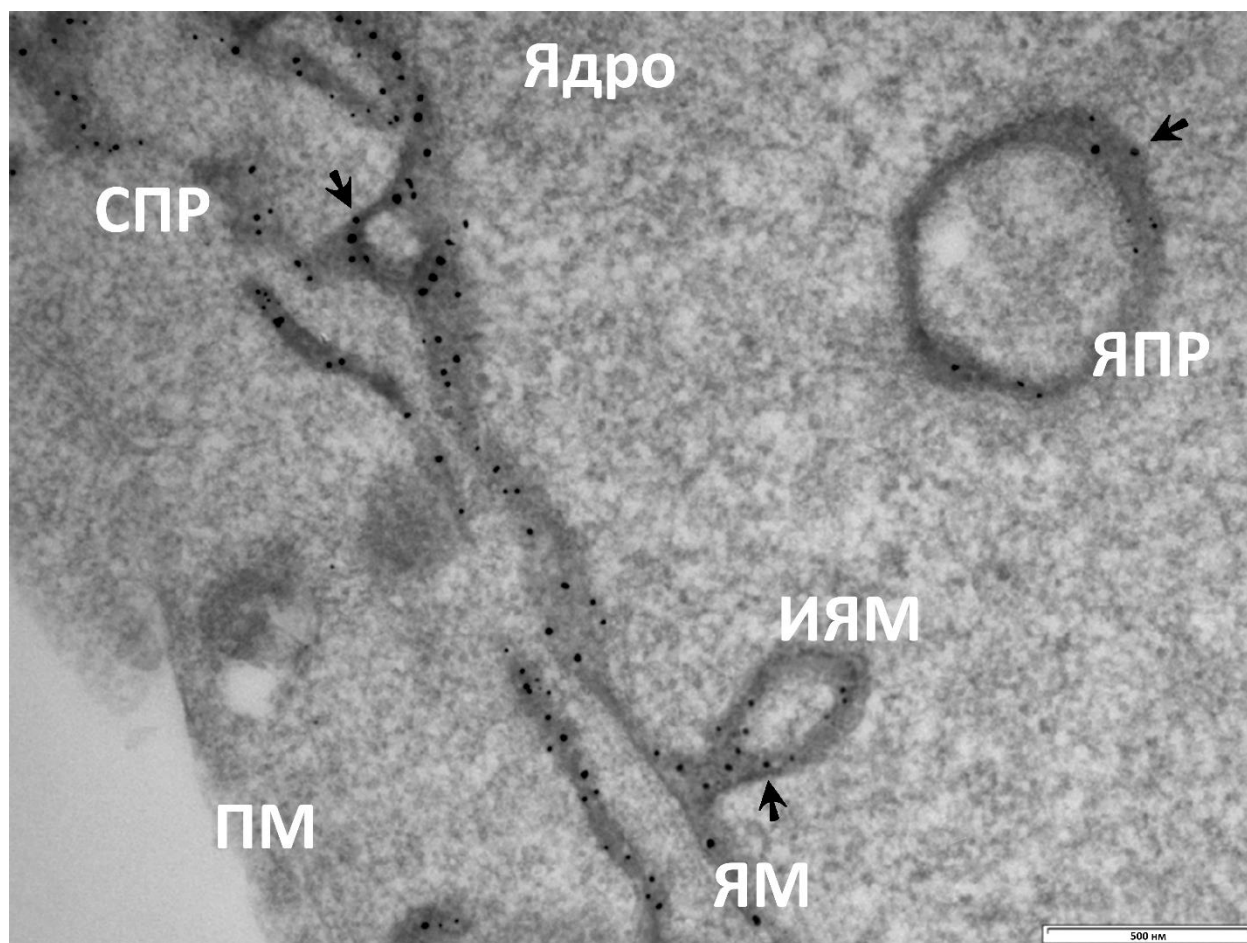


Рисунок 2 - Локализация σ_1 -R в поперечном сечении мембраны NR. (Электроннограмма усиленная APEx2, с частицами золота Шкала бар: 0,5 мкм.) [172].

Примечание: СПР – саркоплазматический ретикулум, ЯПР - ядерный плазматический ретикулум, ЯМ - ядерная мембрана, ИЯМ - инвагинация ядерной мембраны, ПМ – плазматическая мембрана. Стрелкой указаны черные точки σ_1 -R

В области МАМ σ_1 -R в составе lipid droplet имеют стационарную локализацию, по всей видимости, из-за их тесной связи с содержащимися в lipid droplet богатыми холестерином/церамидами липидными микродоменами [127]. Помимо стационарных пулов σ_1 -R на плазматической мембране СПР и внутриклеточных органелл, представлены высокомобильные пулы σ_1 -R, которые после активации рецептора могут транслоцироваться к другим органеллам и/или внутренней поверхности клеточной мембраны со скоростью, которая достигает около 8-10 мкм/мин [126]. Полагают, что высокомобильные пулы σ_1 -R выполняют в цитозоле клетки функцию «скорой помощи» [139]. Концентрация

высокомобильных пулов σ_1 -R в клетке существенно выше, чем стационарных – соответственно 70% и 30 % [139].

Стационарную локализацию lipid droplet в области МАМ, по всей видимости, определяет наличие в структуре СПР двойного аргининового удерживающего мотива. При взаимодействии с лигандами σ_1 -R перераспределяются от детергентно-нерастворимых липидных микродоменов к растворимым мембранным доменам [123]. В результате этого процесса σ_1 -R приобретают подвижность и могут как самостоятельно, так и в составе lipid droplet транслоцироваться от СПР к цитоплазматической и/или цитозольным мембранам. Следует отметить, что транспорт белков из СПР в цитоплазматическую мембрану представляет собой достаточно быстрый процесс, и как правило, занимает от нескольких до 30 минут [216].

В литературе приводятся данные о том, что активированные σ_1 -R были обнаружены и во внеклеточном пространстве, что дало основание авторам этого исследования высказать гипотезу о том, что σ_1 -R могут действовать как шапероны и за пределами клетки [123].

Полагают, что именно со способностью σ_1 -R свободно перемещаться в цитозоле клетки и встраиваться в структуру цитоплазматических мембран связана их способность модулировать/регулировать функциональную активность ионных каналов, внутриклеточных органелл, а также контролировать разнообразные внутриклеточные сигнальные каскады [139]. Также высказывается мнение о том, что σ_1 -R выступают в роли сигнального модулятора, координирующего взаимосвязь отдельных внутриклеточных органелл, действуя не только локально – на мембране СПР, где они контролируют СПР – митохондриальную и СПР – ядерную сигнализацию, но и «отдаленно» – в области плазмолеммы, где они регулируют функциональные белки клеточной мембраны [229].

1.3. Роль σ_1 -R в регуляции функциональной активности кардиомиоцитов

Исторически σ_1 -R рассматривались как внутриклеточные регуляторные белки, играющие важную роль в регуляции функциональной активности нейронов [148;241]. Однако после публикации результатов исследований Bhuiyan M. S с соавт. [77], свидетельствующих о том, что уровень экспрессии гена σ_1 -R в миокарде желудочков на порядок превышает таковой в нейронах ЦНС (рисунок 3), возник интерес к изучению роли σ_1 -R в физиологии и патологии сердечной мышцы. Также в этой работе было показано, что σ_1 -R в достаточно большом количестве экспрессируются и в гладкомышечных клетках аорты.

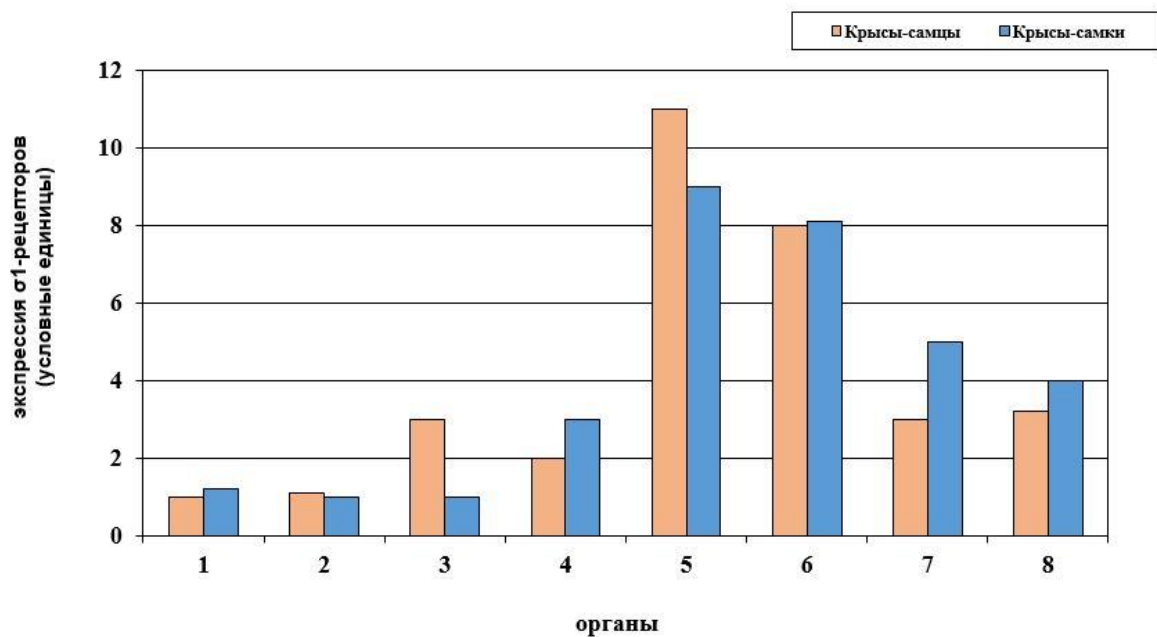


Рисунок 3 - Уровень экспрессии гена σ_1 -R в различных органах крысы [77].

Примечание 1: 1 – кора головного мозга, 2 – полосатое тело, 3 – гиппокамп, 4 – грудная аорта, 5 – левый желудочек сердца, 6 – правый желудочек сердца, 7 – левая почка, 8 – правая почка.

Примечание 2: Данные выражены в виде кратного экспрессии в коре головного мозга

К настоящему времени накоплен достаточно большой литературный материал, позволяющий говорить о том, что σ_1 -R являются важным внутриклеточным образованием, поддерживающим/регулирующим

функциональную активность сердечной мышцы, а их повышенная экспрессия играет существенную роль в генезе ее патологии.

Как было отмечено выше, активированные σ_1 -R в составе lipid droplet мигрируют к внутренней поверхности клеточной мембраны, где, в частности, встраиваясь в структуру потенциалзависимых трансмембранных Na^+ , K^+ и Ca^{2+} каналов, модулируют (оптимизируют/блокируют) их функциональную активность. Такая мобильность σ_1 -R обусловлена способностью входящего в состав lipid droplet анкирина B-220 транслоцироваться по микротрубочкам из СПР в область клеточной мембраны [122].

Показано, что модуляция ионных каналов σ_1 -R не зависит от взаимодействия с G-белками или фосфорилирования каналов [190], а является следствием прямого белково-белкового взаимодействия между σ_1 -R и каналом [70].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на клеточной культуре неонатальных КМ мыши, показано, что селективные агонисты σ_1 -R [(+)-SKF-10047 и (+)-пентазоцин] \approx на 50% подавляют быстрый входящий Na^+ ток (I_{Na}), протекающий через быстрые трансмембранные потенциалзависимые Na^+ ($\text{Na}_v1.5$) каналы. Не менее важно и то, что авторы этого исследования убедительно показали, что блокада I_{Na} агонистами σ_1 -R обусловлена активацией этих рецепторов, поскольку в клетках с небольшой или нулевой экспрессией гена σ_1 -R (клетки линии COS-7, клетки линии НЕК-293 и КМ мышей, нокаутных по σ_1 -R) (+)-SKF-10047 и (+)-пентазоцин не оказывают существенного влияния на I_{Na} [137].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на клеточной культуре нейронов внутрисердечных ганглиев новорожденных крыс, показано, что селективный агонист σ_1 -R (+)-пентазоцин вызывает дозозависимое подавление быстрого входящего I_{Na} , протекающего через Na^+ каналы, встроенные в клеточную мембрану интракардиальных нейронов [267]. Анализируя полученные данные, авторы приходят к заключению, что активация σ_1 -R приводит к подавлению функциональной активности и увеличению латентного периода потенциалзависимых Na^+ каналов интракардиальных нейронов и способствует

изменению конфигурации потенциала действия. Помимо этого, происходит смещение величины напряжения инактивации Na^+ каналов в сторону отрицательных потенциалов, что, в свою очередь, приводит к уменьшению количества Na^+ каналов, доступных для активации при нормальной величине диастолического потенциала (потенциал покоя).

Впервые о способности агонистов σ_1 -R блокировать трансмембранные потенциалзависимые K^+ каналы сообщили в 1999 году Soriani O. с соавт. [223]. В экспериментах *in vitro*, выполненных на клеточной культуре меланотропных клеток гипофиза лягушки, было показано, что агонисты σ_1 -R (+)-N-cyclopropylmethyl-N-methyl-1,4-diphenyl-1-ethyl-but-3-en-1-ylamine hydrochlorid (JO 1784) и (+)-пентазоцин вызывают дозозависимую блокаду быстрого инактивируемого потенциалзависимого K^+ А-тока (IA; син. переходящий внешний K^+ ток – I_{to}), протекающего через трансмембранные потенциалзависимые K^+ каналы. Эти данные представляют интерес в контексте настоящего обзора, поскольку трансмембранные потенциалзависимые K^+ каналы, через которые протекает IA, идентифицированы и в КМ, где они обеспечивают формирование ранней фазы реполяризации и могут модулировать длительность потенциала действия [185].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на нейронах гипофиза, показано, что агонисты σ_1 -R (+)SKF10,047, (+)-пентазоцин и дитолилгуанидин (DTG) ингибируют потенциалзависимые K^+ каналы, подавляя (\approx на 50%) как быстрый, так и медленный компоненты выходящего K^+ тока задержанного выпрямления (I_K) [252]. Также в экспериментах *in vitro* продемонстрировано, что σ_1 -R модулируют/блокируют K^+ ток через клеточную мембрану ооцитов шпорцевых лягушек посредством образования комплексов с K^+ каналами $\text{K}_v1.4$ (K^+ каналы $\text{K}_v1.4$, помимо клеточной мембраны ооцитов, идентифицированы и на клеточной мембране КМ) и $\text{K}_v1.5$ каналами как в присутствии, так и в отсутствии лигандов [70]. Авторы этого исследования делают заключение о том, что σ_1 -R служат вспомогательными субъединицами потенциалзависимых K^+ каналов и принимают

участие в регуляции их функциональной активности в зависимости от наличия или отсутствия лиганда.

Помимо $K_v1.4$ и $K_v1.5$ каналов активированные σ_1 -R модулируют активность hERG K^+ каналов ($K_v11.1$), через которые протекает быстрый выходящий K^+ ток замедленного выпрямления (I_{Kr}), который, как известно, формирует 3-ю фазу реполяризации КМ. В экспериментах *in vitro*, выполненных на клеточной культуре K562, показано, что агонист σ_1 -R – (+)–пентазоцин обратимо, на $40,85 \pm 2,83\%$ подавляет I_{Kr} [93].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на клеточной культуре нейронов внутрисердечных ганглиев новорожденных крыс, показано, что агонисты σ_1 -R – (+) – пентазоцин, ибогаин и DTG вызывают дозозависимую блокаду позднего выходящего K^+ тока задержанного выпрямления ($I_{K(DR)}$), протекающего через трансмембранные потенциалзависимые K^+ каналы внутреннего выпрямления (K_{ir}) [266]. Также в этом исследовании, было показано, что агонисты σ_1 -R блокируют $I_{K(DR)}$ непосредственно путём активации σ_1 -R, поскольку антагонист DTG – метафит (metaphit) полностью нивелировал каналотропное действие DTG. Авторы этого исследования приходят к заключению, что активированные σ_1 -R подавляют активность множественных подтипов стробированных (открытых, но не активированных) K^+ каналов и тем самым снижают возбудимость внутрисердечных парасимпатических нейронов и, как следствие этого, модулируют влияние парасимпатической системы на деятельность сердца.

В экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре клеток линии RGC-5, показано, что агонист σ_1 -R (+)SKF10,047 в значительной мере подавляет трансмембранный медленный входящий Ca^{2+} ток, протекающий через медленные потенциалзависимые Ca^{2+} каналы L-типа [239]. Этот эффект (+)SKF10,047 по интенсивности сопоставим с таковым, полученным для эталонного блокатора медленных Ca^{2+} каналов нифедипина и полностью блокируется на фоне предварительного внесения в клеточную культуру антагониста σ_1 -R - BD1047.

В экспериментах *in vitro*, выполненных на клеточной культуре симпатических нейронов шейных ганглиев и интракардиальных

парасимпатических нейронах новорожденных крыс, впервые было продемонстрировано, что они активно экспрессируют σ_1 -R [265]. Далее было показано, что агонисты σ_1 -R -(+) – пентазоцин, ибогаин и DTG эффективно подавляют пиковый Ca^{2+} ток, протекающий через все типы Ca^{2+} каналов (L, P, Q и R), встроенных в клеточную мембрану как нейронов шейных ганглиев, так и внутрисердечных нейронов, а также увеличивают скорость их инактивации.

На основании полученных данных авторы делают заключение о том, что активированные σ_1 -R, локализованные в симпатических нейронах шейных ганглиев и парасимпатических интракардиальных нейронах, модулируют межклеточную сигнализацию в вегетативных ганглиях и, следовательно, контролируют регуляцию сердечной деятельности периферической нервной системой [265].

В 2021 Y. Guo и соавторами было показано, что агонист σ_1 -R флувоксамин подавлял трансмембранный медленный входящий Ca^{2+} ток, протекающий через медленные потенциалзависимые Ca^{2+} каналы L-типа, в миокарде у крыс с депрессивным расстройством [112].

Таким образом, на основании литературных данных можно говорить о том, что в КМ σ_1 -R играют значимую роль в регуляции/оптимизации функциональной активности трансмембранных потенциалзависимых быстрых Na^+ , K^+ и медленных Ca^{2+} каналов L-типа, а агонисты σ_1 -R, вызывающие блокаду этих каналов, обладают свойствами антиаритмических лекарственных средств I, III и IV классов по классификации Vaughan Williams.

Также можно полагать, что способность активированных σ_1 -R блокировать трансмембранные потенциалзависимые Ca^{2+} каналы L-типа указывает на возможность того, что их агонисты могут защищать миокард от ишемического повреждения. Не менее важно и то, что σ_1 -R, блокируя аномальную активность трансмембранных потенциалзависимых Na^+ каналов, K^+ каналов и Ca^{2+} каналов L, P, Q и R типов, встроенных в клеточную мембрану как шейных, так интракардиальных нейронов, препятствуют реализации избыточной тонической активности симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной

системы и тем самым уменьшают риск развития нарушений сердечного ритма и ишемических инцидентов, регулируют/оптимизируют пластичность миокарда и т.д.

Транслоцировавшиеся к клеточной мембране в составе lipid droplet σ_1 -R не только встраиваются в структуру ионных каналов, но и оптимизируют фосфолипидный состав клеточной мембраны за счет импорта в мембрану холестерина, входящего в состав липидной везикулы, и тем самым оказывают мембраностабилизирующее действие [238]. Известно, что уменьшение содержания в плазматической мембране холестерина (холестериновое истощение) приводит к снижению уровня ее плотности и развитию апоптоза (вариант апоптоза в ответ на нарушение адгезии клеток), снижению активности антиапоптотического белка Bcl-xL, инактивации протеинкиназы B (Akt) и активации каспазы-3 [159].

Выше уже было отмечено, что на наружной мембране СПР КМ локализуется стационарная форма lipid droplet, включающая в себя, помимо собственно σ_1 -R, якорный белок анкирин B-220 и инозитол-1,4,5-трифосфат связанный рецептор (IP_3 -R). В отсутствие лиганда анкирин B-220 выступает в качестве блокатора IP_3 -R за счет высокой аффинности (константа диссоциации K_d 0.2 nM) к С-концевой терминали IP_3 -R [255]. При взаимодействии σ_1 -R с агонистом анкирин B-220 дислоцируется от С-терминали IP_3 -R и последний стробировается (другими словами, в данном контексте, рецепторный канал IP_3 -R переходит в открытое, но не активированное состояние). Далее стробированный IP_3 -R взаимодействует со своим агонистом 1,4,5-инозитол-трифосфатом (IP_3), в результате чего IP_3 -R активируется и инициирует выход ионов Ca^{2+} из депо СПР в цитоплазму. [255].

IP_3 -R представляет собой трансмембранный встроенный в плазматическую мембрану СПР канал-образующий белок, относящийся к суперсемейству ионных каналов с шестью трансмембранными доменами [177]. IP_3 -R состоит из 3-х функциональных субъединиц: N-концевой лиганд-связывающей цитоплазматической субъединицы, модуляторной/связывающей субъединицы и

С-концевой трансмембранной/каналообразующей субъединицы, расположенной рядом с Ca^{2+} -содержащими депо СПР [177]. $\text{IP}_3\text{-R}$ является одним из самых больших из известных ионных каналов, каждая из 3-х его субъединиц содержит $\approx 2\,700$ аминокислотных остатков. По своим размерам $\text{IP}_3\text{-R}$ уступает только также встроенным в мембрану СПР трансмембранным рианодиновым Ca^{2+} -регулирующим рецепторам (RyR), каждая из 4-х субъединиц которых содержит $\approx 5\,000$ аминокислотных остатков [201]. Для активации $\text{IP}_3\text{-R}$ необходимо 4 молекулы IP_3 .

К настоящему времени идентифицировано 3 изоформы $\text{IP}_3\text{-R}$ – 1-го, 2-го и 3-го типа. Lipid droplet, расположенные на мембране СПР нейронов, содержат в своем составе преимущественно изоформу $\text{IP}_3\text{-R}$ 3-го типа ($\text{IP}_3\text{-R3}$) [126;122;209], экспрессия которой превалирует в нейронах ЦНС [217]. В сократительных КМ желудочков, в отличие от нейронов, в основном экспрессируется не 3-я, а 2-я изоформа $\text{IP}_3\text{-R}$ ($\text{IP}_3\text{-R2}$). Согласно имеющимся литературным данным, lipid droplet, располагающаяся в КМ на плазматической мембране СПР, содержит в своем составе $\text{IP}_3\text{-R}$ рецепторы 2-го типа, которые переходят в открытое состояние при взаимодействии агониста с $\sigma_1\text{-R}$ [235]. В той же работе показано, что вслед за опосредованной $\sigma_1\text{-R}$ активацией $\text{IP}_3\text{-R2}$ активируются и расположенные на мембране СПР рианодиновые рецепторы 2-го типа (RyR2), которые так же, как и $\text{IP}_3\text{-R}$ являются 6-ти доменными трансмембранными Ca^{2+} проводящими каналами. RyR2 экспрессируются только в клетках сердечной мышцы [103], и в настоящее время их позиционируют в качестве ключевых игроков, регулирующих сократительную и ритмическую функцию КМ [131]. Несмотря на то, что RyR2 по своим размерам в 2 раза превосходят $\text{IP}_3\text{-R2}$, а их плотность на клеточной мембране СПР по сравнению с $\text{IP}_3\text{-R2}$ значительно больше – $\text{RyR2}/\text{IP}_3\text{-R2} \approx 100/1$ [81], эти два рецептора демонстрируют большое сходство в своей функции, регуляции и строении. Например, аминокислотная последовательность их трансмембранных субъединиц совпадает на 37% [68].

Механизм активации, посредством которого $\sigma_1\text{-R}$ активируют RyR2, не известен, однако можно полагать, что этот эффект опосредуется через $\text{IP}_3\text{-R2}$,

поскольку известно, что активация последних при связывании с IP_3 может вызывать сенсбилизацию соседних с ними $RyR2$, что приводит к кратковременному «мощному» выбросу ионов Ca^{2+} из депо СПР – так называемому выбросу «искры Ca^{2+} » [119]. Синхронный выброс «искры Ca^{2+} » в цитозоль КМ из депо СПР через IP_3 -R2 и $RyR2$ каналы обусловлен тем, что они физически и функционально связаны между собой таким образом, что активность отдельного канала координируется с соседним. Этот феномен носит название «сопряженное стробирование» [169].

Выброс ионов Ca^{2+} из депо СПР является ключевым событием, связывающим деполяризацию мембраны КМ и их механическую (инотропную) активность в процессе электромеханического сопряжения клеток сердца.

Поскольку концентрация ионов Ca^{2+} , депонированных в СПР, на несколько порядков превышает их концентрацию в цитоплазме, ионы Ca^{2+} диффундируют во внутриклеточное пространство, в результате чего концентрация ионов Ca^{2+} в цитоплазме увеличивается с 10^{-7} М до 10^{-6} – 10^{-5} М, что обеспечивает их взаимодействие с регуляторным глобулярным белком тропонином С (ТnC). Образовавшийся комплекс Ca^{2+}/TnC сдвигает фибриллярный белок тропомиозин с активного центра волокон актина, что позволяет последнему присоединиться к миозину и инициировать сокращение КМ. Сразу же после завершения сокращения в мембране СПР в результате сАМР-опосредованной активации протеинкиназы А (РКА) фосфорилируется ключевой регулятор расслабления КМ белок фосфоламбан (PLB или PLN), который активирует Ca^{2+} -зависимую АТФазу (SRsarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -ATPase, SERCA2) – кальциевый насос СПР. SERCA2 стимулирует активный транспорт ионов Ca^{2+} из цитоплазмы в депо СПР, где они связываются белком кальсеквестрином. По окончании работы кальциевого насоса СПР концентрация ионов Ca^{2+} в цитозоле КМ снижается до 10^{-8} М, а в депо СПР – возрастает до 10^{-3} М. Помимо этого, РКА, фосфорилируя нити актина, снижает их чувствительность к ионам Ca^{2+} и тем самым способствует расслаблению КМ.

Таким образом, σ_1 -R, локализованные на плазматической мембране СПР, с одной стороны, принимают участие в обеспечении гомеостаза ионов Ca^{2+} в цитозоле КМ, а с другой, – играют важную роль в регуляции их электромеханического сопряжения и тем самым контролируют инотропную функцию сердечной мышцы.

Не исключено, что σ_1 -R-опосредованная регуляция гомеостаза ионов Ca^{2+} в цитозоле КМ может быть, в той или иной мере, связана с их шаперонной активностью. Выше мы уже говорили о том, что шаперонная активность σ_1 -R обусловлена их прямым белково-белковым взаимодействием с другим СПР-резидентным шапероном BiP [125]. Известно, что шаперон BiP играет непосредственную роль в контроле выброса «искры Ca^{2+} » из депо СПР путем или закрытия трансмембранной «воронки» белкового комплекса Sec61 (син. SecYEG), встроенного в мембрану СПР, или регуляции активности SERCA2 [99].

Впервые о способности σ_1 -R регулировать инотропную функцию сердца сообщили в 1994 году Ela C. с соавт., которые в опытах на изолированных КМ крысы показали, что агонист σ_1 -R (+)- пентазоцин и их антагонист галоперидол индуцировали специфические изменения сократительной способности электростимулированных КМ [101]. Позднее это было подтверждено в целом ряде исследований [102, 181, 186, 227, 235].

Не менее важную роль σ_1 -R играют и в регуляции энергообразующей и Ca^{2+} -регулирующей функций митохондрий. Известно, что функциональная взаимосвязь между СПР и митохондриями является ключевым фактором, контролирующим Ca^{2+} -опосредованные внутриклеточные сигнальные каскады и продукцию АТФ [194]. Это взаимодействие осуществляется за счет наличия на наружной мембране СПР расположенного в области Ca^{2+} канала, образованного IP_3 -R, высокоаффинного белкового комплекса, ассоциированного с мембраной митохондрий (mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes – МАМ), который опосредует транспорт ионов Ca^{2+} из СПР в митохондрии [165]. Комплекс МАМ преимущественно формируется из шаперонов BiP, которые в большом количестве экспрессируются в митохондриях, и обеспечивает взаимодействие

между IP_3 -R и расположенным на наружной мембране митохондрий потенциалзависимым анионным каналом (voltage-dependet anion channel – VDAC). Шаперон BiP образует туннель, соединяющий IP_3 -R с VDAC, по которому ионы Ca^{2+} перемещаются из депо СПР к наружной мембране митохондрий [119]. σ_1 -R, связанные с шапероном BiP, стабилизируют открытые IP_3 -R и тем самым пролонгируют время перехода ионов Ca^{2+} из СПР к митохондриям (рисунок 4) [226]. По мере истощения запасов ионов Ca^{2+} , депонированных в СПР, σ_1 -R диссоциируют от шаперонов BiP, что влечет за собой инактивацию IP_3 -R [165]. Как полагают авторы этой публикации, σ_1 -R является ключевым белком, обеспечивающим надлежащее поступление ионов Ca^{2+} из СПР в митохондрии.

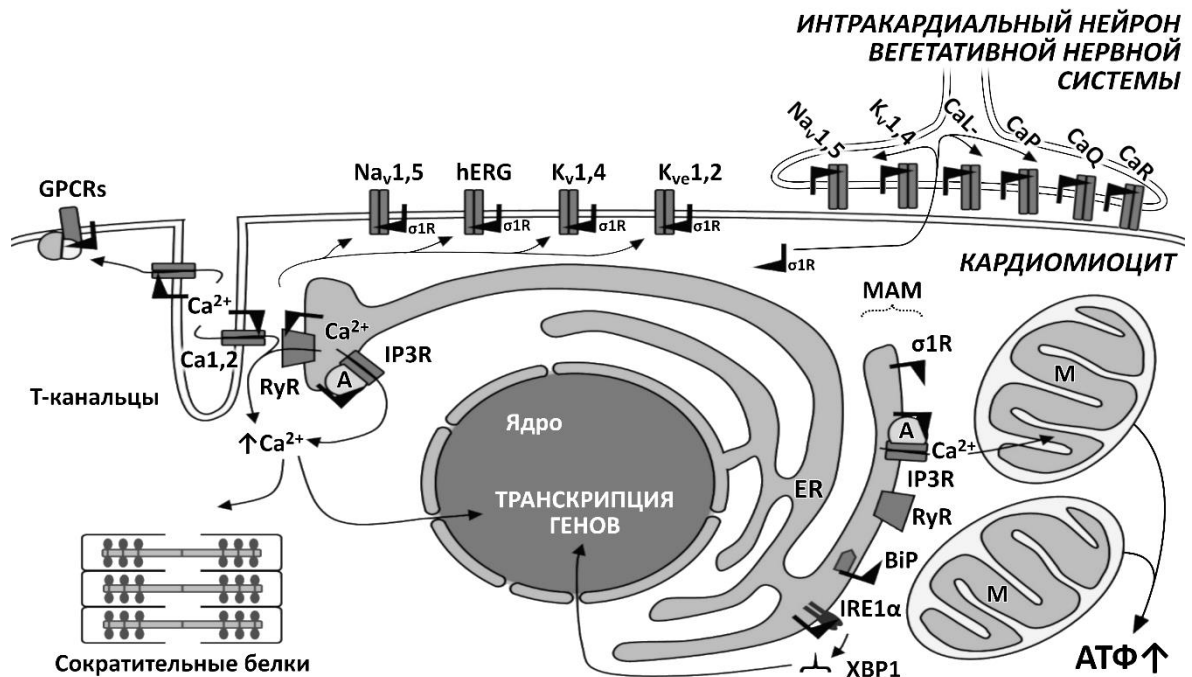


Рисунок 4 - Схематическое отображение точек приложения действия σ_1 -R в КМ [226, с изменениями]. Объяснение в тексте

В 2021 году было показано, что в условиях стресс-индуцированной гипертензии у крыс агонист σ_1 -R SKF10047 подавлял нейровоспаление в ростральной вентролатеральной части продолговатого мозга, что приводило к снижению симпатической гиперактивности у животных. Предположительно этот эффект связан с регуляцией σ_1 -R взаимосвязи между СПР и митохондриями и

оптимизацией гомеостаза ионов Ca^{2+} и энергообразующей функцией митохондрий в клетках микроглии крыс [189].

Импортированные из СПР в митохондрии ионы Ca^{2+} посредством прямого взаимодействия с такими ферментами как Ca^{2+} -зависимые пируватдегидрогеназа и фосфотаза, α -кетоглутаратдегидрогеназа и изоцитратдегидрогеназа увеличивают доступность НАДН⁺ и, следовательно, поток электронов вниз по дыхательной цепи, что влечет за собой увеличение/оптимизацию продукции АТФ [194]. Кроме того, физиологический «захват» ионов Ca^{2+} митохондриями ограничивает избыточный подъем их концентрации в цитоплазме, что, в свою очередь, подавляет процессы, инициирующие аутофагию, апоптоз и некроз клетки, а также обеспечивает быстрое затухание Ca^{2+} -опосредованных внутриклеточных сигналов [96,167].

В исследованиях, проведенных в 2021 году L. Lou и соавторами, продемонстрировано, что препарат традиционной китайской медицины Yiqi Nuoxue (YQNX) в условиях ХСН у крыс улучшал ультраструктуру митохондрий, повышал содержание АТФ в миокарде, а также уменьшал гипертрофию сердца. Эти эффекты препарата были подавлены ингибирующей σ_1 -R малой интерферирующей РНК. Предположительно, кардиопротективное действие YQNX связано с влиянием на σ_1 -R [164].

Помимо СПР, σ_1 -R в составе lipid droplet локализуется и на наружной поверхности ядерной мембраны. Функциональная роль σ_1 -R, расположенных на ядерной мембране (NE) КМ, в настоящий момент не ясна. Однако в литературе имеются сообщения о том, что активированные IP_3 -R, встроенные в NE, регулируют активность различных наборов транскрипционных факторов, в частности семейств транскрипционных факторов – миоцитарного энхансера фактора-2 – Mef2 и ядерного фактора активированных Т-клеток – NFAT [131]. Семейство транскрипционных факторов MEF2 состоит из 4-х транскрипционных белков: Mef2a, Mef2b, Mef2c и Mef2d, которые являются ключевыми регуляторами экспрессии сердечных генов [111]. Семейство транскрипционных факторов NFAT также состоит из 5-ти транскрипционных белков: NFATc1,

NFATc2, NFATc3, NFATc4 и NFAT5, которые принимают активное участие в поддержании гомеостаза ионов Ca^{2+} в КМ, а также регулируют транскрипцию генов, ответственных за экспрессию ростовых факторов [131]. Помимо этого, высказывается предположение о том, что $\text{IP}_3\text{-R}$, встроенные в NE , модулируют трансмембранный ток ионов Ca^{2+} и тем самым защищают ядро от перегрузки ими во время систолы [131]. Кроме того, имеются данные о том, что $\sigma_1\text{-R}$ контролируют в ядре экспрессию гена антиапоптотического белка Bcl-2 путем активации ядерного транскрипционного фактора Каппа-би – NF-kB [176]. Позднее было показано, что в условиях реперфузионного повреждения миокарда активированные $\sigma_1\text{-R}$ подавляют апоптоз КМ как за счет увеличения уровня экспрессии гена антиапоптотического белка Bcl-2, так и за счет снижения уровня экспрессии гена проапоптотического белка Bax, а также каспазы-3. Предполагается, что этот эффект обусловлен активацией $\sigma_1\text{-R}$ PI3K/Akt/eNOS сигнального пути [105]. Показано, что в условиях стресса СПР увеличение экспрессии гена $\sigma_1\text{-R}$ препятствует прогрессированию апоптоза [165].

Таким образом имеющиеся к настоящему времени данные свидетельствуют о значимой роли $\sigma_1\text{-R}$ в регуляции функциональной активности КМ: они модулируют/оптимизируют активность трансмембранных потенциалзависимых Na^+ , K^+ и Ca^{2+} каналов, встроенных в клеточную мембрану как КМ, так и нейронов вегетативной нервной системы – интракардиальных ганглиев; стабилизируют наружную мембрану КМ и поддерживают в них гомеостаз ионов Ca^{2+} ; регулируют процессы электромеханического сопряжения КМ и тем самым поддерживают инотропный статус сердечной мышцы; оптимизируют энергообеспечение КМ; обладают свойствами шаперонов; противодействуют стрессу СПР и являются ограничивающим фактором апоптоза; контролируют экспрессию ряда транскрипционных факторов и регулируют активность внутриклеточных сигнальных каскадов.

Следует также отметить, что говоря о роли $\sigma_1\text{-R}$ в регуляции/оптимизации функциональной активности клеток, в частности КМ, необходимо отметить, что несмотря на достаточно большой литературный материал, посвященный этой

проблеме, многие детали этого процесса остаются далеко не ясными в силу полифункционального влияния σ_1 -R на клеточную функцию самых разнообразных белков и ионных каналов и, как следствие этого шаперон-опосредованную модуляцию различных внутриклеточных, зачастую не сопряженных между собой, сигнальных путей. Действительно, к настоящему времени идентифицировано более 50 внутриклеточных белков, с которыми непосредственно взаимодействуют σ_1 -R (рисунок 5), в том числе 20 ионных каналов: (Na^+ канал [$\text{Na}_v1,5$], Ca^{2+} каналы L- и N-типов [$\text{Ca}_v1,2$ и $\text{Ca}_v2,2$], Ca^{2+} релиз-активированные каналы [CRAC/ ORAI1], 6 K^+ каналов [$\text{K}_v1,2$; $\text{K}_v1,3$; $\text{K}_v1,4$; $\text{K}_v1,5$; $\text{K}_v2,1$ и hERG или $\text{K}_v11,1$], Ca^{2+} активируемый K^+ канал [SK3 или KCNN3], кислоточувствительный ионный канал 1a [ASIC1a], зависимый от напряжения анионный канал 2 [VDAC2], 2 изоформы инозитол-трифосфатных рецепторов [IP₃-R2 и IP₃-R3], рианодиновые рецепторы 2 типа [RyR2], 3 подтипа N-метил-d-аспартатных рецепторов [NMDAR Glun1, NMDAR Glun2a и NMDAR Glun2b]); 5 G белок-связанных рецепторов (μ опиоидный рецептор [μ OPR], D1 дофаминовый рецептор [D1R], D2 дофаминовый рецептор [D2R], каннабиноидный рецептор 1-го типа [CB1] и рецептор грелина 1a [GHSR1a]); 26 различных белков (анкирин B [ANK2], иммуноглобулин – связывающий белок [BiP], транспортер дофамина [DAT], запрограммированный лиганд смерти 1 [PD-L1 или CD274], церебросид-синтаза [UGT8], сенсор стресса СПР – IRE1, тирозинкиназный рецептор B [BDNF/NT-3], интерлейкин – 24 [IL-24], регулятор апоптоза Bcl2, малая GTPase Rac1, гистидин нуклеотид - связывающий белок 1 [HINT1], пинковый белок цинка 179 [Znf179], индуцированный инсулином ген 1 [INSIG1], 3 белка содержащих домен ELMO [ELMOD1, ELMOD2 и ELMOD3], стероидогенный острый регуляторный белок [StAR], рецептор тромбоцитарного фактора роста β [PDGFR - β], интегрин $\beta 1$ [ITGB1], эмерин [EMD], ламин A/C [LMNA], 3 деацетилазы гистонов 1-го класса [HDAC1, HDAC2 и HDAC3], барьер для фактора автоинтеграции 1 [BANF1] и сенсор ионов Ca^{2+} СПР [STIM1]) [224, 215].

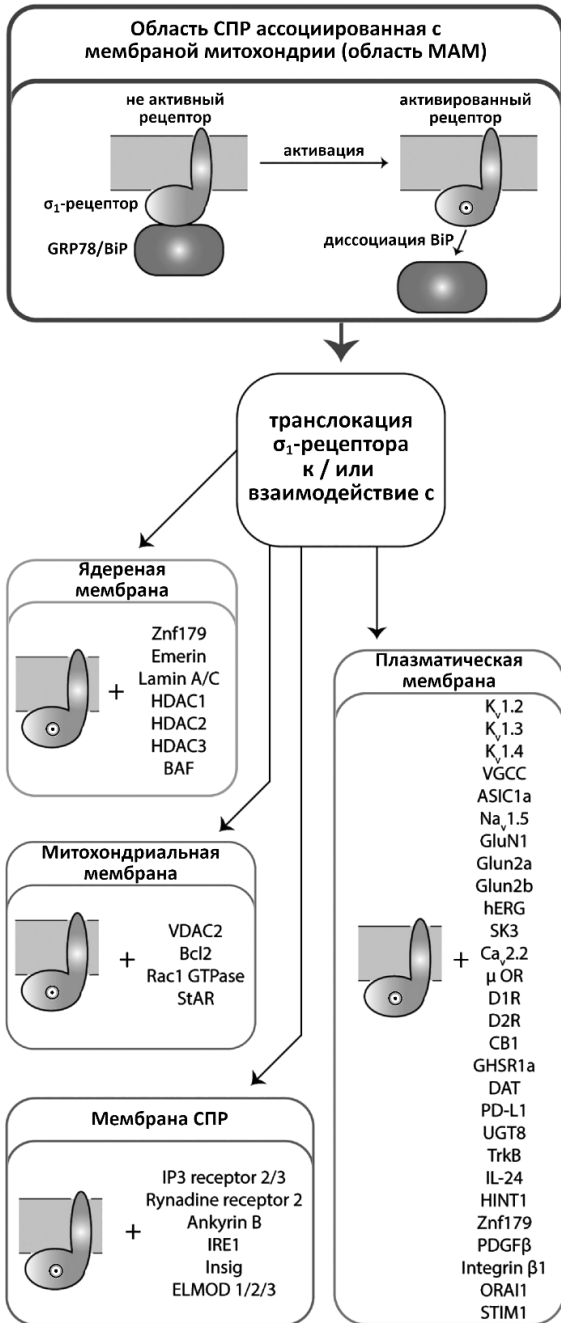


Рисунок 5 - Внутриклеточные эффекторы σ_1 -R [215]. Объяснение в тексте

1.4. Влияние блокады σ_1 -R на функциональную активность сердца

Роль σ_1 -R в развитии патологии миокарда в настоящее время до конца не ясна. Согласно имеющимся данным, применяемые в клинике антагонисты σ -R обладают достаточно широким спектром сердечно-сосудистых побочных эффектов. Наиболее полно описаны кардиотоксические эффекты антипсихотического препарата галоперидол, который является неселективным блокатором σ -R [83, 171], однако его сродство к σ_2 -R более чем в 170 раз меньше, чем к σ_1 -R [146]. Константа ингибирования (K_i) галоперидолом σ_1 -R = 2,7 nM.

Показано, что на фоне систематической терапии галоперидолом у пациентов отмечается клинически значимое удлинение интервала QT на ЭКГ, что влечет за собой развитие злокачественных желудочковых аритмий, в том числе полиморфной желудочковой тахикардии *torsades de pointes* (тахикардия «пляска точек» или тахикардия «пируэт»), которая значительно повышает риск [133, 256] развития внезапной сердечной смерти (ВС). Как известно, галоперидол обладает сложным механизмом антипсихотического действия и помимо σ -R блокирует D2 и D3 дофаминовые и α -адренорецепторы. Вместе с тем, маловероятно, что его аритмогенные эффекты могут быть связаны с блокадой дофаминовых рецепторов, поскольку известно, что способностью удлинять интервал QT на ЭКГ обладают не антагонисты, а агонисты этих рецепторов [109]. Для антагонистов α -адренорецепторов и антагонистов σ_2 -R аритмогенные эффекты не описаны. Таким образом, есть все основания полагать, что нарушения сердечного ритма на фоне приема галоперидола могут быть связаны с блокадой σ_1 -R, приводящей к нарушению/подавлению функциональной активности Ca^{2+} каналов СПР. Такое предположение подтверждают результаты экспериментальных исследований, в которых, в частности, показано, что на фоне систематической терапии галоперидолом в предсердиях и желудочках сердца крыс значительно увеличивается экспрессия гена σ_1 -R [186]. Аналогичные данные были получены этими авторами и в экспериментах *in vitro*, выполненных на изолированных КМ. Также в этом исследовании было показано, что на фоне терапии галоперидолом в правом и

левом предсердиях сердца увеличивается экспрессия генов IP3-R1 и IP3-R2. Позднее эти наблюдения были подтверждены и в других исследованиях [227]. Их авторы высказывают предположение о том, что увеличение уровня экспрессии генов σ_1 -R и IP3-R может привести к нарушению гомеостаза ионов Ca^{2+} в КМ и, таким образом, способствовать изменению чувствительности сердца к аритмогенным воздействиям.

Возможен и другой механизм галоперидол–опосредованного аритмогенеза. Показано, что препарат обладает способностью блокировать трансмембранные потенциалзависимые K^+ каналы hERG (Kv11.1) [230], через которые протекает быстрый выходящий K^+ ток замедленного выпрямления (Kr), преимущественно формирующий 3-ю фазу реполяризации КМ. Общеизвестно, что именно замедление формирования 3-й фазы реполяризации КМ ответственно за удлинение интервала QT на ЭКГ. Выше мы уже сообщали о том, что агонисты σ_1 -R обладают способностью блокировать hERG и тем самым подавлять *IKr* [93]. Нельзя исключить того факта, что избыточная экспрессия гена σ_1 -R, наблюдаемая на фоне систематической терапии галоперидолом, может повлечь за собой блокаду hERG-каналов и тем самым замедлить формирование 3-й фазы реполяризации и, следовательно, вызвать удлинение интервала QT на ЭКГ.

Также из литературы известно, что галоперидол обладает выраженной цитотоксичностью, в том числе и кардиотоксичностью [205]. Выше мы приводили данные о том, что σ_1 -R рассматривают как уникальный белковый комплекс, выполняющий в клетке функцию «скорой помощи», обладающий, в том числе и цитопротекторной активностью [48, 139]. В этом контексте не исключено, что кардиотоксичность галоперидола, в той или иной мере, связана с его способностью блокировать σ_1 -R в КМ. Также нельзя исключить, что кардиотоксичность галоперидола может вносить определенный вклад в удлинение интервала QT на ЭКГ.

В модельных экспериментах, выполненных на мышах с коарктацией аорты, показано, что систематическая терапия галоперидолом (0,1 мг/кг, per os, в течение 4-х недель) приводит к статистически значимому ($p < 0,01$) по сравнению с

контрольными животными с коарктацией аорты снижению (более чем на 50%) экспрессии гена σ_1 -R в КМ, а также к уменьшению ($p < 0,01$) продукции АТФ митохондриями и развитию интерстициального фиброза [220]. Согласно результатам эхокардиографических исследований, у крыс, получавших галоперидол, по сравнению с ложнооперированными фракция выброса снижается с 82% до 70% ($p < 0,01$), что, по мнению авторов, свидетельствует о том, что у животных, получавших галоперидол, развивается ремоделирование миокарда и формируется сердечная недостаточность. Помимо этого, авторы исследования отмечают, что в контрольной группе животных летальность составила 33%, когда как в группе, получавшей галоперидол – 86% ($p < 0,05$). В экспериментах *in vitro*, выполненных на неонатальных КМ крысы, показано, что галоперидол, блокируя σ_1 -R, усиливает ангиотензин II-индуцированную гипертрофию миокарда ($p < 0,01$), а также интенсифицирует апоптоз клеток сердца, о чем свидетельствует значимое ($p < 0,05$) по сравнению с контролем увеличение количества TUNEL-позитивных клеток [220]. Авторы этого исследования высказали предположение о том, что гипертрофия миокарда развивается вследствие нарушения митохондриальной мобилизации ионов Ca^{2+} , вызванной потерей σ_1 -R их функциональной активности, однако механизм этого феномена оставался не ясным. Позднее появились данные о том, что в основе этого процесса может лежать избыточная экспрессия микроРНК-297, приводящая к уменьшению пула функционально активных σ_1 -R на мембране СПР гипертрофированных КМ.

Известно, что перегрузка сердца давлением, что было смоделировано в вышеприведенном исследовании, инициирует стресс СПР [218, 270]. Стресс СПР и сопутствующая ему последующая гиперпродукция активных форм кислорода (ROS) инициируют в КМ экспрессию неправильно свернутых/развернутых белков, таких как PERK-киназы (син.РНК-киназы протеинкиназы или PKR-подобная ER-киназа), инозитол-требующего фермента 1 альфа (IRE1 α) и транскрипционного фактора 6 (ATF6), путем отмежевания от них молекулярного шаперона BiP [161]. IRE1 α является одной из основных трансмембранных сигнальных молекул СПР, а его активация инициирует нетрадиционное удаление

26-основного интрона из мРНК-связывающего белка х-box 1 (ХВР1s), который является ключевым передатчиком сигнала стресса в СПР [158]. Активированный ХВР1s стимулирует синтез различных белков, в том числе шаперонов СПР, компонентов деградации СПР (ERAD) и факторов транскрипции, которые облегчают расщепление белков. В модельных экспериментах на крысах, у которых гипертрофия ЛЖ сердца была вызвана коарктацией аорты, было показано, что у них по сравнению с ложнооперированными статистически значимо ($p < 0,05$) в КМ снижена экспрессия гена σ_1 -R: на 51% на уровне мРНК и на 34% на уровне белка [73]. Помимо этого, было зарегистрировано значительное увеличение (в 1,9 раза) экспрессии микроРНК-297 (miR-297). MiR - это небольшие некодирующие РНК, которые связываются с последовательностью 3'-нетранслируемой области (некодирующий участок мРНК, располагающийся на её 3'-конце после кодирующей области; 3'-UTR) целевого гена, что влечет за собой подавление его экспрессии. Показано, что miR-297 избирательно связывается 3'-UTR областью гена σ_1 -R и тем самым подавляет экспрессию гена σ_1 -R в гипертрофированных КМ [73]. Также в этом исследовании было продемонстрировано, что miR-297 инициирует развитие гипертрофии миокарда не только за счет подавления экспрессии гена σ_1 -R, но и путем активации ХВР1s и сопряженного с IRE1 α активирующего фактора транскрипции 4 – ATF4 (рисунок 6), а блокада активности miR-297 ее специфическим ингибитором RmiR-AN1221-SN-10 восстанавливает уровень экспрессии гена σ_1 -R и подавляет активность прогипертрофических факторов ХВР1s и ATF4.

В литературе имеется достаточное количество публикаций, подтверждающих вышеизложенное и свидетельствующих о том, что экспериментальная патология миокарда влечет за собой уменьшение пула σ_1 -R в КМ [80,220,236,237,246]. Так, например, в модельных экспериментах, в которых сердечную недостаточность у мышей вызывали путем коарктации аорты, показано, что у них через 4 недели после операции экспрессия гена σ_1 -R в КМ, по сравнению с ложнооперированными, была снижена ($p < 0,01$) более чем на 50% [233].

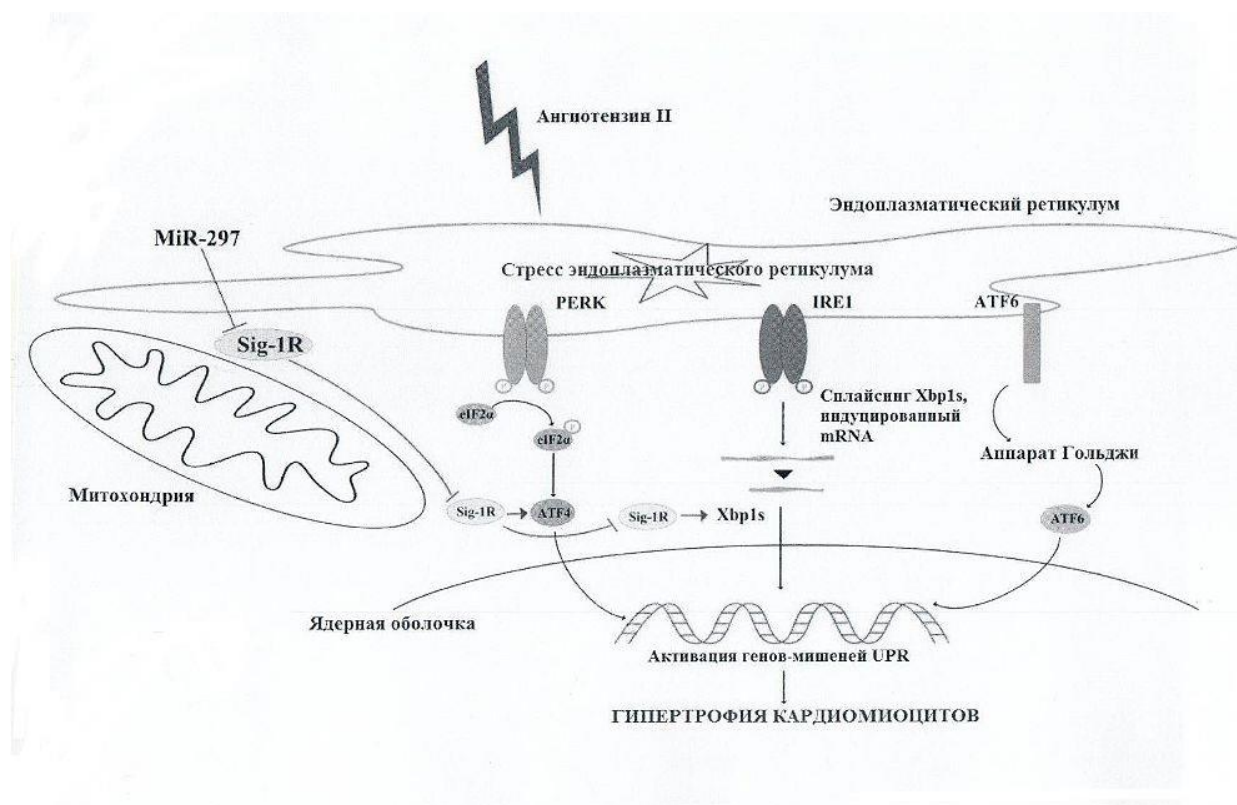


Рисунок 6 - Схематическое отображение роли miR-297 в развитии гипертрофии КМ [73].
Объяснение в тексте

В 2019 году были опубликованы результаты крупного экспериментального исследования, посвященного изучению влияния длительной терапии антагонистом σ_1 -R – BD1047 при внутрибрюшинном (в/б) введении (0,3 мг/кг, в течение 28 дней) на электрофизиологические и гистологические характеристики состояния предсердий крыс [263]. Было показано, что через 28 дней от момента начала терапии у крыс, получавших BD1047, по сравнению с контрольными эффективный рефрактерный период КМ уменьшился с $36,80 \pm 3,16$ ms до $19,4 \pm 2,50$ ms ($p < 0.01$), также статистически значимо ($p < 0.01$) уменьшилась и длительность потенциала действия APD90 (длительность потенциала действия на уровне 90% фазы реполяризации PD). Если у контрольных животных программная стимуляция предсердий (50 Гц в течение 2 с) не вызвала фибрилляцию предсердий (ФП), то у крыс ($n=10$), получавших BD1047, эпизоды ФП развивались в 80% случаев ($p < 0.01$). Анализ вариабельности сердечного ритма продемонстрировал, что у животных, получавших BD1047, усилена тоническая симпатическая активность и подавлено парасимпатическое звено

вегетативной регуляции, что влечет за собой развитие симпато-вагального дисбаланса, который, как известно, является одним из триггеров ФП [263]. Согласно данным гистологических и молекулярных исследований, у крыс, получавших BD1047, развивается интенсивный фиброз миокарда предсердий, а иммуноблоттинг свидетельствует о том, что в КМ значимо ($p < 0.01$) снижена экспрессия коннексина Cx40. В настоящее время фиброз миокарда предсердий рассматривается как ключевой субстрат для развития ФП, обеспечивающий структурное ремоделирование предсердий, приводящее к замедлению распространения нервного импульса и/или возникновению петли reentry [147]. Cx40 считается наиболее важным коннексином, экспрессируемым в предсердии, а его потеря тесно связана с замедлением проводимости, обеспечивающим аномальный субстрат для поддержания ФП [106].

Таким образом, основываясь на имеющихся литературных данных, можно говорить о том, что длительная блокада σ_1 -R влечет за собой развитие злокачественных наджелудочковых и желудочковых нарушений сердечного ритма, инициирует гипертрофию и ремоделирование сердца, приводящие к развитию сердечной недостаточности. Помимо этого, показано, что в условиях сердечной недостаточности экспрессия гена σ_1 -R в КМ значимо снижается.

Это заключение подтверждают результаты недавно опубликованного исследования, выполненного на нокаутных по σ_1 -R мышам, согласно которому у них, в отличие от интактных животных, развивается прогрессирующая систолическая дисфункция, приводящая к снижению фракции укорочения и фракции выброса, сопровождающаяся по данным гистохимических исследований фиброзом миокарда, отложением коллагена, а также увеличением содержания экстрацеллюлярного белка периостина, который, как известно, оказывает повреждающее действие на КМ, что, в свою очередь, приводит к нарушению их сократительной способности и последующей гибели, т.е. периостин провоцирует развитие ХСН. Ультраструктурный анализ показал, что у нокаутных по σ_1 -R животных КМ неправильной формы, количество митохондрий в них снижено, митохондрии увеличены в размерах и содержат аномальные кристы. Также в этом

исследовании продемонстрировано, что у нокаутных по σ_1 -R животных нарушена экспрессия митохондриальных регуляторных белков и существенно снижены показатели, отражающие дыхательную функцию митохондрий [66].

1.5. Роль σ_1 -R в кардиопротекции

Начиная с 2007 года, сотрудниками Университета Тохоку (Япония) и НИИ фармакологии имени В.В. Закусова (Россия) проводятся систематические экспериментальные исследования по изучению возможности использования агонистов σ_1 -R в качестве кардиопротективных лекарственных средств.

В качестве агонистов σ_1 -R японские исследователи используют «селективный» ингибитор обратного захвата серотонина антидепрессант флувоксамин [80,236,237], константа связывания которого с σ_1 -R = 36 nM [183], а также эндогенный агонист этих рецепторов дигидроэпиандростерон (DHEA) [79,234,].

Японские исследователи в модельных экспериментах, выполненных на подвергнутых билатеральной овариэктомии самках крыс, у которых сердечную недостаточность воспроизводили путем коарктации брюшной аорты между правой и левой почечными артериями, изучали кардиопротективные эффекты агониста σ_1 -R флувоксамина. Препарат (0,5 и 1,0 мг/кг) вводили per os с первого дня после коарктации аорты в течение 4 недель [76]. Овариэктомию проводили, исходя из ранее полученных авторами данных, свидетельствующих о том, что эта манипуляция на фоне коарктации брюшной аорты значительно ускоряет формирование и утяжеляет течение сердечной недостаточности, а также интенсифицирует развитие патологического ремоделирования миокарда, что, по их мнению, связано с аномальной активностью в КМ протеинкиназы В (Akt) и эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [74]. Показано, что у животных, получавших флувоксамин, уровень экспрессии гена σ_1 -R значительно выше, чем у контрольных животных (для дозы 0,5 мг/кг $p < 0,05$, а для дозы 1,0 мг/кг $p < 0,01$). Помимо этого было продемонстрировано, что у животных, получавших флувоксамин (1,0 мг/кг), значительно ($p < 0,001$) ниже интенсивность гипертрофии

миокарда, а инотропная функция ЛЖ выше ($p < 0,001$). Также на фоне терапии флувоксамином (1,0 мг/кг) в КМ ЛЖ значимо восстанавливалась активность eNOS ($p < 0,01$) и Akt ($p < 0,01$). Антагонист σ_1 -R – NE-100 (1 мг/кг) полностью блокировал кардиопротективное действие флувоксамина. Восстановление, обусловленное активацией σ_1 -R PI3K / Akt / eNOS сигнального пути, представляется достаточно важным поскольку, известно этот сигнальный каскад играет одну из ключевых ролей в регуляции/подавлении процессов апоптоза [128, 232].

Практически аналогичные данные были получены и при оценке результатов экспериментальной терапии агонистом σ_1 -R – DHEA (15 мг/кг и 30 мг/кг; per os, в течение 14 дней) самок крыс, подвергнутых овариэктомии и коарктации брюшной аорты [75].

В эксперименте, построенном по аналогичному плану, что и эксперименты по изучению кардиопротективного действия флувоксамина и DHEA, были изучены кардиопротективные эффекты селективного агониста σ_1 -R – (+)-пентазоцина (0,5 мг/кг и 1,0 мг/кг; в/б, в течение 14 дней). Было показано, что он так же, как и флувоксамин, и DHEA, восстанавливает сниженную экспрессию гена для σ_1 -R, снижает интенсивность гипертрофии и ремоделирования ЛЖ сердца, повышает его инотропную функцию [235]. Помимо этого было показано, что если у контрольных животных с коарктацией аорты экспрессия гена σ_1 -R в клетках сердечной мышцы ЛЖ была значимо снижена, то экспрессия гена IP3-R2 была значимо выше ($p < 0.01$). Систематическая терапия (+)-пентазоцином препятствовала избыточной экспрессии IP3-R2 и восстанавливала физиологическое соотношение σ_1 -R/IP3-R2. Авторы полагают, что восстановление дисбаланса между σ_1 -R/IP3-R2 на фоне терапии (+)-пентазоцином коррелирует с его кардиопротективной активностью [235].

Уровень экспрессии гена RyR2 у контрольных животных, в отличие от уровня экспрессии гена IP3-R2, не изменялся, однако уменьшение экспрессии гена σ_1 -R привело к снижению их регулирующего влияния на функциональную активность RyR2, что и реализовалось в резком увеличении RyR2–

опосредованного выброса ионов Ca^{2+} из депо СПР в цитозоль КМ. Увеличение уровня экспрессии гена $\sigma_1\text{-R}$ на фоне терапии (+)-пентазоцином приводило к восстановлению их ко-локализации с RyR2 на мембране СПР, что, в свою очередь, и препятствовало перегрузке ионами Ca^{2+} цитозоля КМ. Антагонист $\sigma_1\text{-R}$ – NE-100 (1 мг/кг) полностью блокировал все вышеприведенные эффекты (+)-пентазоцина.

Поскольку известно, что и избыточная экспрессия IP3-R2 , и дисрегуляция RyR2 влекут за собой как утечку ионов Ca^{2+} из депо СПР, так и нарушение энергопродуцирующей функции митохондрий, и, следовательно, активируют внутриклеточные сигнальные пути, которые способствуют развитию гипертрофии, инициируют нарушения сердечного ритма, ремоделирование ЛЖ сердца и последующее формирование сердечной недостаточности [182, 271], авторы этого исследования делают логичное заключение о том, что в основе кардиопротективного действия агонистов $\sigma_1\text{-R}$ лежит их способность восстанавливать IP3-R2 -опосредованную митохондриальную продукцию АТФ и подавлять RyR2 -опосредованную утечку ионов Ca^{2+} из СПР.

С теоретических позиций возможен и еще один механизм кардиопротективного действия агонистов $\sigma_1\text{-R}$.

Нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor, BDNF), относится к нейротрофинам – веществам, стимулирующим и поддерживающим развитие нейронов. BDNF, также как $\sigma_1\text{-R}$, синтезируется и локализуется на мембране СПР, при стрессе СПР оказывает протективное действие посредством активации специфичных для него TrkB -рецепторов, а также принимает участие в поддержании гомеостаза ионов Ca^{2+} в цитоплазме нейронов [120,170,178,202]. Показано, что агонисты $\sigma_1\text{-R}$ регулируют уровень экспрессии BDNF и сопряженные с ним сигнальные пути [196,259]. В частности, $\sigma_1\text{-R}$ потенцируют в кортикальных нейронах BDNF-индуцированную активацию сигнального пути $\text{PLC}\gamma / \text{IP 3} / \text{Ca}^{2+}$, который, как известно, играет важную роль в поддержании нормальной функциональной активности клеток [259].

В литературе также имеются данные о том, что BDNF играет важную роль в поддержании функциональной активности миокарда. Так например, показано, что у нокаутных по BDNF мышей, по сравнению с интактными, значимо больше площадь ИМ ($p < 0,05$), а инотропная функция ЛЖ ниже ($p < 0,01$) [187]. В этом же исследовании аналогичные результаты были получены и у нокаутных по TrkB-рецепторам мышей. Напротив, BDNF, введенный интракардиально крысам за сутки до воспроизведения ИМ, препятствовал снижению инотропной функции сердца (фракция выброса: ложнооперированные – 82%, контроль инфаркт 50% – $p < 0,001$, инфаркт + BDNF 74% – $p < 0,01$) и развитию постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца, а также способствовал уменьшению площади инфаркта ($p < 0,05$) [116]. Кроме того, было показано, что в КМ животных, получавших BDNF, уровень экспрессии гена каспазы-3 был снижен ($p < 0,05$) по сравнению контролем, а Bcl-2 – повышен ($p < 0,001$), что свидетельствует о том, что BDNF в условиях ИМ препятствует апоптозу КМ. Согласно клиническим наблюдениям, у пациентов с острым коронарным синдромом уровень BDNF в плазме крови по сравнению со здоровыми людьми существенно ниже ($p < 0,05$) [166].

В экспериментах *in vivo*, выполненных на крысах методом иммуноблот-анализа, показано, что систематическая терапия (в течение 2-х недель) высокоселективным агонистом σ_1 -R – кутамезином (SA4503, 1мг/кг, в/б), который инициирует активацию σ_1 -R посредством его диссоциации от шаперона BiP, приводила к двукратному статистически значимому ($p < 0,05$) повышению уровня BDNF в гиппокампе [143].

В экспериментах *in vitro*, выполненных на культуре клеток нейробластомы крысы B104, показано, что агонист σ_1 -R – кутамезин потенцирует превращение предшественника BDNF (proBDNF) в зрелый BDNF и усиливает секрецию зрелого BDNF во внеклеточное пространство [104]. Антагонист σ_1 -R – NE 100 (1,0 мг/кг) полностью блокирует BDNF-позитивное действие кутамезина. Авторы высказывают предположение о том, что поскольку σ_1 -R, локализованные преимущественно на мембране СПР, регулируют экспрессию BDNF, то они могут

ингибировать его агрегацию, индуцированную стрессом СПР, который, как известно, играет одну из ключевых ролей в патогенезе не только неврологических, но и сердечно-сосудистых заболеваний.

Поскольку известно, что в условиях ишемического повреждения миокарда в КМ значимо снижается экспрессия BDNF, приводящая, как было отмечено выше, к увеличению площади ишемического повреждения, ремоделированию ЛЖ сердца и апоптозу клеток сердца, есть все основания полагать, что стимуляция экспрессии BDNF в клетках сердца агонистами σ_1 -R может внести существенный вклад в их кардиопротективное действие.

В 2021 г. сходные результаты были получены J. Qu и соавторами, согласно которым агонист σ_1 -R флувоксамин уменьшал гипертрофию и фиброз миокарда у мышей с коарктацией аорты [203].

Таким образом, можно говорить о том, что согласно результатам исследований, проведенных японскими авторами, систематическая экспериментальная терапия агонистами σ_1 -R в условиях перегрузки сердца давлением препятствует развитию гипертрофии и ремоделированию миокарда и поддерживает его инотропную функцию, что свидетельствует о том, что агонистам σ_1 -R присуща кардиопротективная активность.

1.6 Влияние фабомотизола на систему кровообращения

Отечественные исследователи в качестве агониста σ_1 -R используют анксиолитик фабомотизол (афобазол), который согласно данным экспериментов *in vitro* активирует σ_1 -R в концентрации $5,9 \times 10^{-6}$ М [48].

При изучении влияния фабомотизола на систему кровообращения было установлено, что препарат в условиях ишемии мозга проявляет нейропротективную активность [48,94].

Показано, что фабомотизол в дозе 5 мг/кг в/в в условиях глобальной преходящей ишемии мозга вызывает усиление мозгового кровотока у контрольных крыс и кошек по сравнению интактными животными, а также

повышает выживаемость: в контрольной группе погибло 30% крыс, в то время как все животные, получавшие фабомотизол, выжили [29,52]. На модели ишемического инсульта, вызванного окклюзией средней мозговой артерии, в условиях терапии фабомотизолом в дозе 5 мг/кг дважды в сутки была выявлена хорошая сохранность стриопаллидарной системы, чёткое ограничение зоны ишемического некроза коры головного мозга, ранняя реперфузия и хорошая сохранность нейроцитов базальных и гипоталамических ядер, уменьшение выраженности гипоксических повреждений нейроцитов коры [2].

Установлено, что в условиях ишемического повреждения мозга фабомотизол в дозе 5 мг/кг в/в увеличивает активность каталазы в коре больших полушарий и способствует повышению устойчивости мембранных структур коры и стриатума к свободнорадикальным процессам [53]. Через 24 часа после ишемии мозга у крыс фабомотизол в дозе 10 мг/кг в/б восстанавливает нарушенный баланс возбуждающих и тормозных аминокислот в стриатуме и активирует эндогенную тауринзависимую систему нейропротекции [1].

Было исследовано влияние фабомотизола на мозговое кровообращение у крыс после перевязки коронарной артерии. Установлено, что препарат в дозе 5 мг/кг в/в увеличивает локальный мозговой кровоток у животных с ИМ в большей степени, чем у интактных и ложнооперированных крыс – $34,2 \pm 8,6\%$, $19,4 \pm 2,9\%$ и $15,0 \pm 3,8\%$ ($p < 0,05$), соответственно. При этом в условиях сочетанных нарушений коронарного и мозгового кровообращения фабомотизол увеличивает локальный мозговой кровоток значительно сильнее - $97,6 \pm 13,9\%$ ($p < 0,05$), чем в условиях ишемии мозга или ИМ [29].

В опытах на животных (кошки, крысы) с интактным миокардом было показано, что фабомотизол в дозах 0,5-5,0 мг/кг (в/в) не оказывает какого-либо влияния на основные показатели деятельности сердца и гемодинамики. При увеличении дозы препарата до 10 мг/кг в 1-е 5-20 минут отмечается незначительное и обратимое снижение АД и урежение ЧСС (порядка 5-7%), что свидетельствует о том, что препарат в указанных дозах гемодинамически нейтрален [56].

При изучении спектра антиаритмической активности фабомотизола на скрининговых моделях нарушения сердечного ритма было показано, что препарат обладает выраженным антиаритмическим и противофибрилляторным действием [14, 56].

В модельных экспериментах ваготонической ФП у кошек было показано, что фабомотизол (7,5 мг/кг в/в) в 7 из 8 случаев предотвращал развитие ваготонической ФП [57]. Эти результаты согласуются с клиническими наблюдениями, в которых на 65 пациентах было показано, что фабомотизол уменьшает как частоту, так и длительность пароксизмов ФП [1]. Наличие способности у агонистов σ_1 -R предотвращать ФП было продемонстрировано и в ряде экспериментальных исследований. Например, было показано, что систематическая экспериментальная терапия агонистом σ_1 -R соединением SA4503 препятствует развитию ФП у крыс с депрессией [162].

Препарат проявляет высокую антифибрилляторную активность и на моделях, воспроизводящих реперфузионную фибрилляцию желудочков сердца. Так, в опытах на наркотизированных кошках в условиях 30-минутной окклюзии и дальнейшей реперфузии коронарной артерии были получены следующие результаты: в контрольной серии опытов фибрилляция желудочков возникла у 6 животных из 10, тогда как у 12 животных, получавших фабомотизол (5 мг/кг в/в), фибрилляции желудочков ни в одном случае не развивалась [55].

Можно полагать, что в основе антиаритмической активности фабомотизола лежит способность препарата в диапазоне концентраций 100 – 1000 мкМ вызывать дозозависимую, обратимую блокаду быстрого входящего трансмембранного Na^+ тока (I_{Na}), быстрого (I_{kf}) и медленного (I_{ks}) трансмембранных выходящих K^+ токов, а также медленного трансмембранного входящего Ca^{2+} тока (I_{Ca}) [47].

Помимо антиаритмической активности, фабомотизол обладает и выраженным антиишемическим действием. На модели субэндокардиальной ишемии миокарда у крыс, вызываемой изопротеренолом, было показано, что фабомотизол (10 мг/кг в/в), так же, как и эталонный для этой модели антагонист

ионов Ca^{2+} верапамил (1 мг/кг в/в), статистически значимо ($p < 0,05$) уменьшают депрессию сегмента ST на ЭКГ. Галоперидол (0,5 мг/кг в/в) блокировал противоишемический эффект фабомотизола, но не влиял на антиишемическое действие верапамила [50], что также подтверждает вышеприведенные данные о том, что кардиопротективное действие фабомотизола связано с его сродством к σ_1 -R.

На модели ОИМ было показано, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в течение 14 дней) по сравнению с контролем статистически значимо ($p = 0,019$) подавляет экспрессию индуцибельной NO-синтазы (iNOS) в ишемизированном миокарде [18]. Эти данные хорошо согласуются с результатами исследований, полученными при изучении нейропротективной активности агонистов σ_1 -рецепторов в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*, свидетельствующими о том, что их протективная активность в значительной мере связана со способностью подавлять экспрессию iNOS и тем самым в условиях ишемии защищать нейроны от свободнорадикальной агрессии [151, 243].

Таким образом, имеющиеся в настоящее время данные позволяют говорить о том, что σ_1 -R играют одну из ключевых ролей в поддержании функциональной активности сердечной мышцы. Они оптимизируют работу трансмембранных ионных каналов, под их контролем находится гомеостаз ионов Ca^{2+} и процессы электромеханического сопряжения КМ, а благодаря своей шаперонной активности они контролируют процессы поступления ионов Ca^{2+} в митохондрии и тем самым обеспечивают энергетические потребности клеток сердца. В условиях патологии активированные σ_1 -R проявляют антиаритмическую/антифибрилляторную активность, реализуемую как путем блокады аномальной активности трансмембранных ионных каналов, так и путем стресс-протективного действия в отношении СПР. Со способностью σ_1 -R препятствовать/подавлять стресс СПР во многом связано и их антиишемическое действие, а также способность предотвращать развитие патологического ремоделирования ЛЖ сердца. Напротив, блокада σ_1 -R инициирует развитие

злокачественных нарушений сердечного ритма, провоцирует развитие гипертрофии и ремоделирования миокарда. Все выше сказанное позволяет рассматривать σ_1 -R как перспективную мишень для создания инновационных кардиотропных лекарственных средств.

Приведенное выше заключение подтверждают результаты опубликованного в декабре 2019 года системного анализа, посвященного роли σ_1 -R в кардиопротекции, из которого следует, что σ_1 -R являются крайне перспективной биомишенью для создания оригинальных кардиопротективных лекарственных средств [156].

Настоящее исследование, начатое в 2013 году, является одним из фрагментов систематического изучения спектра кардиопротективной активности фабомотизола, проводимого в НИИ фармакологии имени В.В. Закусова, и посвящено изучению морфологических характеристик кардиопротективного действия препарата и изучению молекулярных механизмов его действия.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

2.1. Экспериментальные животные

Опыты проводили на 176 белых беспородных крысах самцах начальной массой 160-200 г, полученных из ФГБУН «Научный центр биомедицинских технологий Федерального медико-биологического агентства», филиал «Столбовая». Животные имели ветеринарный сертификат и прошли карантин в виварии ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова». Животных содержали с предоставлением брикетированного корма *ad libitum* при регулируемом 12/12 световом режиме в соответствии с ГОСТ 33044-2014 от 01.08.2015 «Принципы надлежащей лабораторной практики», приказом Минздрава России № 199н от 01 апреля 2016 года «Об утверждении правил надлежащей лабораторной практики» и СП 2.2.1.3218-14 «Санитарно-эпидемиологические требования к устройству, оборудованию и содержанию экспериментально-биологических клиник (вивариев)» от 29 августа 2014 г. № 51. Крыс основных и контрольных групп содержали в стандартных клетках по 5-7 особей в каждой, с предоставлением брикетированного корма и воды *ad libitum* при регулируемом 12/12 (свет/темнота) световом режиме. Крыс основных и контрольных групп, подвергнутых алкоголизации, содержали в индивидуальных клетках стандарта Т/3. Все работы с лабораторными животными были выполнены в соответствии с общепринятыми нормами обращения с животными, на основе стандартных операционных процедур, принятых в НИИ фармакологии им. В.В. Закусова, международными правилами (Директива 2010/63/EU Европейского Парламента и Совета Европейского Союза от 22 сентября 2010 года по охране животных, используемых в научных целях) и, а также в соответствии с «Правилами работы с животными», утвержденными биоэтической комиссией ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В. Закусова».

2.2. Препараты и реактивы

Средства для наркоза:

- Кетамин, ФГУП «Московский эндокринный завод», Россия
- Уретан, “Acros organics”, Индия
- Эфир для наркоза, ООО «Кузбассоргхим»

Субстанции:

- Фабомотизола дигидрохлорид (афобазол), АО «Фармстандарт», Россия
- Триметазидин, АО «Фармстандарт», Россия

Лекарственные средства:

- Раствор натрия хлорида 0,9% изотонический, ООО «Мосфарм», Россия
- Спирт этиловый 96%
- Цефазолин-натрий, ОАО «Биосинтез», Россия

Реактивы для гистологии:

- Раствор формалина 10% забуференный, ООО «Биовитрум», Россия
- Раствор для гистологической проводки на основе изопропилового спирта

IsoPrep, Эрго Продакшн, Россия

- Парафин Leica Paraplast, Leica Biosystems, США
- Эозин 1% водный раствор, Эрго Продакшн, Россия
- Галлоцианин-хромовые квасцы, Serva, Германия
- Набор для окраски по Ван-Гизону, 100 тестов/упак., Эрго Продакшн,

Россия

- Среда для заключения препаратов Leica CV Mount, Leica Biosystems,

США

Реактивы для ПЦР:

- Раствор RNAlater (Ambion, США)
- TRI[®] Reagent (Sigma, США)
- ДНКза I
- ЭДТА

- Гексамерные Random праймеры и обратная транскриптаза M-MuLV в составе набора RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (США)
 - Универсальный набор реактивов для проведения ПЦР «в реальном времени» (ПЦР-РВ, “Евроген” Россия)
 - Праймеры для генов ООО "ДНК-Синтез", Россия
- Реактивы для генотоксикологических исследований:
- Фосфатно-солевой буфер (ФСБ)
 - 0.9% раствор легкоплавкой агарозы
 - Лизирующий буфер (10 mM Tris-HCl [pH 10], 2.5 M NaCl, 100 mM EDTA-Na₂, 1 % Triton X-100, 10% ДМСО)
 - Буфер 90 mM Tris-borate, 2 mM EDTA-Na₂ [pH 7.5]
 - Флуоресцирующий краситель SYBR Green I

2.3. Методы моделирования коронарогенного повреждения миокарда

2.3.1. Моделирование инфаркта миокарда

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Операцию проводили по методу A.Selye [211]. Крысу, находящуюся под эфирным наркозом, фиксировали на операционном столике в положении на спине. Удаляли шерсть с кожи в области грудной клетки, которую затем обрабатывали 70% раствором. Кожу разрезали вдоль грудины, с помощью специально изготовленных ранорасширителей раздвигали грудные мышцы. Ткани по краям раны изолировали стерильным бинтом. Торакотомию производили в 5-ом межреберье, ребра раздвигали, сердце извлекали из грудной клетки и осторожно отводили кверху ушко левого предсердия. С помощью стерильной атравматической иглы с нитью 3/0 под левую коронарную артерию, в 2-3 мм от ее начала подводили лигатуру, которую завязывали, нитку обрезали. Сердце возвращали в грудную полость, стягивали мышцы. Рану, после внесения в нее антибиотика (цефазолин-натрий), послойно ушивали. Операционное поле обрабатывали спиртовым 5% раствором йода. Операцию проводили с

максимально возможным соблюдением правил асептики и антисептики, использовали только стерильные резиновые перчатки, инструменты шовный материал. Ложнооперированным крысам подводили лигатуру под коронарную артерию, не завязывая ее. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии в соответствии с ГОСТом 33215-2014 с помощью транслокации шейных позвонков, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических исследований.

2.3.2. Моделирование хронической сердечной недостаточности (ХСН)

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 160-180 г. Так как наиболее эффективным и близким к клинической ситуации способом воспроизведения ХСН является постоянное прекращение кровотока в коронарной артерии [107,114,141], для моделирования ХСН воспроизводили ЭИМ так, как это описано в разделе 2.3.1. Ложнооперированным крысам подводили лигатуру под коронарную артерию, не завязывая ее. На 2-е сут. после воспроизведения ЭИМ крыс наркотизировали кетамином (100 мг/кг в/б) и проводили эхокардиографические исследования (цифровой ультразвуковой эхокардиограф DP-6600, Mindray, Китай, с электронным микроконвексным датчиком 65C15EA, 6,5/8,0 МГц) и в дальнейший эксперимент отбирали только тех животных, у которых диагностировали передний трансмуральный ЭИМ. Через 90 суток после операции у животных формируется ХСН, критерием развития которой являлось статистически значимое, по сравнению со 2-ым днем после окклюзии коронарной артерии, снижение фракции выброса + дилатация ЛЖ сердца. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии в соответствии с ГОСТом 33215-2014 с помощью транслокации шейных позвонков, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических исследований и молекулярно-биологических исследований.

2.4. Метод моделирования некоронарогенного повреждения миокарда

Для изучения некоронарогенной патологии миокарда была выбрана АКМП, трансляционная модель которой была разработана в ФГБНУ «НИИ фармакологии имени В.В.Закусова». АКМП моделировали на беспородных белых крысах самцах массой 180-200 г, к окончанию эксперимента масса животных составляла 400-650 г. Условия содержания крыс описаны в разделе 2.1. Животных подвергали принудительной алкоголизации, предоставляя в качестве единственного источника жидкости 10% раствора этанола. Среднесуточное потребление алкоголя в пересчете на чистый этанол колебалось в пределах 5.0-6.5 г/кг. Показано, что через 24 недели принудительной алкоголизации у животных развивалась АКМП, воспроизводящая основные клинико-диагностические признаки этого заболевания: дилатацию ПЖ и ЛЖ сердца, снижение инотропной функции сердца, жировую дистрофию миокарда, снижение электрической стабильности КМ [15]. По окончании эксперимента животных подвергали эвтаназии в соответствии с ГОСТом 33215-2014 с помощью транслокации шейных позвонков, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических исследований и молекулярно-биологических исследований.

2.5. Морфологические исследования

После проведения эвтаназии внутренние органы (сердца, печень, легкие) извлекали для последующих морфометрических и микроскопических исследований, фиксировали в 10% забуференном растворе формалина (готовый раствор производства ООО «Биовитрум», Россия).

Сердца после окончания фиксации и стандартной проводки (автоматизированный тканевой процессор Leica TP1020, Германия) образцы заливали в парафиновые блоки (система заливки тканей с графическим дисплеем Tissue-Tek®ТЕК™, США). Готовили гистологические срезы сердец (толщиной 5 мкм) с помощью микротомов ротационного Accu-Cut®SPM™, США. Точно также

проводили обработку легких и печени, полученных от животных с постинфарктной ХСН. В некоторых сериях опытов гистологические срезы сердец (15-20 мкм) готовили с помощью замораживающего микротомата.

Полученные срезы помещали на стекло с полилизинным покрытием (Menzel, Германия) и окрашивали галлоцианин-хромовыми квасцами (Serva, Германия) с последующей докраской 1% водным раствором эозина (Эрго Продакшн, Россия). Микропрепараты фотографировали цифровой зеркальной камерой Canon EOD 1000 с использованием макрообъектива. Фотографии сердец сохраняли в формате Jpeg и анализировали с помощью программы Adobe Photoshop CS5. Морфометрические измерения производили на поперечном срединном срезе сердца. Срезы микроскопировали в проходящем свете (микроскоп Nikon eclipse 55i, увеличение x100, x200, x400).

На срезах сердец оценивали абсолютную площадь ЛЖ, абсолютную и относительную площадь очага некроза, абсолютные и относительные площади полости ЛЖ, минимальный и максимальный диаметры полости ЛЖ, толщину передней стенки ЛЖ и межжелудочковой перегородки, у животных с АКМП измеряли также площадь полости правого желудочка (ПЖ). При проведении микроскопирования срезов сердец животных с подострой ишемией измеряли диаметр КМ, находящихся в зоне условно интактного миокарда (по 20 клеток в поле зрения). В группах животных с АКМП подсчитывали количество особей с жировой дистрофией миокарда.

2.6. Молекулярно-биологические исследования

Для молекулярных исследований забирали образцы миокарда ЛЖ. Образцы отмывали от крови в изотоническом растворе натрия хлорида при +4° С, после чего их помещали в раствор RNAlater (Ambion, США) и хранили до выделения РНК при температуре -20° С. Ткани, извлеченные из раствора RNAlater, гомогенизировали в жидком азоте и переносили в TRI[®]Reagent (Sigma, США). Выделение тотальной РНК осуществляли в соответствии с протоколом

производителя TRI® Reagent. Концентрацию суммарной РНК в образцах определяли на спектрофотометре NanoDrop® ND-1000 (Thermo Fisher Scientific Inc., США). Для предотвращения контаминации геномной ДНК выделенную суммарную РНК обрабатывали ДНКазой I. Добавив все компоненты, смесь инкубировали при 37° С в течение 30 мин. Фермент инактивировали нагреванием при 65 °С в течение 10 мин., предварительно добавив 25 мМ ЭДТА, из расчета 1 мкл на 10 мкл реакционной смеси, для предотвращения гидролиза РНК в процессе нагревания. Реакцию обратной транскрипции проводили с использованием гексамерных Random праймеров и обратной транскриптазы M-MuLV в составе набора RevertAid H Minus First Strand cDNA Synthesis Kit (США) в соответствии с протоколом производителя. Для амплификации фрагментов кДНК исследуемых генов и генов «домашнего хозяйства» использовали наборы специфических праймеров и универсальный набор реактивов для проведения ПЦР «в реальном времени» (ПЦР-РВ) фирмы «Евроген» (Россия), содержащий референтный краситель ROX. В качестве гена «домашнего хозяйства» был использован ген β-актина. Праймеры для генов были предоставлены ООО "ДНК-Синтез" с дополнительным праймером-зондом, содержащим флуоресцентный краситель FAM и его тушитель BHQ1. ПЦР-РВ проводили в 96-и луночном ПЦР-планшете («Bio-Rad Laboratories, Inc.», США) на амплификаторе CFX96™ Real-Time PCR Detection Systems (Bio-Rad Laboratories, Inc., США). Предварительную обработку результатов проводили с использованием программного обеспечения, прилагаемого к прибору. Дальнейшая обработка проводилась с использованием алгоритма $2^{-\Delta\Delta C_t}$. Расчет уровня матричной РНК (мРНК) проводили с использованием алгоритма $\text{deltadelta}(C_t)$, в основу которого положены относительные изменения пороговых циклов (C_t) исследуемого и референтного гена в опытных и контрольных образцах.

2.7. Электрофизиологические исследования

В отдельной серии экспериментов у крыс с АКМП определяли порог электрической фибрилляции желудочков сердца у крыс. Исследование проводили через сутки после последней инъекции изучаемых веществ в условиях неингаляционного наркоза (уретан, 1300 мг/кг, в/в) и ИВЛ. Грудную клетку перикард вскрывали. В миокард ЛЖ на расстоянии 0,5 см друг от друга имплантировали два позолоченных электрода. Порог электрической фибрилляции сердца определяли повторяющимся сканированием уязвимого периода сердечного цикла серией из 20 прямоугольных импульсов постоянного тока увеличивающейся интенсивности (длительность стимула – 4 мсек, частота – 50 имп/сек). За порог фибрилляции желудочков принимали минимальную силу тока, вызывающую при двукратном повторении фибрилляцию желудочков. В работе использовали электростимулятор HSE Stimulator II (Hugo Sach Elektronik, Германия). В течение всего эксперимента регистрировали ЭКГ (II стандартное отведение). В качестве регистратора использовали электрокардиограф ЭК 4Т-02 (Россия). Визуальный контроль регистрируемых параметров в течение всего эксперимента производили при помощи 4-канального осциллографа фирмы Elema-Siemens (Швеция).

2.8. Оценка уровня поврежденности ДНК в клетках миокарда крыс

Метод ДНК-комет проводили в щелочной и нейтральной версии в соответствии с рекомендациями [44,118]. Сердечную мышцу измельчали препаративными ножницами, дважды отмывали в 3 мл охлажденного до 4°C фосфатно-солевого буфера (ФСБ), содержащего 20 мМ EDTA-Na₂ и 10% ДМСО (рН 7,5), переносили в стеклянные пробирки с 3 мл того же буфера и раздавливали стеклянной палочкой. Пробирки выдерживали 5 мин для осаждения крупных фрагментов, после чего 1,5 мл верхнего слоя переносили в новую пробирку. Суспензии клеток в объеме 60 мкл вносили в пробирки с 240 мкл 0,9%

раствора легкоплавкой агарозы (темп. плав. <42 С) в ФСБ, подогретым до 41⁰ С (микротермостат «Термит», Россия) и ресуспендировали. Затем 60 мкл раствора агарозы с клетками наносили на предварительно покрытые 1% универсальной агарозой предметные стекла, покрывали покровным стеклом и помещали на лед. Покровные стекла осторожно удаляли, микропрепараты помещали в стеклянную кювету (тип Шиффендекер), заливали предварительно охлажденным до 4°С лизирующим буфером (10 мМ Tris-HCl [pH 10], 2,5 М NaCl, 100 мМ EDTA-Na₂, 1 % Triton X-100, 10% ДМСО) и инкубировали не менее 1 часа.

В щелочной версии метода после окончания лизиса микропрепараты переносили в камеру для электрофореза (SubCell GT, “Bio-Rad”) с раствором 300 мМ NaOH, 1 мМ EDTA-Na₂, pH>13) и инкубировали в течение 20 минут для реализации щелочно-лабильных сайтов и щелочной денатурации ДНК. Далее проводили электрофорез в течение 20 минут при напряженности поля 1V/cm и силе тока ~300 мА. В нейтральной версии метода микропрепараты переносили в камеру для электрофореза с буфером 90 мМ Tris-borate, 2 мМ EDTA-Na₂ [pH 7.5] и проводили электрофорез в течение 10 минут при напряженности поля 1V/cm. В обоих случаях по окончании электрофореза микропрепараты переносили в стеклянную кювету и фиксировали в 70% растворе этилового спирта в течение 15 минут. После фиксации микропрепараты высушивали и хранили до анализа при комнатной температуре.

Микропрепараты окрашивали флуоресцирующим красителем SYBR Green I (1:10000 в TE-буфере с 50% глицерином, pH 8,5) в течение 20 минут. Анализ проводили на эпифлуоресцентном микроскопе Микмед-2 12Т («Ломо», Россия), совмещенном с цифровой камерой высокого разрешения (VEC-335, «ЭВС», Россия), при увеличении x200. Изображения ДНК-комет анализировали с использованием программного обеспечения CASP 1.2.2. В качестве показателя поврежденности ДНК использовали процентное содержание ДНК в хвосте ДНК-комет (%ДНК в хвосте). В отдельные категории выделяли клетки с показателем %ДНК в хвосте >75%, т.н. атипичные ДНК-кометы (*ghost cells*) - клетки с высокой степенью фрагментации ДНК, а также т.н. «малые» ДНК-кометы,

имеющие типичную морфологию, но при этом значимо меньшие размеры. Подсчитывали их процентное содержание к общему числу проанализированных клеток.

2.9. Статистическая обработка результатов

Данные, измеренные с помощью количественных шкал. Нормальность распределения анализируемых выборок проверяли с помощью критерия Шапиро-Уилка, гомогенность дисперсий по Левену. В тех случаях, когда анализируемые выборки имели распределение близкое к нормальному и дисперсии значимо не различались (а это большинство случаев) для определения статистической значимости различий в случае 3 и более выборок использовали однофакторный дисперсионный анализ с дальнейшей обработкой с помощью критерия множественных сравнений по Ньюмену-Кейлсу или по Даннету. В случае сравнения 2 выборок использовали t-критерий Стьюдента для независимых выборок. Результаты выражали в виде средних арифметических и их стандартных ошибок.

Обработка данных полученных при проведении молекулярных исследований проводилась с использованием метода ddCt с учетом эффективности праймеров. При оценке данных использовали t-критерий Стьюдента.

В тех случаях, когда допущения применения указанных выше параметрических методов не соблюдались, использовали непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по Крускалу-Уоллису с дальнейшей обработкой с помощью критерия множественных сравнений по Данну. Результаты выражали в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей.

Данные, измеренные с помощью порядковых (ранговых) шкал. При использовании такого рода шкал использовали непараметрический аналог однофакторного дисперсионного анализа по Крускалу-Уоллису с дальнейшей обработкой с помощью критерия множественных сравнений по Данну. Результаты выражали в виде медиан и нижнего и верхнего квартилей.

Данные, измеренные с помощью категориальных (номинальных) шкал. В этих случаях использовали метод точной вероятности Фишера (гистологические исследования) и критерий χ^2 (геннотоксические исследования) с учетом множественности сравнений.

В всех случаях критический уровень значимости $\alpha=0,05$.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ СОБСТВЕННЫХ ИССЛЕДОВАНИЙ

3.1. Изучение морфологических особенностей и молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола при коронарогенном повреждении миокарда

3.1.1. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с острым инфарктом миокарда

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Животных рандомизировали на 3 группы: 1-я - ложнооперированные животные (n=6); 2-я – животные с ИМ – контроль (n=5); 3-я – животные с ИМ, получавшие фабомотизол (n=5). Для воспроизведения ИМ у крыс воспроизвели одномоментную перевязку левой коронарной артерии на 1-2 мм ниже ее выхода из-под левого ушка предсердия, по методу Селье [211]. Ложнооперированным крысам подводили лигатуру под коронарную артерию. Во 2-ю и 3-ю группу включали только тех животных, у которых через 1 час после перевязки коронарной артерии в I-ом и/или II-ом стандартных отведениях ЭКГ регистрировали глубокий зубец Q. Фабомотизол вводили животным 3-й группы в/б 1 раз в сутки в течение 15 дней в дозе 15 мг/кг, первое введение осуществляли сразу по окончании операции. Крысам контрольной группы, а также ложнооперированным животным по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Через 24 часа после заключительного введения препаратов крысам проводили эвтаназию, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических исследований.

3.1.1.А Результаты патологоанатомического вскрытия:

– *ложнооперированные животные.* Сердца тёмно-красного цвета, конусообразной формы (рисунок 7А). Эпикард обычного вида. Полости сердца запустевшие, не расширены. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Консистенция сердечной мышцы не изменена. Визуально толщина стенок ЛЖ и

ПЖ в пределах нормы. Эндокард и миокард без особенностей. Венечные сосуды умеренно кровенаполнены.

Таким образом, морфологическая картина сердец соответствует анатомической норме.

– *животные контрольной группы (ИМ)*. Сердца тёмно-красного цвета с выраженной областью цианоза. Форма сердца близка к шаровидной (рисунок 7Б). Полости сердца кровенаполнены, дилатированы, предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Ниже места перевязки левой коронарной артерии на передней стенке ЛЖ визуализируется зона некроза, имеющая неправильную форму и сероватый оттенок. Передняя стенка ЛЖ истончена. Консистенция сердечной мышцы дрябловата. Венечные сосуды кровенаполнены.

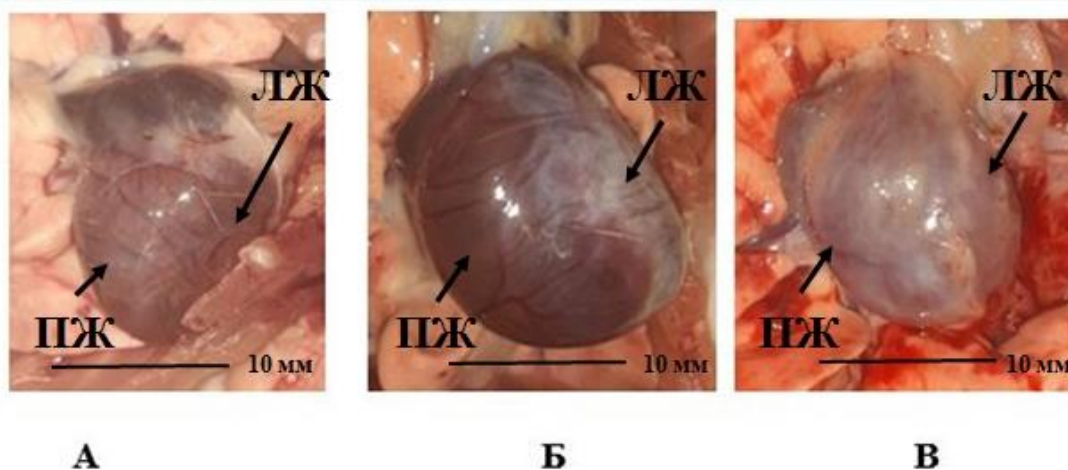


Рисунок 7 - Макропрепараты сердец крыс.

Примечание: А – сердце ложнооперированного животного, Б – сердце контрольного животного с ИМ, В – сердце животного, получавшего фабомотизол (15 мг/кг/сут в/б) с 1-го по 15-й день после воспроизведения ИМ

– *животные основной группы (ИМ + фабомотизол)*. Сердца тёмно-красного цвета с незначительной областью цианоза, которая располагается преимущественно вокруг зоны некроза. Форма сердца ближе к конусообразной (рисунок 7В). Полости сердца кровенаполнены, незначительно дилатированы. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Ниже места перевязки левой коронарной артерии на передней стенке ЛЖ визуализируется зона некроза, имеющая неправильную форму и сероватый оттенок, однако ее размеры

визуально меньше, чем у контрольных животных (рисунок 7В). Передняя стенка ЛЖ менее истончена, чем в контрольной группе. Консистенция сердечной мышцы дрябловата. Венечные сосуды умеренно кровенаполнены.

Таким образом, согласно результатам патологоанатомического вскрытия, у животных контрольной группы диагностируется передний или переднебоковой трансмуральный ИМ, сопровождающийся истончением стенки ЛЖ сердца. У животных, получавших курсовую терапию фабомотизолом, визуально площадь ИМ меньше, передняя стенка ЛЖ сердца менее истончена, миокард менее дряблый.

3.1.1.Б. Результаты морфометрических измерений

– ложнооперированные животные

Как следует из результатов морфометрических измерений, размеры сердца ложнооперированных крыс соответствуют физиологическим нормам (таблица 1). Так, например, площадь полости ЛЖ составляет $10,8 \pm 0,9$ мм², а максимальный диаметр его полости равняется $3,8 \pm 0,1$ мм.

– животные контрольной группы (ИМ).

У контрольных животных на 15-е сутки после воспроизведения ИМ, согласно данным морфометрии, отмечается статистически значимое увеличение размеров ЛЖ сердца (таблица 1), что свидетельствует о том, что у них начинает формироваться постинфарктное ремоделирование сердца. Так, если у ложнооперированных крыс площадь полости ЛЖ составляет $10,8 \pm 0,9$ мм², у животных контрольной группы она значимо больше $24,1 \pm 0,5$ мм² ($p < 0,05$). Площадь ИМ у контрольных крыс составляет $11,7 \pm 1,2$ мм² или $32,9 \pm 4,7\%$ от площади ЛЖ сердца.

Таблица 1 - Влияние систематической терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в/б) на морфометрические показатели ЛЖ сердца крыс с острым ИМ

Группа	Площадь ИМ, мм ²	Относительная площадь ИМ, %	Толщина передней стенки ЛЖ, мм	Площадь ЛЖ, мм ²	Площадь полости ЛЖ, мм ²	Площадь миокарда, мм ²
ЛО, n= 6			3,96±1,2 p<0,05	68.2±6,31 p<0,05	10,8±0,9 p<0,05	60,6±3,9 p>0,05
ИМ контроль n=5	11,7±1,2	32,9±4,7	1,04±0,7	80,4±3,22	24,1±0,5	55,3±2,7
ИМ+ фабомотизол n=5	4,4±1,0 p=0,002	15,1±5,6 p=0,042	1,49,±,0, 6 p=0,275	71,8±4,75 p=0,059	13,8±2,9 p=0,024	57,1±2,8 p=0,311

Примечание: p указано по отношению к контролю

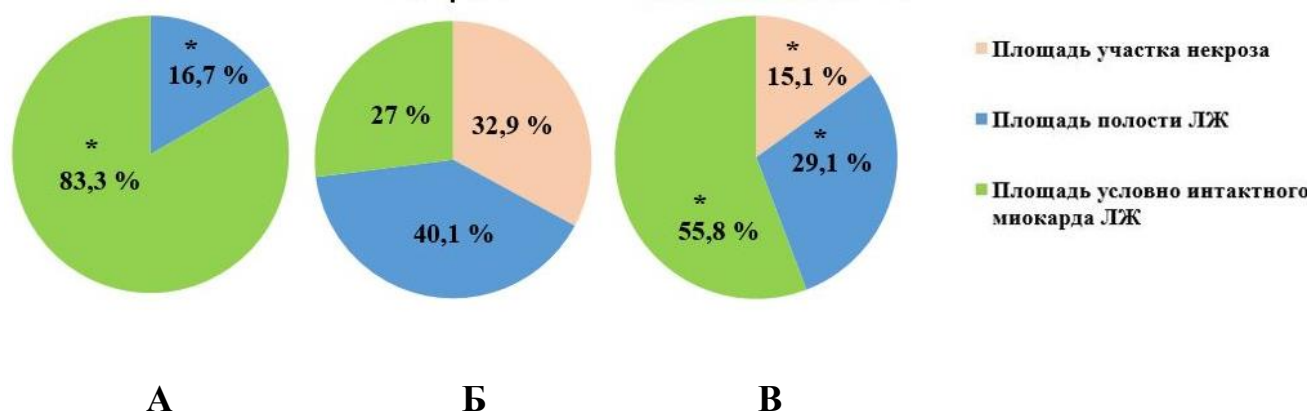


Рисунок 8 - Влияние терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут в/б, 1-14 сут. после ИМ) на величину зоны некроза и размеры полости ЛЖ сердца крыс (% от площади ЛЖ) в условиях острой ишемии миокарда.

Примечание 1: ИМ –инфаркт миокарда, ЛЖ – левый желудочек сердца.

А - ложнооперированные крысы

Б – контрольные крысы с ИМ

В – крысы с ИМ, получавшие фабомотизол (15 мг/кг/сут в/б)

Примечание 2: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ИМ

– животные основной группы (ИМ + фабомотизол)

Морфометрические измерения размеров сердца животных, которые в течение 14-и дней получали фабомотизол, свидетельствуют о том, что препарат проявляет кардиопротекторную активность (таблица 1, рисунок 8В). Так, если у контрольных животных площадь ИМ составляет $11,7 \pm 1,2$ мм² или $32,9 \pm 4,7\%$ от площади ЛЖ, то у леченных животных этот показатель значительно меньше, соответственно $4,4 \pm 1,0$ мм² ($p=0,002$) и $15,1 \pm 5,6\%$ ($p=0,042$). То же касается и площади полости ЛЖ – у леченных крыс она меньше, соответственно $13,8 \pm 2,9$ мм² и $24,1 \pm 0,5$ мм² ($p=0,024$).

Таким образом, результаты морфометрических измерений свидетельствуют о том, что систематическая терапия фабомотизолом, начатая с 1-го дня после воспроизведения ИМ, способствует не только значимому уменьшению зоны некроза, но и в определенной мере препятствует развитию раннего постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца. Данные, полученные в настоящей серии экспериментов, позволяют говорить о том, что фабомотизолу присуще кардиопротективное действие.

3.1.1.В. Результаты микроскопического исследования

– ложнооперированные животные.

Гистоархитектоника сердец крыс ложнооперированной группы не нарушена. Изредка между отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Миокард представлен поперечнополосатыми клетками сердечной мышцы (КМ), расположенными послойно. КМ имеют характерную форму и величину. В КМ выявляется отчетливо выраженная поперечная исчерченность. Ядра КМ хорошо различимы, имеют характерную величину. Изредка обнаруживаются гипертрофированные ядра КМ с распыленным хроматином. Между мышечными элементами миокарда выявляются рыхлая соединительная ткань и кровеносные сосуды. Сосуды миокарда полнокровны. Таким образом, микроскопическая картина миокарда ложнооперированных животных соответствует норме.

– животные контрольной группы (ИМ).

Для сердец животных данной группы характерна выраженная дилатация полости ЛЖ. Передняя стенка ЛЖ сильно истончена. На поперечном срединном срезе миокарда ЛЖ сердца определяются очаг ишемического поражения, периинфарктная зона и зона условно интактного миокарда.

В очаге некроза выявляется реактивное воспаление с инфильтрацией полиморфноядерными лейкоцитами. Между КМ обнаруживаются кровоизлияния. Сосуды расширены, полнокровны, стенки сосудов истончены. Некротизированные КМ набухшие, бесструктурные, поперечная исчерченность отсутствует. В некротизированных КМ обнаруживается плазмокоагуляция. Ядра КМ подвержены кариолизису (рисунок 9).

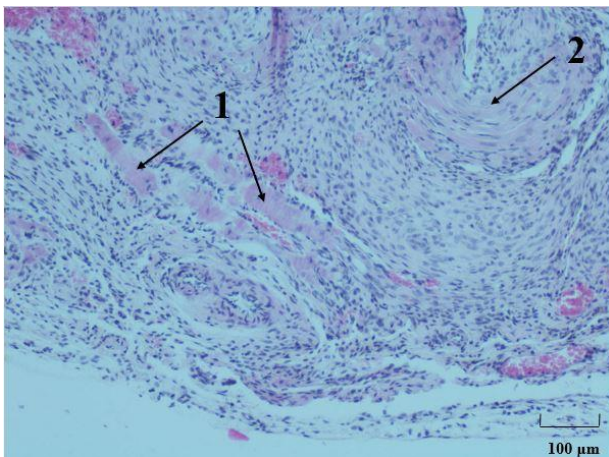


Рисунок 9 - Микрофотография зоны некроза сердечной мышцы крысы контрольной группы с ИМ. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: 1 – плазмокоагуляция в КМ, 2– потеря поперечной исчерченности в КМ

В периинфарктной зоне миокарда между отдельными группами КМ обнаруживаются кровоизлияния. Сильно выражена волнообразная деформация и фрагментация клеток сердечной мышцы (рисунок 10). В КМ выявляется слабо выраженная поперечная исчерченность. Ядра КМ хорошо различимы.

В зоне условно интактного миокарда между отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Большая часть неизмененных клеток сердечной мышцы имеют характерную форму и величину. В КМ выявляется отчетливо выраженная поперечная исчерченность.

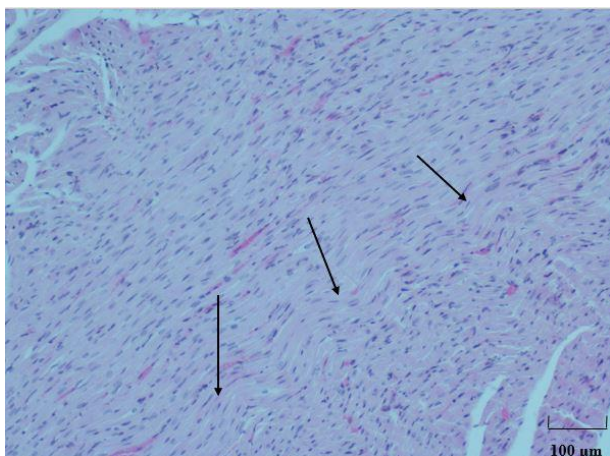


Рисунок 10 - Микрофотография периинфарктной зоны сердечной мышцы крысы контрольной группы с ИМ. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: стрелками показаны участки с воолнообразной деформацией клеток сердечной мышцы

– животные основной группы (ИМ + фабомотизол).

У животных этой группы, как и в контрольной группе, на поперечном срединном срезе миокарда ЛЖ сердца определяются очаг некроза, периинфарктная зона и зона условно интактного миокарда. Визуально истончение передней стенки ЛЖ и дилатация его полости менее выражены, чем у крыс контрольной группы. Дилатация полости ЛЖ и истончение его передней стенки визуально были менее выражены, чем в контроле, что подтверждается проведенными выше морфометрическими измерениями.

Патологические изменения в очаге некроза не отличаются от таковых, выявленных у контрольных животных (рисунок 11).

В периинфарктной зоне миокарда изредка между отдельными группами КМ обнаруживаются кровоизлияния. Воолнообразная деформация и фрагментация клеток сердечной мышцы выражены слабее, чем в контроле. Большинство миофибрилл, в отличие от контрольной группы, в периинфарктной зоне имеют выраженную поперечную исчерченность. Неизмененные ядра КМ хорошо различимы, имеют характерную величину (рисунок 12).

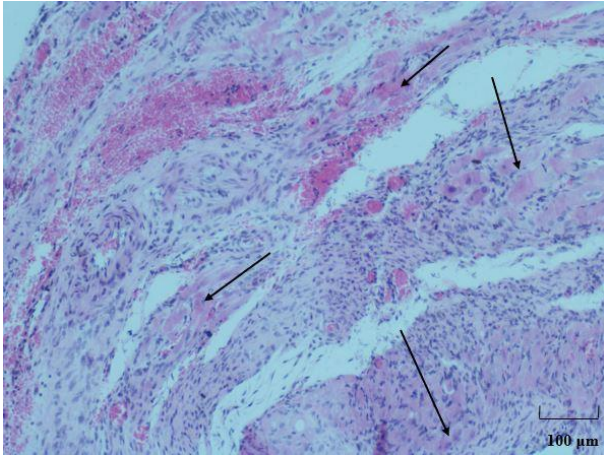


Рисунок 11 - Микрофотография зоны некроза сердечной мышцы крысы с ИМ, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: стрелками показаны участки с плазмокоагуляцией и исчезновением поперечной исчерченности в КМ

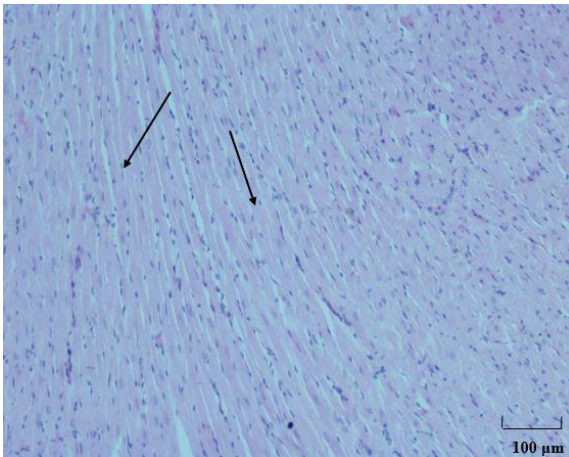


Рисунок 12 - Микрофотография периинфарктной зоны сердечной мышцы крысы контрольной группы с ИМ, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: стрелками показаны неизмененные КМ

В зоне условно интактного миокарда гистологическая картина миокарда не отличается от таковой у контрольных животных.

Таким образом, согласно результатам гистологических исследований фабомотизол в условиях настоящего эксперимента проявляет кардиопротективную активность:

– дилатация полости ЛЖ и истончение его стенок у животных, получавших фабомотизол, менее выражены, чем у контрольных крыс;

– волнообразная деформация и фрагментация КМ в перинфарктной зоне у крыс, получавших фабомотизол, менее выражены, чем в контрольной группе, тогда как поперечная исчерченность миофибрилл выражена сильнее.

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами [30,33,42].

3.1.2. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с подострым инфарктом миокарда

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. Животных рандомизировали на 3 группы: 1-я – ложнооперированные животные (n=8); 2-я – животные с ИМ – контроль (n=6); 3-я – животные с ИМ, получавшие фабомотизол (n=6). Для воспроизведения ИМ у крыс проводили одномоментную перевязку левой коронарной артерии на 1-2 мм ниже ее выхода из-под левого ушка предсердия, по методу Селье [211]. Ложнооперированным крысам подводили лигатуру под коронарную артерию. Во 2-ю и 3-ю группу включали только тех животных, у которых через 1 час после перевязки коронарной артерии в I-ом и/или II-ом стандартных отведениях ЭКГ регистрировали глубокий зубец Q. Фабомотизол вводили животным 3-й группы в/б 1 раз в сутки с 15-го по 28-й день после ИМ в дозе 15 мг/кг. Крысам контрольной группы, а также ложнооперированным животным по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Через 24 часа после заключительного введения препаратов крысам проводили эвтаназию, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических исследований.

3.1.2.А. Результаты патологоанатомического вскрытия

Визуальный осмотр сердец ложнооперированных животных, животных контрольной и основной группы позволяет сделать заключение о том, что их патологоанатомическая картина близка к таковой описанной в разделе 3.1.1.1.А (рисунок 7 А, 13 А). Визуально передняя стенка ЛЖ у животных, получавших

фабомотизол, если и истончена, то существенно меньше, чем у контрольных крыс (рисунок 13 Б, В).

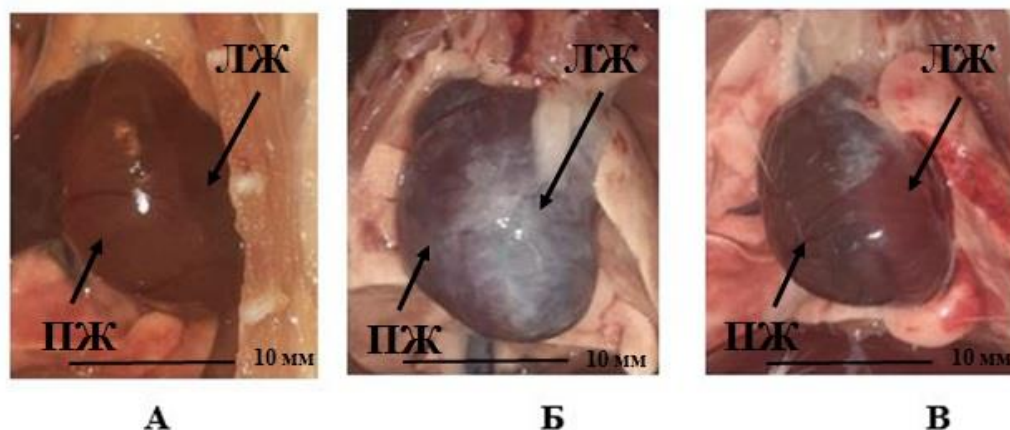


Рисунок 13 - Макропрепараты сердец крыс.

Примечание: А – сердце ложнооперированного животного, Б – сердце контрольного животного с ИМ, В – сердце животного, получавшего фабомотизол (15 мг/кг/сут в/б) с 15-го по 28-й день после воспроизведения ИМ

3.1.2.Б. Результаты морфометрических измерений

– ложнооперированные животные

Морфометрические измерения сердец ложнооперированных крыс свидетельствуют о том, что они соответствуют физиологическим нормам (таблица 2, рисунок 14 А). В частности, площадь полости ЛЖ составляла $11,72 \pm 1,13 \text{ мм}^2$ ($p=0,0002$), а диаметр его полости был равен $4,42 \pm 0,25$ ($p=0,0002$) мм.

– животные контрольной группы (ИМ).

Согласно данным морфометрии, у контрольных животных через месяц после воспроизведения ИМ, отмечается статистически значимое увеличение размеров ЛЖ сердца (таблица 2, рисунок 14 Б), что позволяет говорить о том, что у них развивается постинфарктное ремоделирование сердца. Так, если у ложнооперированных крыс площадь полости ЛЖ составляет $11,72 \pm 1,13 \text{ мм}^2$, при этом в контрольной группе она составляет $24,82 \pm 2,05 \text{ мм}^2$ ($p < 0,05$). Дилатация ЛЖ сопровождается истончением его передней стенки. Так, например, у ложнооперированных крыс средняя толщина передней стенки ЛЖ равна $2,25 \pm 0,16$ мм, тогда как в контрольной группе этот показатель составляет только $0,98 \pm 0,024$

мм ($p < 0,05$). Площадь ИМ у контрольных крыс составляет $6,91 \pm 0,42$ мм² или 22,23% от площади ЛЖ сердца.

– животные основной группы (ИМ + фабомотизол).

У животных, получавших фабомотизол, результаты морфометрии свидетельствуют о том, что препарат значительно уменьшает степень ремоделирования ЛЖ: площадь полости ЛЖ сердца у крыс, получавших фабомотизол, была статистически значимо ($p = 0,002$) меньше, чем у контрольных животных – соответственно $14,68 \pm 0,68$ мм² и $24,82 \pm 2,05$ мм² (таблица 2, рисунок 14В). В отличие от контрольных животных, у крыс, получавших фабомотизол, толщина передней стенки ЛЖ значительно больше, соответственно $1,50 \pm 0,34$ мм и $0,98 \pm 0,0,24$ мм ($p < 0,05$).

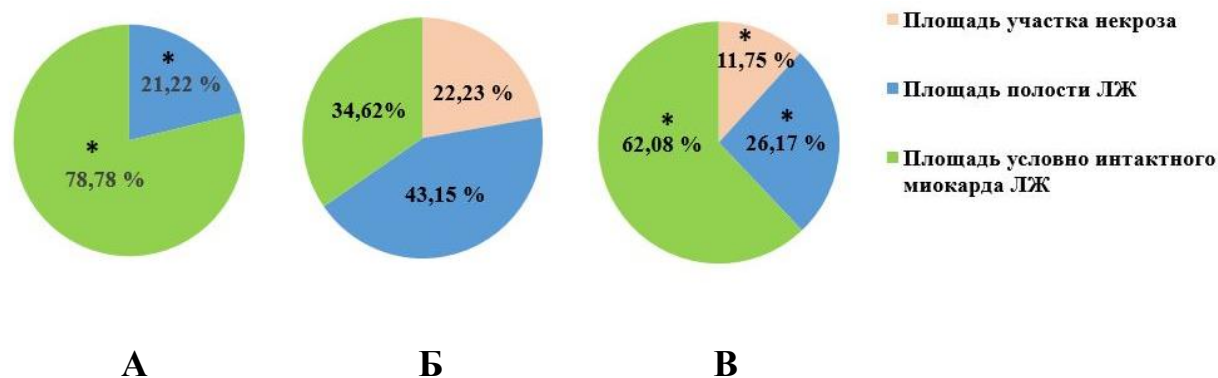


Рисунок 14 - Влияние терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в/б, 15-28 сут. после ИМ) на площадь миокарда ЛЖ у крыс в условиях подострой ишемии миокарда (% от площади ЛЖ).

Примечание 1: ИМ – инфаркт миокарда, ЛЖ – левый желудочек сердца

А - ложнооперированные крысы

Б – контрольные крысы с ИМ

В – крысы с ИМ, получавшие фабомотизол (15 мг/кг/сут в/б)

Примечание 2: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с подострой ишемией миокарда

При морфометрической оценке диаметра КМ, находящихся в зоне условно-интактного миокарда, показано, что у крыс, получавших фабомотизол, диаметр КМ был статистически значимо ($p < 0,001$) меньше, чем у контрольных животных, соответственно $11,42 \pm 0,15$ мкм и $12,50 \pm 0,16$ мкм (рисунок 15).

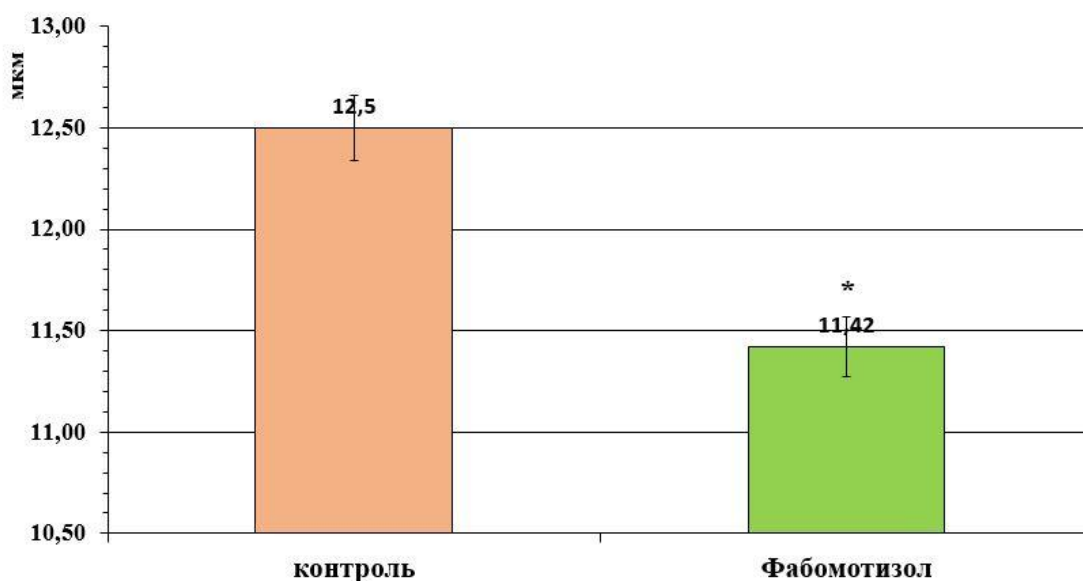


Рисунок 15 - Влияние терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в/б) на диаметр КМ ЛЖ сердца у крыс.

Примечание 1: По оси ординат диаметр КМ, мкм.

Примечание 2: * - $p \leq 0,05$ по отношению к контрольной группе крыс с ИМ

Таблица 2 - Влияние терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в/б) на морфометрические показатели ЛЖ сердца крыс при его применении с 15-го дня после воспроизведения ИМ

Группа	Площадь ИМ, мм ²	Относительная площадь, ИМ%	Толщина передней стенки ЛЖ, мм	Площадь ЛЖ, мм ²	Площадь полости ЛЖ, мм ²	Площадь миокарда ЛЖ, мм ²
ЛО n=8			2,25±0,16 p=0,005	54,69±2,24 p=0,67	11,72±1,13 p=0,0002	42,98±1,49 p=0,0006
ИМ контроль n=6	6,91±0,42	22,23±3,03	0,98±0,0,2 4	58,24±4,38	24,82±2,05	26,51±3,91
ИМ + Фабомо- тизол n=6	4,72±0,69 p=0,0216	11,75±2,23 p=0,019	1,50±0,34 p<0,05	56,42±1,69 p=0,66	14,68±0,68 p=0,0002	37,03±2,57 p=0,0122
Примечание: p указано по отношению к контролю						

Не менее важно и то, что площадь миокарда ЛЖ сердца у животных, получавших фабомотизола, была статистически значимо ($p=0,0122$) больше, чем у контрольных крыс – соответственно $37,03 \pm 2,57$ мм² и $26,51 \pm 3,91$ мм² (таблица 2, рисунок 14).

Исходя из этих наблюдений есть все основания полагать, что в условиях настоящего эксперимента на фоне систематического приема фабомотизола, помимо прочего, происходит восстановление функционально активной массы миокарда.

3.1.2.В Результаты микроскопического исследования

– *ложнооперированные животные*. Гистологическая картина миокарда ложнооперированных животных не отличалась от таковой, описанной в подразделе 3.1.1.В.

– *животные контрольной группы (ИМ)*. Для сердец животных данной группы характерна выраженная дилатация полости ЛЖ. Передняя стенка ЛЖ сильно истончена. На поперечном срединном срезе миокарда ЛЖ сердца определяются очаг ишемического поражения, перинфарктная зона и зона условно интактного миокарда.

В зоне некроза, в значительной мере замещенной соединительной тканью, визуализируется неспецифическая грануляционная ткань с большим количеством фибробластов (рисунок 16).

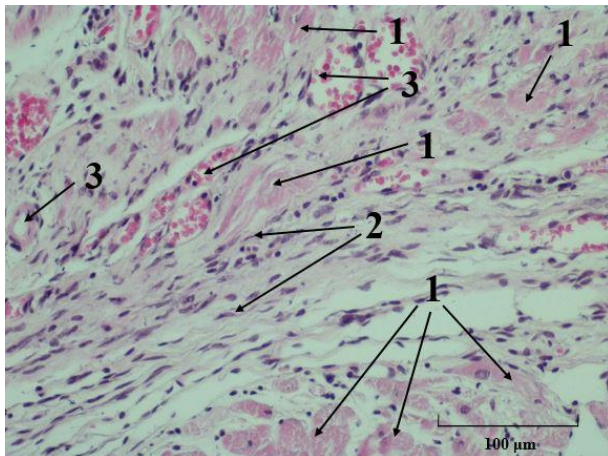


Рисунок 16 - Микрофотография зоны некроза сердечной мышцы крысы контрольной группы с ИМ. 28-й день после перевязки левой коронарной артерии. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание:

1 – потеря поперечной исчерченности в КМ

2 – фибробласты

3 – сосуды

В периинфарктной зоне миокарда сильно выражена волнообразная деформация и фрагментация клеток сердечной мышцы. В КМ выявляется слабо выраженная поперечная исчерченность. Ядра КМ хорошо различимы (рисунок 17). Количество сосудов незначительно.

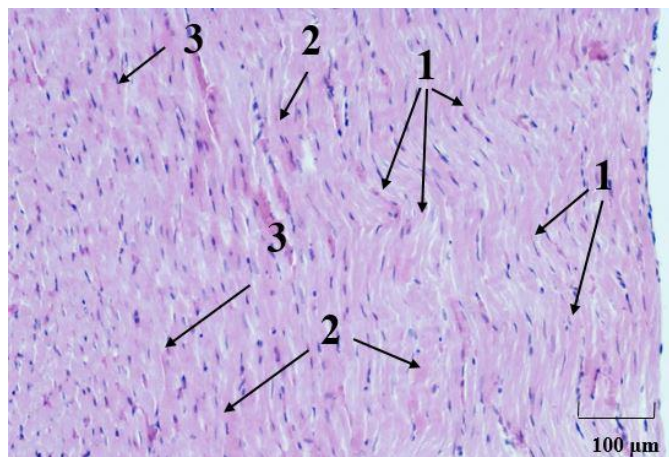


Рисунок 17 - Микрофотография периинфарктной зоны сердечной мышцы крысы контрольной группы с ИМ. 28-й день после перевязки левой коронарной артерии. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание:

1 – волнообразная деформация КМ

2 – потеря поперечной исчерченности в КМ

3 – капилляры в периинфарктной зоне миокарда

В зоне условно интактного миокарда большая часть КМ не изменены, имеют характерную форму и величину. Однако ближе к периинфарктной зоне визуализируются КМ с волнообразной деформацией и фрагментацией, миофибриллы которых имеют слабую поперечную исчерченность. Между группами этих КМ выявляются очаги кровоизлияний.

–животные основной группы (ИМ + фабомотизол).

У животных этой группы, как и в контрольной группе, на поперечном срединном срезе миокарда ЛЖ сердца определяются очаг ишемического поражения, периинфарктная зона и зона условно интактного миокарда. Визуально истончение передней стенки ЛЖ и дилатация его полости менее выражены, чем у крыс контрольной группы.

В зоне некроза, так же как и у контрольных животных, визуализируется неспецифическая грануляционная ткань, в значительной мере замещенная соединительной тканью. Однако, в отличие от контроля, в грануляционной ткани,

преимущественно на границе с перинфарктной зоной, в поле зрения присутствует большое количество сосудов (рисунок 18).

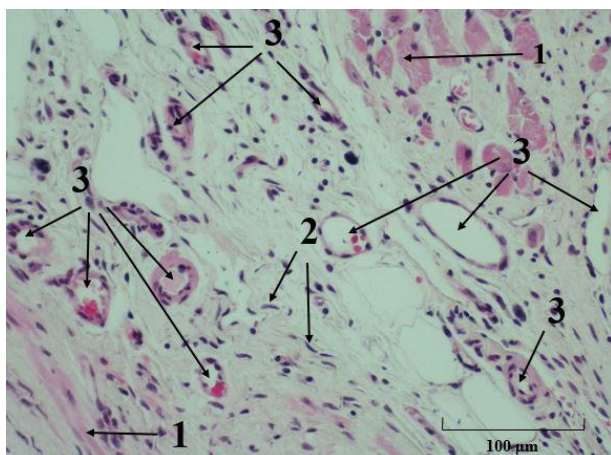


Рисунок 18 - Микрофотография зоны некроза сердечной мышцы крысы, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут с 15-го по 28-й день после ИМ. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание:

- 1 – плазмокоагуляция, потеря поперечной исчерченности в КМ
- 2 – фибробласты
- 3 – сосуды

Перинфарктная зона миокарда также лучше васкуляризирована, чем у животных контрольной группы, а степень волнообразной деформации и фрагментации КМ меньше. Большинство миофибрилл в перинфарктной зоне, в отличие от контроля, имеют выраженную поперечную исчерченность. Ядра КМ хорошо различимы (рисунок 19).

В зоне условно интактного миокарда преобладают неизмененные КМ характерной формы и величины с выраженной поперечной исчерченностью миофибрилл. Между отдельными группами КМ в этой зоне обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Деформированные КМ практически отсутствуют. Ядра КМ хорошо различимы, имеют характерную величину.

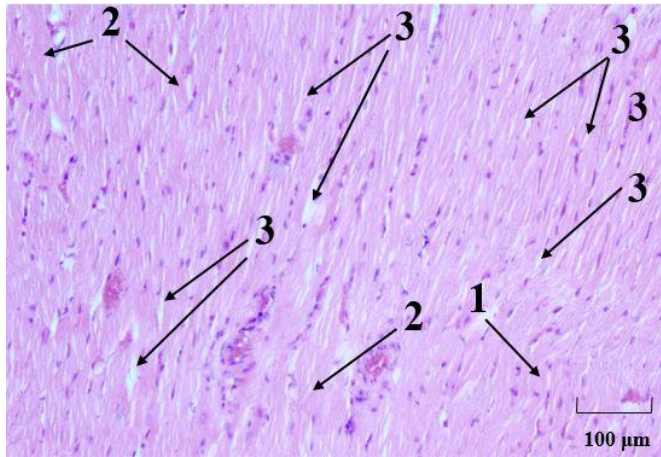


Рисунок 19 - Микрофотография периинфарктной зоны сердечной мышцы крысы, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут с 15-го по 28-й день после ИМ. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание:

- 1 – волнообразная деформация КМ
- 2 – потеря поперечной исчерченности
- 3 – капилляры в периинфарктной зоне миокарда

Результаты проведенного микроскопического исследования свидетельствуют о том, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом, проводимая в период с 15-го по 28-й день после воспроизведения ИМ, оказывает кардиопротективное действие:

- дилатация полости ЛЖ и истончение его стенок у животных, получавших фабомотизол, были менее выражены, чем у контрольных крыс с ИМ.

- волнообразная деформация и фрагментация КМ в периинфарктной зоне у крыс, получавших фабомотизол, были менее выражены, чем в контрольной группе.

- у крыс, получавших фабомотизол, в отличие от животных контрольной группы, миофибриллы в периинфарктной зоне миокарда имели выраженную поперечную исчерченность.

- если у животных контрольной группы количество сосудов в периинфарктной зоне было незначительно, то у крыс, получавших фабомотизол, периинфарктная зона была хорошо васкуляризирована.

Таким образом, согласно результатам гистологических исследований, выполненных на животных, перенесших ИМ и получавших фабомотизол,

продемонстрировано, что у них, в отличие от контрольных крыс, в периинфарктной зоне преобладали репаративные процессы, что могло быть причиной как уменьшения интенсивности постишемического ремоделирования ЛЖ сердца. Эти наблюдения свидетельствуют о наличии у препарата кардиопротективной активности.

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами [31,40].

3.1.3. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с хронической сердечной недостаточностью

В качестве модели ХСН была использована разработанная нами трансляционная модель ХСН у крыс [21].

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 160-180 г. Животных рандомизировали на 3 группы: 1-я – ложнооперированные животные (n=8); 2-я – животные с ИМ (n=26). Ложнооперированным крысам подводили лигатуру под коронарную артерию. ИМ у животных 2-й группы воспроизводили по методу А. Селье [211]. Во 2-ю группу включали только тех животных, у которых согласно данным эхокардиографии на 2-й день после перевязки коронарной артерии диагностировался передний трансмуральный ИМ. Через 90 дней проводили повторное эхокардиографическое исследование, в результате которого было отобрано 20 из 26 животных, у которых присутствовали выраженные эхокардиографические признаки ХСН. После чего отобранные животные были повторно рандомизированы на 2 подгруппы: 2а (n=12) – контроль ХСН и 2б (n=8) – фабомотизол.

Фабомотизол вводили животным 2б-й подгруппы в/б 1 раз в сутки в дозе 15 мг/кг, в/б, начиная с 90-х суток от момента перевязки коронарной артерии, в течение 28 дней. Крысам контрольной группы, а также ложнооперированным по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

Через 24 часа после окончания курса терапии крысам проводили эвтаназию, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических и молекулярно-биологических исследований.

3.1.3.A. Результаты патологоанатомического вскрытия:

– ложнооперированные животные

Патологоанатомическая картина сердец ложнооперированных животных (рисунок 20 А) соответствует норме (подробно см. в подразделе 3.1.1.A, рисунок 7 А)

– животные контрольной группы (ХСН)

Сердца животных со сформировавшейся ХСН увеличены в размерах, преимущественно шарообразной, неправильной формы (Рис. 20Б), тёмно-красного цвета с глинистым оттенком. Ниже места перевязки на передней или переднебоковой стенки ЛЖ визуализируется рубец неправильной формы и серовато-розового или серовато-белесого оттенка, западающий в полость ЛЖ. Миокард дряблый. Полости сердца кровенаполнены, дилатированы. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Венечные сосуды кровенаполнены.

– животные основной группы (ИМ + фабомотизол)

Сердца животных правильной конусообразной формы (рисунок 20В) тёмно-красного цвета. Визуально размер сердец несколько больше чем у ложнооперированных животных. Ниже места перевязки на передней или переднебоковой стенки ЛЖ визуализируется рубец, имеющий неправильную форму и серовато-розовый оттенок. Передняя стенка ЛЖ, по сравнению с контролем, менее истончена. Консистенция сердечной мышцы слегка дрябловатая. Полости сердца кровенаполнены, незначительно дилатированы. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Венечные сосуды умеренно кровенаполнены.

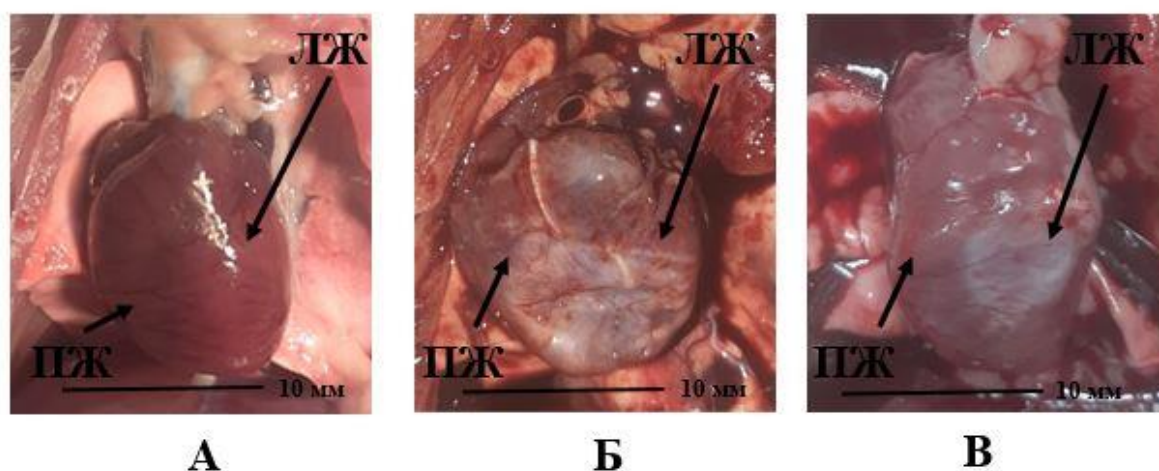


Рисунок 20 – Макропрепараты сердец крыс.
 Примечание: А – сердце ложнооперированного животного, Б – сердце контрольного животного с ХСН, В – сердце животного с ХСН, получавшего фабототизол (15 мг/кг/сут в/б)

3.1. 3.Б. Результаты морфометрических измерений

– ложнооперированные животные

Как следует из результатов морфометрических измерений размеры сердца ложнооперированных крыс соответствуют физиологическим нормам (таблица 3, рисунок 21, 22А). Так, площадь полости ЛЖ составляет $18,24 \pm 1,24 \text{ мм}^2$, а максимальный диаметр его полости равняется $5,85 \pm 0,19 \text{ мм}$.

– животные контрольной группы (ХСН).

Как следует из полученных данных, у контрольных животных, по сравнению с ложнооперированными, размеры ЛЖ существенно увеличены (таблица 3, рисунок 21, 22Б). Так, например, если у ложнооперированных крыс площадь полости ЛЖ составляет $18,24 \pm 1,24 \text{ мм}^2$, то у животных контрольной группы $30,09 \pm 1,9 \text{ мм}^2$ ($p < 0,05$), что позволяет говорить о том, что у последних формируется постинфарктное ремоделирование сердца. Также, по сравнению с ложнооперированными, у контрольных животных, передняя стенка ЛЖ значительно истончена - $1,36 \pm 0,14$ и $2,63 \pm 0,13 \text{ мм}$ соответственно, ($p < 0,05$).

– животные основной группы (ИМ + фабототизол)

Иная картина наблюдается при морфометрической оценке сердец животных, получавших систематическую терапию фабототизолом (таблица 3,

Рисунок 22В). Так, если у контрольных животных площадь полости ЛЖ составляет $30,09 \pm 1,9 \text{ мм}^2$ или $32,54 \pm 1,71 \%$ от площади ЛЖ, то у леченных животных этот показатель значительно меньше, соответственно $21,98 \pm 1,79 \text{ мм}^2$ ($p=0,006$) и $25,31 \pm 1,59 \%$ ($p=0,025$). Не менее важно и то, что толщина передней стенки ЛЖ и площадь миокарда у крыс с ХСН, получавших фабомотизол, статистически значительно больше, чем в контроле: соответственно $3,32 \pm 0,21 \text{ мм}$ и $1,36 \pm 0,14 \text{ мм}$ ($p=0,18$); $60,34 \pm 2,26 \text{ мм}^2$ и $54,72 \pm 1,96 \text{ мм}^2$ ($p<0,05$).

Таким образом результаты морфометрии свидетельствуют о том, что систематическая терапия фабомотизолом, начатая у животных со сформировавшейся ХСН, способствует обратному ремоделированию ЛЖ сердца, что дает основание полагать: препарат уменьшает тяжесть течения этой патологии.

Таблица 3 - Влияние терапии фабомотизолом (15 мг/кг/сут., в/б) на морфометрические характеристики ЛЖ сердца у крыс со сформировавшейся ХСН

Группа	Толщина передней стенки ЛЖ, мм	Диаметр полости ЛЖ, мм	Площадь ЛЖ, мм ²	Площадь полости ЛЖ, мм ²	Площадь миокарда ЛЖ, мм ²
ЛО n=8	$3,63 \pm 0,13$ $p<0,05$	$3,08 \pm 0,32$ $p<0,05$	$78,72 \pm 5,01$	$18,24 \pm 1,24$ $p<0,05$	$63,11 \pm 3,05$ $p<0,05$
ХСН контроль n=9	$1,36 \pm 0,14$	$6,31 \pm 0,71$	$85,51 \pm 2,96$	$30,09 \pm 1,9$	$54,72 \pm 1,96$
ХСН + Фабомоти- зол n=8	$3,32 \pm 0,21$ $p<0,05$	$4,32 \pm 0,33$ $p<0,05$	$80,08 \pm 2,75$ $p<0,05$	$21,98 \pm 1,79$ $p<0,05$	$60,34 \pm 2,26$ $p<0,05$
Примечание: p указано по отношению к контролю					

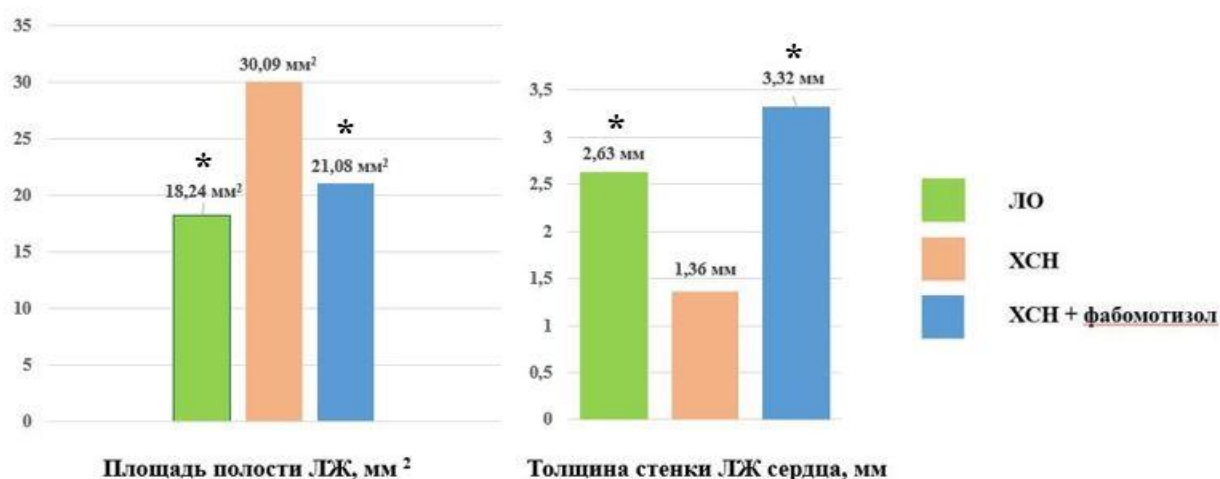


Рисунок 21 – Влияние терапии фабототизолом (15 мг/кг/сут., в/б, в течение 28-и дней) на размеры полости ЛЖ и толщину стенки ЛЖ сердца у животных со сформировавшейся ХСН.

Примечание 1: ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ЛО – ложнооперированные крысы.

Примечание 2: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ХСН



Рисунок 22 - Влияние терапии фабототизолом (15 мг/кг/сут в/б) на размеры полости ЛЖ (% от площади ЛЖ) сердца крыс со сформировавшейся ХСН.

Примечание 1: ХСН – хроническая сердечная недостаточность, ЛЖ – левый желудочек сердца

Примечание 2: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ХСН

3.1.3.В. Результаты микроскопического исследования

– ложнооперированные животные

Сердце. Гистологическая картина миокарда животных ложнооперированной группы не имеет отличий от таковой, описанной в подразделе 3.1.1.1.В (рисунок 23).

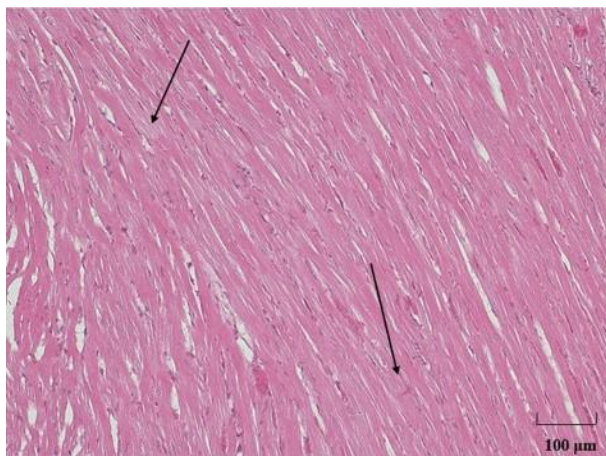


Рисунок 23 - Микрофотография миокарда ложнооперированной крысы. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: стрелками показаны неизмененные КМ

Лёгкие. Гистоархитектоника лёгких крыс ложнооперированной группы не нарушена. Воздухоносные пути лёгких крыс представлены бронхиальным деревом. Внутренняя слизистая оболочка бронхов выстлана многорядным реснитчатым эпителием. На всем протяжении воздухоносных путей в слизистой оболочке обнаруживаются скопления лимфоцитов (типичная для крыс бронхоассоциированная лимфоидная ткань). Респираторные пути лёгких представлены ацинусами – системой лёгочных пузырьков, альвеол. Альвеолы разделены тонкими соединительнотканными перегородками, в которых проходят кровеносные сосуды. Стенки альвеол тонкие, полости альвеол в большинстве случаев свободные. В стенке альвеол и на их поверхности обнаруживаются диффузно лежащие макрофаги, являющиеся типичным структурным звеном системы фагоцитоза в лёгких. Кровеносные сосуды лёгких полнокровны (рисунок 24). Таким образом, гистологическая картина лёгких ложнооперированных крыс соответствовала норме.

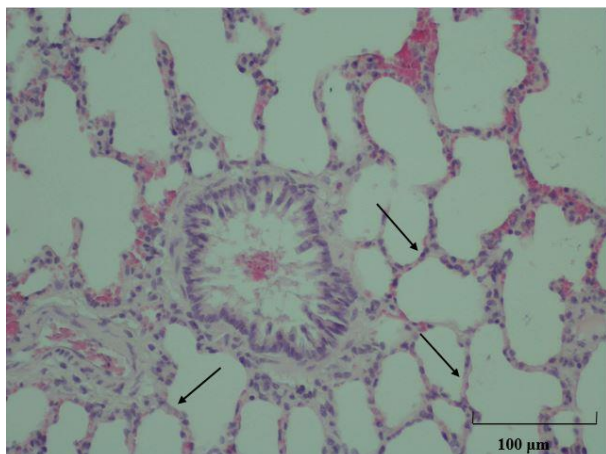


Рисунок 24 - Микрофотография лёгких ложнооперированной крысы. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x200

Примечание: стрелками показаны неизменные стенки альвеол

Печень. Гистоархитектоника печени крыс ложнооперированной группы не изменена. Хорошо определяются структурно-функциональные единицы печени - печеночные дольки. Центральные вены и вены триад, а также межбалочные капилляры в большинстве случаев полнокровны. Соединительнотканые перегородки между дольками тонкие. Нарушений тинкториальных свойств ткани печени не обнаружено. Центральные вены и вены триад, а также межбалочные капилляры в большинстве случаев были полнокровны. Цитоплазма гепатоцитов содержит слабобазофильную зернистость. В редких случаях в цитоплазме гепатоцитов обнаруживаются мелкие и средние вакуоли. Ядра гепатоцитов полиморфны: наряду с характерными, выявляются гепатоциты с мелкими гиперхромными, пикнотичными ядрами, а также гепатоциты с полиплоидными ядрами. Также обнаруживаются двухядерные и митотически делящиеся формы. В портальных зонах печени большинства крыс определяются небольшие лимфомакрофагальные инфильтраты (Рисунок 25). Обнаруженная гистологическая картина печени не отличается от нормы.

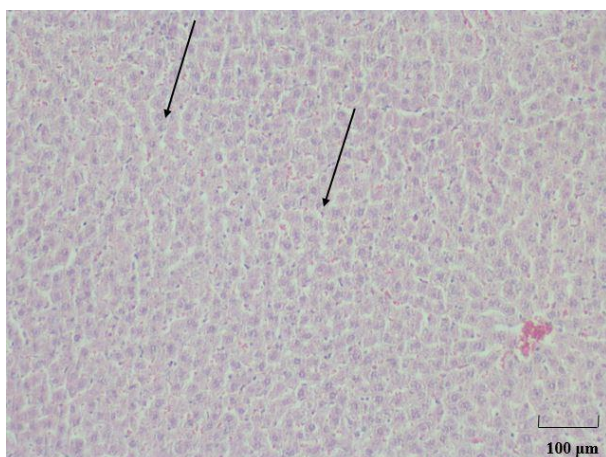


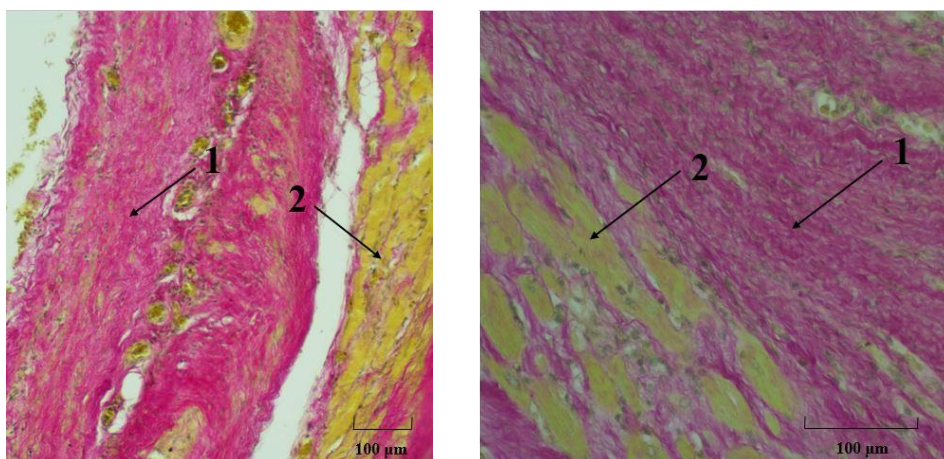
Рисунок 25 - Микрофотография печени ложнооперированной крысы. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: стрелками показаны неизмененные гепатоциты

– животные контрольной группы (XCH)

Для сердец животных данной группы характерна выраженная дилатация полости ЛЖ и истончение его стенки. На поперечном срединном срезе миокарда ЛЖ сердца определяются очаг кардиосклероза, периинфарктная зона и зона условно интактного миокарда.

В зоне кардиосклероза обнаружены участки соединительной ткани (грубые коллагеновые волокна, фибробластоподобные клетки) (рисунок 26). В сохранившихся клетках сердечной мышцы поперечная исчерченность слабо выражена. Также выявляются очаги исчезновения поперечной исчерченности миофибрилл. Сильно выражены волнообразная деформация и фрагментация КМ (рисунок 27). Ядра КМ хорошо различимы.



А

Б

Рисунок 26 - Микрофотография миокарда крысы контрольной группы с ХСН. Очаг кардиосклероза. Окраска по Ван-Гизону. А - увеличение x 100; Б – увеличение x 200.

Примечание:

1 – коллагеновые волокна

2 – мышечные волокна

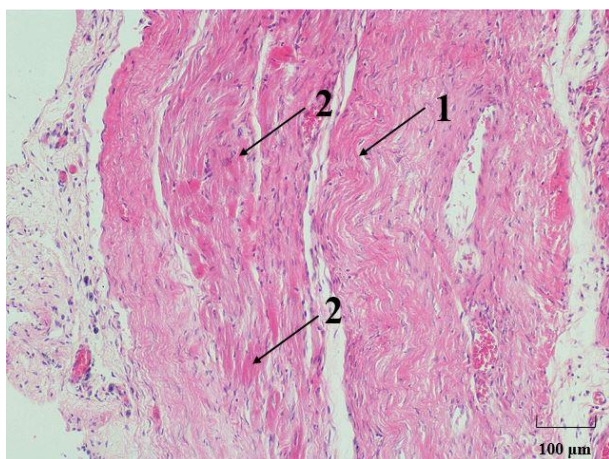


Рисунок 27 – Микрофотография миокарда крысы контрольной группы с ХСН. Очаг кардиосклероза. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание:

1 – волнообразная деформация КМ

2 – исчезновение поперечной исчерченности мышечных волокон

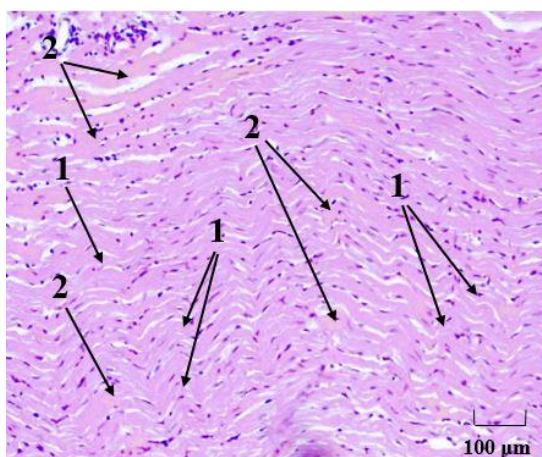


Рисунок 28 - Микрофотография периинфарктной зоны миокарда крысы контрольной группы с ХСН. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание:

1 – волнообразная деформация КМ

2 – исчезновение поперечной исчерченности мышечных волокон

В периинфарктной зоне миокарда сосуды полнокровны, между отдельными группами КМ обнаруживаются кровоизлияния. Сильно выражена волнообразная деформация, вакуолизация и фрагментация клеток сердечной мышцы (рисунок 28). Поперечная исчерченность в КМ, напротив, выражена слабо. Выявляются очаги исчезновения поперечной исчерченности мышечных волокон. Ядра сохранившихся КМ хорошо различимы, имеют характерную величину.

В зоне условно интактного миокарда сосуды также полнокровны, между отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Часть КМ имеют характерную форму и величину, часть деформирована. Наряду с неизменными участками сердечной мышцы визуализируются как гипертрофированные КМ, так и КМ в состоянии дистрофии. Поперечная исчерченность миофибрилл более выражена, чем в периинфарктной зоне. Ядра КМ хорошо различимы, имеют характерную величину.

Полученные результаты исследования микропрепаратов сердец животных контрольной группы с ХСН свидетельствуют о наличии компенсаторной гипертрофии миокарда, протекающей на фоне постинфарктного кардиосклероза. Наблюдаемые параллельно с гипертрофией миокарда дилатация полостей и исчезновение поперечной исчерченности части миофибрилл свидетельствуют о снижении сократительной способности КМ.

Лёгкие. У контрольных животных с ХСН в стенке бронхов определяется интенсивная лимфоцитарная инфильтрация. Капилляры межальвеолярных перегородок переполнены кровью, альвеолы сдавлены. В альвеолах обнаруживаются множественные диапедезные кровоизлияния. Подобная гистологическая картина характерна для венозного застоя в легких, патогномоничного для моделируемой патологии (рисунок 29).

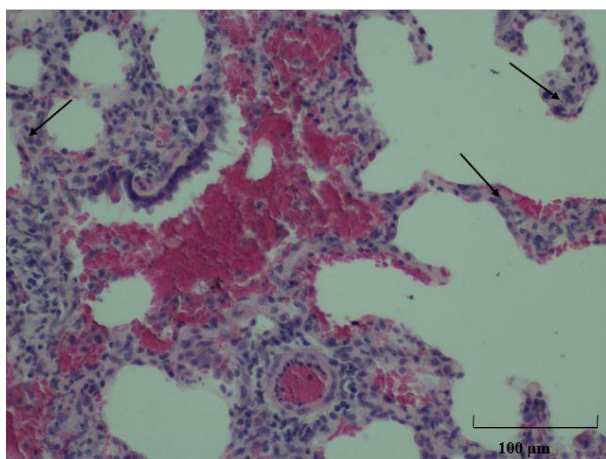


Рисунок 29 - Микрофотография лёгких крысы контрольной группы с ХСН. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x200

Примечание: стрелками показаны переполненные кровью капилляры межальвеолярных перегородок

Печень.

В отличие от ложнооперированных крыс, у контрольных животных с ХСН центральные вены и прилегающие к ним отделы синусоидов расширены. Отмечаются очаги кровоизлияний. Выявляются очаги дискомплексации печеночных балок. Часть гепатоцитов имеет нечёткие контуры. Полнокровие и отек периферических долек печени менее выражены. Отсутствуют изменения в тинкториальных свойствах ткани печени. В портальных зонах печени большинства крыс определяются небольшие лимфомакрофагальные инфильтраты. Обнаружена гидropическая дистрофия печени: в цитоплазме гепатоцитов выявляются множественные вакуоли. Таким образом, как и в случае с лёгкими, гистологическая картина печени свидетельствует о наличии венозного застоя характерного для ХСН (рисунок 30).

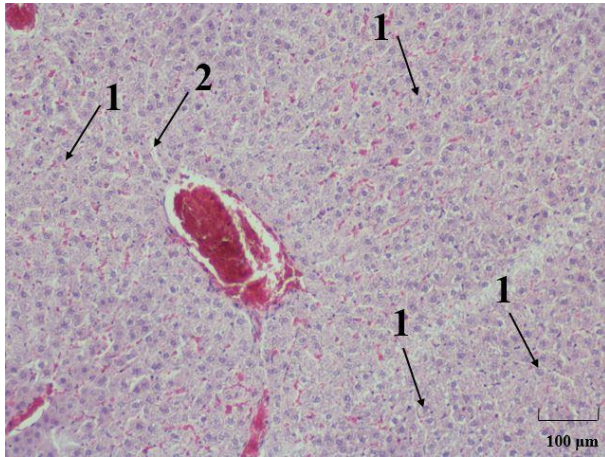


Рисунок 30 - Микрофотография печени крысы контрольной группы с ХСН. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание:

1 – отёк перисинусидальных пространств Диссе

2 – гидропическая дистрофия гепатоцитов

– животные основной группы (ИМ + фабомотизол)

Сердце. У животных этой группы дилатация полости ЛЖ и истончение передней стенки ЛЖ менее выражены, чем в контроле. На поперечном срединном срезе сердца определяются очаг кардиосклероза, периинфарктная зона и зона условно интактного миокарда.

Патологические изменения в очаге кардиосклероза сходны с таковыми, обнаруженными у контрольных животных (рисунок 31).

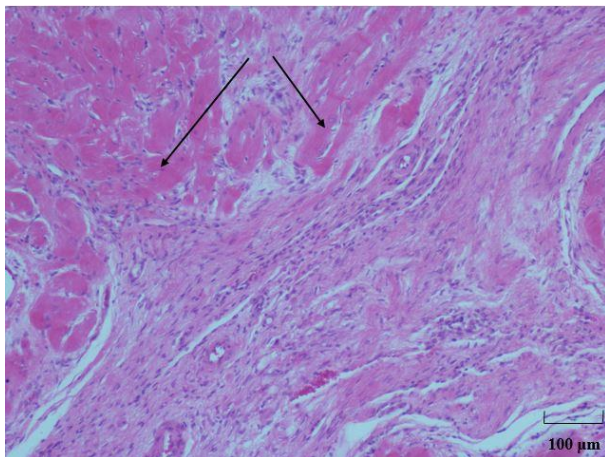


Рисунок 31 - Микрофотография миокарда крысы с ХСН, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут. Очаг кардиосклероза. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание: стрелками показаны участки с исчезновением поперечной исчерченности мышечных волокон

В перинфарктной зоне миокарда между отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Сосуды полнокровны. В данной зоне, по сравнению с контролем, незначительно выражены волнообразная деформация, вакуолизация и фрагментация КМ. Очаги исчезновения поперечной исчерченности миофибрилл выявляются только в отдельных случаях и визуально меньше, чем в контрольной группе. Ядра КМ хорошо различимы, имеют характерную величину (рисунок 32).

Микроскопическая картина в зоне условно интактного миокарда также отличается от таковой у контрольных животных. В этой зоне миокарда сосуды полнокровны. Между отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния, однако их количество меньше чем у контрольных животных. Большая часть КМ имеют характерную форму и величину. Наряду с неизменными участками сердечной мышцы визуализируются и гипертрофированные. КМ в состоянии дистрофии практически отсутствуют. Поперечная исчерченность в клетках сердечной мышцы отчетливо выражена. Ядра КМ имеют характерную величину, хорошо различимы.

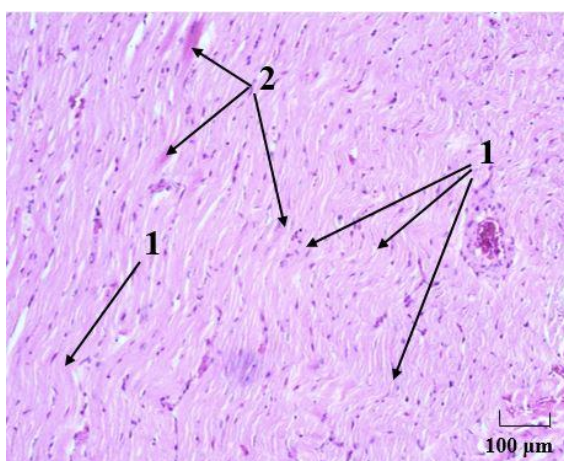


Рисунок 32 - Микрофотография перинфарктной зоны миокарда крысы с ХСН, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 100

Примечание:

1 – волнообразная деформация КМ

2 – исчезновение поперечной исчерченности мышечных волокон

Лёгкие. Гистоархитектоника лёгких крыс, получавших фабомотизола гидрохлорид, в отличие от животных контрольной группы, не изменена. Сосуды лёгких полнокровны. Если в лёгких контрольных животных обнаруживаются

переполненные кровью капилляры межальвеолярных перегородок и кровоизлияния в альвеолах, то у крыс, получавших фабомотизол, эти патологические изменения единичны. В большинстве случаев стенки альвеол были тонкими, полости альвеол свободными. У отдельных животных в лёгких обнаружены участки, где межальвеолярные перегородки были утолщены и инфильтрированы полиморфноядерными лейкоцитами и лимфомакрофагами. В стенке бронхов определяется лимфоцитарная инфильтрация (рисунок 33).

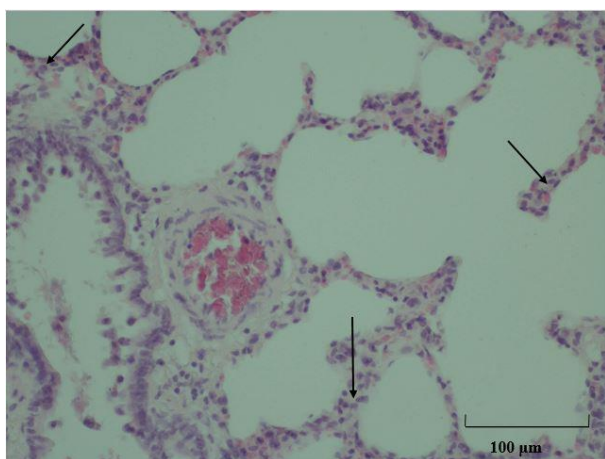


Рисунок 33 - Микрофотография лёгких крысы с ХСН, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение $\times 100$

Примечание: стрелками показаны переполненные кровью капилляры межальвеолярных перегородок

Таким образом, у животных, получавших фабомотизол, в отличие от контрольных крыс отсутствуют гистологические признаки венозного застоя в легких.

Печень. Гистоархитектоника печени крыс, получавших фабомотизол, не изменена. Отсутствуют изменения в тинкториальных свойствах ткани печени. Центральные вены и вены триад, а также межбалочные капилляры в большинстве случаев полнокровны. Центральные вены и прилегающие к ним отделы синусоидов менее расширены, чем в контрольной группе. Определяются очаги кровоизлияний. Очаги дискомплексации печеночных балок, в отличие от контроля, выявляются только у части животных. Только некоторые гепатоциты имеют нечёткие контуры. Полнокровие и отёк периферических долек печени

менее выражены. В портальных зонах печени большинства крыс определяются небольшие лимфомакрофагальные инфильтраты. Гидропическая дистрофия печени менее выражена, чем у контрольных животных: только в отдельных случаях в цитоплазме гепатоцитов обнаруживаются вакуоли (рисунок 34).

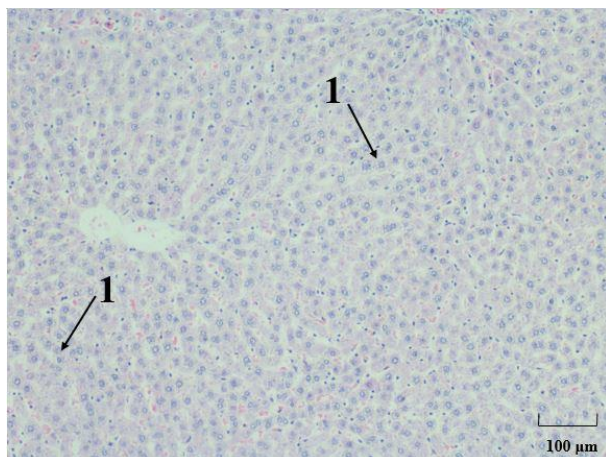


Рисунок 34 - Микрофотография печени крысы с ХСН, получавшей фабомотизол в дозе 15 мг/кг/сут. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание:

- 1 – отёк перисинусоидальных пространств Диссе
- 2 – гидропическая дистрофия гепатоцитов

Микроскопическое исследование ткани печени крыс с ХСН, получавших фабомотизол, свидетельствует о том, что у них, в отличие от контрольных животных, признаки венозного застоя в печени значимо меньше.

Результаты этой серии экспериментов свидетельствуют о том, что систематическая терапия фабомотизолом животных с ХСН оказывает выраженное кардиопротективное действие, способствуя восстановлению гистоархитектоники ткани миокарда и уменьшению интенсивности ремоделирования ЛЖ сердца. Есть все основания полагать, что на фоне терапии фабомотизолом происходит существенное восстановление сократительной функции ЛЖ сердца, поскольку в органах мишенях (лёгкие, печень) отсутствуют патогномичные для ХСН признаки венозного застоя.

Таким образом, можно говорить о том, что на фоне терапии фабомотизолом восстанавливается функциональная активность ЛЖ сердца, что напрямую коррелируется с результатами исследований, проведенных Е.О. Ионовой, в которых при помощи эхокардиографии было показано, что систематическая

терапия фабомотизолом, начатая с 90-го дня после перевязки коронарной артерии, приводит к статистически значимому уменьшению размеров ЛЖ сердца и увеличению его инотропной функции, т.е. к развитию обратного ремоделирования миокарда, что также подтверждается нашими результатами морфометрических исследований [24].

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами [23].

3.1.4. Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола при коронарогенном повреждении миокарда

3.1.4.1. Изучение молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с хронической сердечной недостаточностью

Следующим этапом исследования явилось изучение при помощи ПЦР в реальном времени возможных молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола.

Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола, проводили на трансляционной модели ХСН у крыс (см. подраздел 3.1.3). Изначально животные были разделены на 2 группы: 1-я (n=11) – ложнооперированные животные; 2-ая (n=15) – контроль ХСН. Через 3 месяца после проведения во 2-ой группе эхокардиографических исследований, показавших, что у 13 из 15 животных сформировалась ХСН, крысы с ХСН были рандомизированы на 2 группы: 2а – контроль ХСН (n=6) и 2б – ХСН + фабомотизол (n=7). Этот фрагмент исследований выполнен совместно с руководителем лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» в.н.с., д.м.н. Л.М. Кожевниковой.

Результаты молекулярных исследований свидетельствуют о том, что у крыс контрольной группы в биоптатах тканей миокарда ЛЖ сердца по сравнению с ложнооперированными животными статистически значимо увеличена экспрессия генов ангиотензиновых 1 типа (AT1A-R) и вазопрессиновых 1 типа V1A-R

рецепторов – соответственно на 41% ($p=0,006$) и 33% ($p<0,05$), а также на 25% ($p=0,03$) возрастает содержание мРНК, кодирующей регуляторный белок Ерас2 (Рисунок 35).

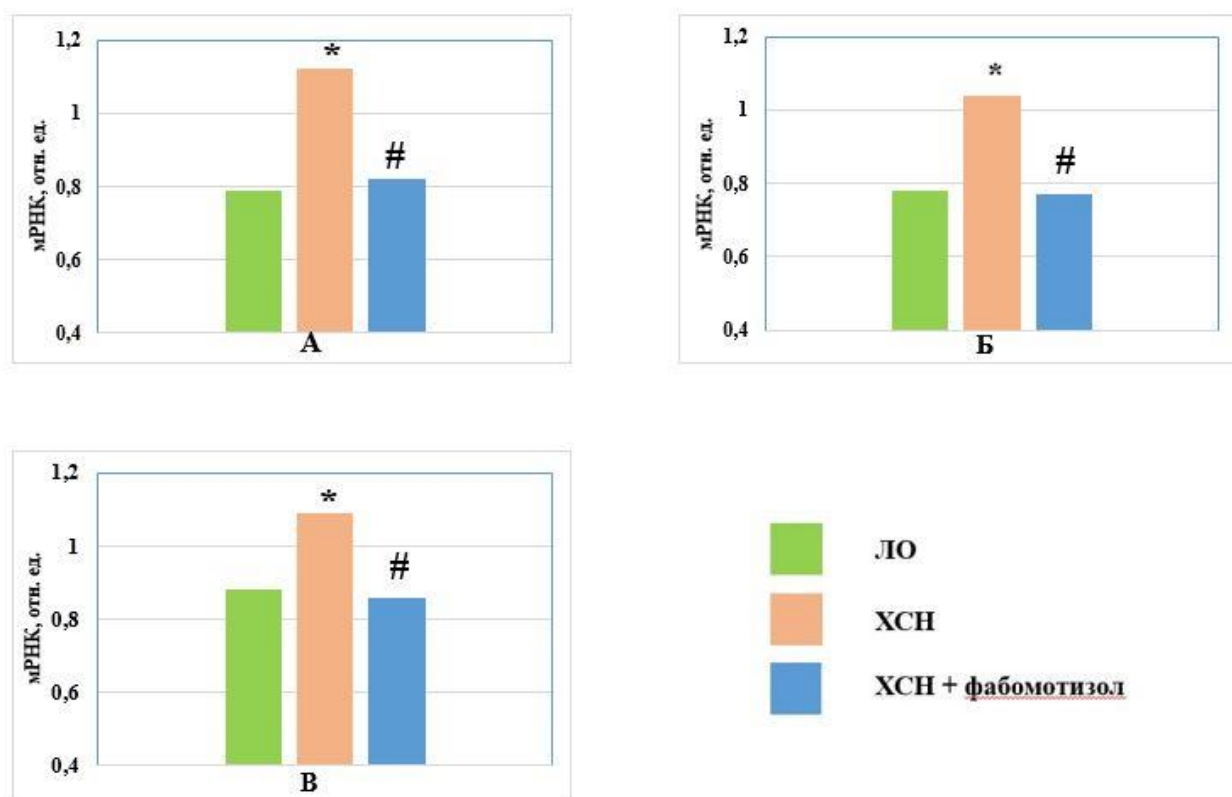


Рисунок 35 - Влияние фабомотизола на уровень экспрессии генов ангиотензиновых AT1A-R (А), вазопрессиновых V1A-R (Б) рецепторов и регуляторных белков Ерас2 (В) у животных с ХСН

Примечание 1: ЛО – ложнооперированные животные, ХСН – хроническая сердечная недостаточность

Примечание 2:

* - $p \leq 0,05$ - по отношению к группе ложнооперированных животных

- $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с ХСН

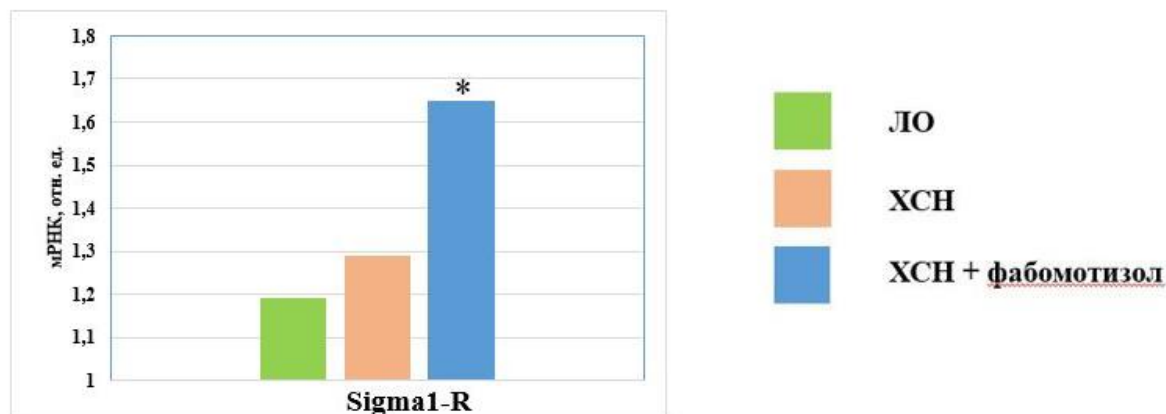


Рисунок 36 - Влияние фабототизола на уровень экспрессии гена σ_1 -R, у животных с XCH

Примечание 1: ЛО – ложнооперированные животные, XCH – хроническая сердечная недостаточность

Примечание 2: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к контрольной группе с XCH

Уровень экспрессии гена σ_1 -R у ложнооперированных и контрольных животных статистически значимо ($p=0,1037$) не изменяется (Рисунок 36).

На фоне систематической терапии фабототизолом происходит статистически значимое по сравнению с ложнооперированными крысами уменьшение уровня экспрессии генов рецепторов AT1A-R ($p=0,006$), V1A-R ($p<0,05$) и белков Ерас2 ($p=0,03$), тогда как экспрессия гена σ_1 -R значимо ($p=0,0377$) возрастает (Рисунок 35,36).

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами [4,20,21,22,25,26,27,28,41].

3.1.4.2. Изучение влияния фабототизола на уровень поврежденности ДНК в миокарде крыс, перенесших острый инфаркт миокарда

Оценку уровней ДНК-повреждений в ишемизированном миокарде производили в модельных экспериментах, воспроизводящих ИМ. Животные были рандомизированы на 3 группы: 1-я– ложнооперированные крысы ($n=5$), 2-я – контрольные крысы с ИМ ($n=5$), 3-я –ИМ + фабототизол ($n=5$). ИМ воспроизводили по методу Селье [211]. Ложнооперированным животным

подводили лигатуру под коронарную артерию. Фабомотизол (10 мг/кг) вводили per os 1 раз в сутки в течение 15 дней; первое введение – через час после перевязки коронарной артерии. Животные 1-ой и 2-ой групп по аналогичной схеме получали эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида. Через сутки после последней инъекции проводили эвтаназию животных, после чего извлекали сердца. Для определения уровней ДНК-повреждений пробы миокарда забирали из периинфарктной зоны и зоны условно интактного миокарда (животные 2-й и 3-й групп). У ложнооперированных животных пробы миокарда забирали рядом с местом проведения лигатуры и в области верхушки сердца для дальнейших генотоксикологических исследований.

Эта серия экспериментов была выполнена совместно с руководителем лаборатории фармакологии мутагенеза А.К. Жанатаевым.

Показано, что в препаратах ДНК-комет, преимущественно взятых из периинфарктной зоны миокарда, выявлены ДНК-кометы, не встречающиеся в клетках интактного миокарда. Эти «малые» ДНК-кометы имеют форму стандартных ДНК-комет (ширина головы и хвоста сопоставимы), но имеют значительно меньшие размеры и содержат меньшее количество ДНК [Жанатаев А.К., 2017].

В периинфарктной зоне у крыс контрольной группы количество клеток, содержащих «малые» ДНК-кометы, составляет 32,2% от всех изученных клеток (рисунок 37, таблица 4). У животных, получавших фабомотизол, в периинфарктной зоне количество клеток, содержащих «малые» ДНК-кометы, статистически значимо меньше – 25,4% ($p=0,009$), чем у контрольных животных (таблица 4).

Таблица 4 - Влияние фабомотизола на количество «малых» ДНК-комет в сердечной мышце крыс в условиях ИМ. Нейтральная версия метода ДНК-комет

	ЛО (n=5)	Контроль ИМ (n=5)	ИМ + фабомотизол (n=5)
Периинфарктная зона	—	32,2%	25,4% p=0,009
зона условно-интактного миокарда	—	24,4%	23,5%
Примечание 1: в числителе указано количество «малых» ДНК-комет, в знаменателе кол-во проанализированных клеток Примечание 2: p указано по отношению к контролю			

«Малые» ДНК-кометы, выявленные в настоящих экспериментах, ранее не были описаны. Подобные «малые» ДНК-кометы имеют высокий показатель % ДНК, что свидетельствует о значительном количестве двойных разрывов ДНК, характерном для поздних стадий апоптотической гибели клеток, в тех случаях, когда в них наблюдается деградация ДНК эндонуклеазами, а также для некротической гибели клеток.

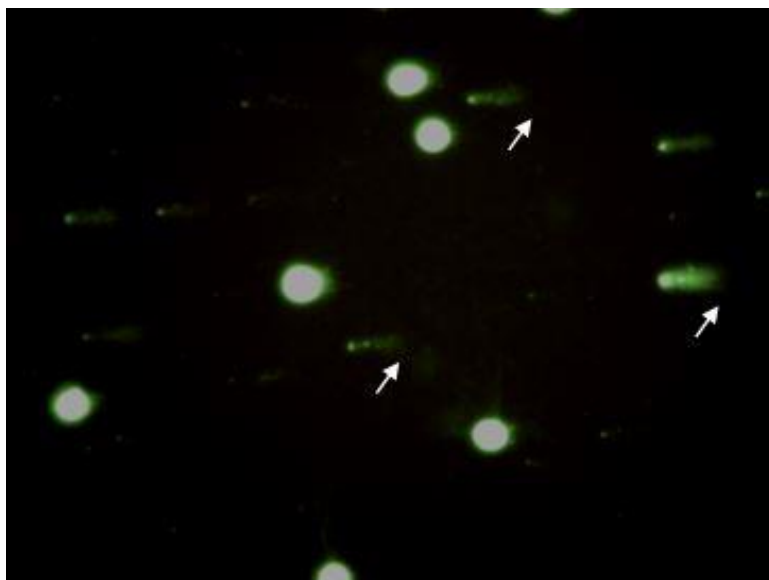


Рисунок 37 - Цифровое изображение с препарата ДНК-комет миокарда крысы. Стрелками указаны «малые» ДНК-кометы. Окраска SYBRGreenI; увеличение x200

Таким образом, систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом способствует уменьшению количества «малых» ДНК-комет в периинфарктной зоне миокарда, что, возможно, связано со способностью препарата подавлять апоптоз ишемизированных КМ, однако этот вопрос требует дальнейшего углубленного изучения.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами [8].

3.1.5. Обсуждение результатов

Как следует из полученных результатов, терапия фабомотизолом, начатая как в условиях острого, так и подострого инфаркта миокарда, способствует уменьшению зоны некроза и в определенной мере восстановлению гистоархитектоники КМ, уменьшению интенсивности постинфарктного ремоделирования ЛЖ и, что не менее важно, существенному восстановлению массы функционального миокарда (рисунок 14). Эти данные хорошо согласуются с результатами выполненных м.н.с. Е.О. Ионовой эхокардиографических исследований, в которых продемонстрировано, что систематическая терапия фабомотизолом крыс, перенесших ИМ, способствует уменьшению конечно-систолического и конечно-диастолического размеров ЛЖ сердца, т.е. уменьшает интенсивность постинфарктного ремоделирования ЛЖ, что сопровождается статистически значимым увеличением его сократительной функции [19]. Близкие результаты получены и при изучении морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола на трансляционной модели ХСН. Здесь обращает на себя внимание тот факт, что на фоне терапии препаратом происходит значимое уменьшение размеров ЛЖ сердца, т.е. фабомотизол инициирует обратное ремоделирование сердца и, как следствие этого, уменьшение тяжести течения экспериментальной ХСН. Об улучшении кардиогемодинамики также свидетельствует значительное уменьшение застойных явлений в органах – мишенях (рисунок 29, 30, 33, 34), что также подтверждают

результаты выполненных м.н.с. Е.О. Ионовой [24] эхокардиографических исследований.

При проведении молекулярных исследований, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола в условиях ХСН, показано, что препарат:

– *подавляет в миокарде повышенную экспрессию гена ангиотензинового рецептора 1 типа (AT1A-R)*. Хорошо известно, что ренин-ангиотензин альдостероновая система (РААС) занимает центральное место в патофизиологии ХСН. В первые часы после развития ишемического инцидента происходит активация циркуляторной РААС, которая преимущественно связана со стимуляцией катехоламинами β_1 -адренорецепторов, расположенных на клеточной мембране клеток юстагломерулярного аппарата почек, что влечет за собой увеличение выработки ренина и последующее возрастание концентрации ангиотензина II (Ang II) в плазме крови. Конечным этапом этого процесса является стимуляция экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов (AT-R) на мембранах клеточных образований миокарда, преимущественно в зоне поражения и перинфарктной зоне. Несколько позже (1-3 недели от момента возникновения инфаркта) происходит гиперактивация локальной (тканевой) РААС, которой и принадлежит ключевая роль в РААС-опосредованном развитии ремоделирования миокарда. В физиологических условиях активность локальной РААС незначительна, тогда как в условиях инфаркта ее активность резко возрастает [150]. Содержание Ang II в тканях сердечной мышцы напрямую не зависит от его концентрации в плазме крови, поскольку более 75% сердечного Ang II синтезируется локально клеточными элементами миокарда (КМ, миофибробласты, фибробласты и др.) [195]. Образовавшийся Ang II действует ауто/паракринно, но не интеркринно, т.е. может реализовать свои эффекты только выделившись из клетки и провзаимодействовав с AT-R [95]. Большинство исследователей полагают, что свои патологические эффекты (гипертрофию, фиброз и апоптоз) Ang II реализует путем активации ангиотензиновых рецепторов 1 типа (AT1-R), хотя в литературе имеются данные о том, что в определенных

условиях гипертрофию и фиброз ткани миокарда могут инициировать и активированные ангиотензиновые рецепторы 2 типа [251]. Активированные AT1-R взаимодействуют с регуляторными гетеротримерными G-белками (Gq/11, Gi, G12 и G13), регулирующими активность сопряженных с ними внутриклеточных сигнальных путей [140]. Ang II реализует свои прогипертрофические эффекты преимущественно посредством активации AT1-R, встроенных в клеточную мембрану КМ и миофибробластов [208]. Ключевым звеном этого процесса является трансформирующий фактор роста $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$). На первом этапе происходит активация сопряженной с AT1-R NADPH-оксидазы, которая активирует PKC-delta и далее p38 митоген-активируемую протеинкиназу (p38 MAPK), которая, в свою очередь, активирует фактор транскрипции AP-1, после чего AP-1 активирует TGF- $\beta 1$. Активированный TGF- $\beta 1$ реализует свои прогипертрофические эффекты, взаимодействуя со специфическими для него T β R1 и T β R2 рецепторами, которые фосфорилируют цитоплазматические медиаторы – белки SMAD 2 и 3, регулирующие, в частности, такие процессы как пролиферация и апоптоз [208]. Помимо этого, TGF- $\beta 1$ может инициировать гипертрофию, активируя цитозольную серин/треониновую протеинкиназу (TAK1; син. MAP3K7), локализованную в КМ желудочков [208]. Далее TAK1 активирует ряд факторов транскрипции, таких как гомолог гомеобоксного гена tinman (Csx/Tinman; син. Nkx-2.5), цинк-транскрипционный фактор GATA-4 и активирующий транскрипционный фактор-2 (ATF-2), ответственный за гипертрофию миокарда [208]. Параллельно с гипертрофией РААС стимулирует в миокарде профибротические процессы. Ang II-опосредованный фиброз миокарда преимущественно связан с повышенной стимуляцией AT1-R, локализованных на клеточных мембранах сердечных фибробластов и, в меньшей степени, миофибробластов, в результате чего в фибробластах активируется синтез про-коллагенов α I и III типов, коллагенов I и III типов и фибронектина и ингибируется активность ММП-1 [160]. В основе этих процессов лежит активация AT1 рецепторами TGF- $\beta 1$ и фактора роста соединительной ткани (CTGF) [97].

Следует отметить, что РААС реализует свои патологические эффекты не только на уровне сердечной мышцы. Резкое увеличение концентрации Ang II в плазме крови сопровождается активацией AT1-R, расположенных на клеточных мембранах нейронов области солитарного тракта (*nucleus tractus solitarii*; NTS) ростральной вентролатеральной области продолговатого мозга (*rostral ventrolateral medulla*; RVLМ) и боковых рогов спинного мозга, что способствует еще большему повышению активности симпатической нервной системы [193].

– *подавляет в миокарде повышенную экспрессию генов вазопрессиновых рецепторов *Imuna* (*AVPR1A-R* или *V1A-R*)*. Первоначально полагали, что антидиуретический гормон (вазопрессин, аргинин-вазопрессин; AVP) синтезируется исключительно в нейрогипофизарной системе, однако в 1999 году в экспериментах *in vitro*, выполненных на изолированном сердце крыс, было продемонстрировано, что мРНК AVP и синтез пептида происходит и в КМ [134]. Позже было показано, что в сердце экспрессируются только вазопрессиновые рецепторы 1 типа (*V1A-R*), которые сопряжены с сигнальным Gq-белком [249]. Установлено, что активированные *V1A-R*, расположенные на клеточных мембранах КМ и гладкомышечных клеток сосудов, играют достаточно важную роль в ремоделировании сердца [249]. Стимуляция *V1A-R* на клетках гладкой мышцы сосудов вызывает повышение сосудистого сопротивления и, следовательно, увеличение постнагрузки на миокард [108]. Существенный вклад в ремоделирование сердца вносит и AVP-опосредованная стимуляция *V1A-R*, расположенных на клеточной мембране популяции сердечных фибробластов: активация *V1A-R* индуцирует в них избыточный синтез белков, что способствует как росту, так и пролиферации этих клеток [260]. Помимо этого, активированные *V1A-R*, встроенные в клеточную мембрану фибробластов, инициируют экспрессию эндотелина-1 и фактора роста соединительной ткани – CTGF [87]. В последнее время появились сообщения о том, что скорость десенситизации β -AR в условиях ХСН может ускоряться в зависимости от функционального состояния *V1A-R* [240]. Показано, что активация *V1A-R* приводит к подавлению β -AR-зависимой генерации АМФ и мобилизации Ca^{2+} в КМ, и как следствие, снижению

β -AR-индуцированного инотропного ответа [240]. Помимо этого, AVP-опосредованная гипертрофия КМ может быть связана с активацией $V1_A$ -R Ca^{2+} / CaM / кальцинейрин / CaMKIV / NFAT сигнального пути [254]. Также как и Ang II, вазопрессин инициирует в постинфарктном миокарде профибротические процессы, которые реализуются путем активации $V1_A$ -R, расположенных на клеточной мембране фибробластов [257]. Полагают, что после взаимодействия вазопрессина с $V1_A$ -R в фибробластах активируется G протеин-соединенная рецепторная киназа 2 (GRK2), которая активирует встроенный в клеточную мембрану рецептор эпидермального фактора роста (EGFR) с последующей активацией ERK1/2, которая, в свою очередь, активирует NF- κ B, который не только инициирует избыточный синтез коллагена, но и активирует продукцию провоспалительного цитокина IL-6 [257].

– *подавляет в КМ повышенную экспрессию гена регуляторных белков Eras2.* Исторически полагали, что протеинкиназа А (РКА) является единственным эффектором cAMP. Однако в 1997 году были опубликованы результаты двух независимых исследований, свидетельствующие о том, что эффекторами cAMP, помимо РКА, могут быть и другие РКА-подобные белки [207, 69]. Эти белки получили название cAMP-регулируемый фактор обмена гуанидиновых нуклеотидов (cAMP-GEF) или обменный белок, напрямую активируемый cAMP (exchange protein directly activated by cAMP, Eras;). Было показано, что активация сопряженных с РКА и белками Eras сигнальных путей может в одной и той же клетке вызывать независимые друг от друга эффекты, в том числе и противоположные [88]. В КМ экспрессируются 2 изоформы этих белков – Eras1 и Eras2 [199,242]. Показано, что повышенная экспрессия гена регуляторных белков Eras1 в КМ инициирует прогипертрофические и профиброзные сигнальные каскады [242,175], а с повышенной экспрессией гена белков Eras2 связывают развитие нарушений сердечного ритма [132, 198]. Согласно имеющимся данным, проаритмическое действие регуляторных белков Eras2 связано с их способностью активировать Eras2/PI3K/Akt/NOS1/CaMKII δ /RyR2 сигнальный каскад и, как следствие этого,

иницировать диастолическую «утечку» ионов Ca^{2+} из цистерн СПР [155], а также активировать Erac2/CaMKII сигнальный путь, инициирующий избыточное увеличение протекающего через сарколемму КМ позднего Na^+ тока [100]. Помимо этого, белки Erac2 могут вызывать проаритмогенную перегрузку КМ ионами Ca^{2+} и посредством активации TRPC3 и TRPC4 каналов [98].

– *значимо увеличивает в КМ экспрессию гена сигма-1 рецептора ($\sigma_1\text{-R}$).* Роль σ_1 -рецепторов в поддержании гомеостаза КМ подробно изложена разделе «Обзор литературы» (см. стр. №№ 19 - 47). Известно, что в процессе развития ХСН на фоне формирования гипертрофии миокарда плотность σ_1 -рецепторов в КМ уменьшается [78, 80]. Более того, прослежена отрицательная линейная корреляция между плотностью σ_1 -рецепторов в КМ и снижением насосной функции сердца [80]. Агонист σ_1 -рецепторов ДНЕА в условиях ХСН способствует восстановлению пула σ_1 -рецепторов в КМ, с чем связана его способность препятствовать развитию патологического ремоделирования ЛЖ [79]. Близкие данные получены и в исследовании Tagashira H. et al. [235], в котором показано, что агонисты σ_1 -рецепторов не только препятствуют ремоделированию сердечной мышцы, но и в определенной мере восстанавливают насосную функцию сердца. Не исключено, что протектерное влияние агонистов σ_1 -рецепторов на развитие патологического ремоделирования миокарда связана с такими свойствами σ_1 -рецепторов как способность регулировать вход ионов Ca^{2+} из внеклеточного пространства в цитозоль КМ и оптимизировать кальциевые токи на уровне СПР [233]. Оптимизация под влиянием агонистов σ_1 -рецепторов внутриклеточной концентрации ионов Ca^{2+} в условиях патологии сердечной мышцы в существенной мере улучшает пластические свойства миокарда, препятствует его ремоделированию, поддерживает насосную функцию сердца. Не менее важно и то, что $\sigma_1\text{-R}$ играют существенную роль и в регуляции энергообразующей и Ca^{2+} -регулирующей функций митохондрий. Известно, что функциональная взаимосвязь между СПР и митохондриями является ключевым фактором, контролирующим Ca^{2+} -опосредованные внутриклеточные сигнальные каскады и продукцию АТФ [194]. Это взаимодействие осуществляется за счет наличия на

наружной мембране СПР расположенного в области Ca^{2+} канала, образованного $\text{IP}_3\text{-R}$, высокоаффинного белкового комплекса, ассоциированного с мембраной митохондрий (mitochondria-associated endoplasmic reticulum membranes – MAM), который опосредует транспорт ионов Ca^{2+} из СПР в митохондрии [165]. Комплекс MAM преимущественно формируется из шаперонов BiP , которые в большом количестве экспрессируются в митохондриях, и обеспечивает взаимодействие между $\text{IP}_3\text{-R}$ и расположенным на наружной мембране митохондрий потенциалзависимым анионным каналом (voltage-dependet anion channel – VDAC). Шаперон BiP образует туннель, соединяющий $\text{IP}_3\text{-R}$ с VDAC, по которому ионы Ca^{2+} перемещаются из депо СПР к наружной мембране митохондрий [119]. $\sigma_1\text{-R}$, связанные с шапероном BiP , стабилизируют открытые $\text{IP}_3\text{-R}$ и тем самым пролонгируют время перехода ионов Ca^{2+} из СПР к митохондриям [226]. По мере истощения запасов ионов Ca^{2+} , депонированных в СПР, $\sigma_1\text{-R}$ диссоциируют от шаперонов BiP , что влечет за собой инактивацию $\text{IP}_3\text{-R}$ [165]. Как полагают авторы этой публикации, $\sigma_1\text{-R}$ является ключевым белком, обеспечивающим надлежащее поступление ионов Ca^{2+} из СПР в митохондрии.

Импортированные из СПР в митохондрии ионы Ca^{2+} посредством прямого взаимодействия с такими ферментами как Ca^{2+} -зависимые пируватдегидрогеназа и фосфотаза, α -кетоглутаратдегидрогеназа и изоцитратдегидрогеназа увеличивают доступность НАДН⁺ и, следовательно, поток электронов вниз по дыхательной цепи, что влечет за собой увеличение/оптимизацию продукции АТФ [194]. Кроме того, физиологический «захват» ионов Ca^{2+} митохондриями ограничивает избыточный подъем его концентрации в цитоплазме, что, в свою очередь, подавляет процессы, инициирующие аутофагию, апоптоз и некроз клетки, а также обеспечивает быстрое затухание Ca^{2+} -опосредованных внутриклеточных сигналов [96,167].

Таким образом, результаты молекулярных исследований, посвященных изучению особенностей кардипротективного действия фабомотизола в условиях ишемического повреждения миокарда, позволяют говорить о способности препарата воздействовать на различные звенья этого патологического процесса. С

подавлением повышенной экспрессии генов AT1-R и V1A-R рецепторов может быть связана способность препарата препятствовать развитию/уменьшать интенсивность постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца. Кроме того, есть все основания полагать, что восстановление нормального уровня экспрессии генов этих рецепторов снижает/блокирует активность сопряженных с ними профибротических сигнальных каскадов что, как следствие этого, приведет к понижению интенсивности формирования постинфарктного коронарокардиосклероза. Подавление повышенной экспрессии гена регуляторных белков Ерас2, по всей видимости, будет способствовать снижению активности сопряженных с ними проаритмических сигнальных каскадов, что в условиях ХСН представляется достаточно важным, поскольку при этой патологии крайне высок риск развития злокачественных нарушений сердечного ритма, особенно ФП. С увеличением уровня экспрессии гена σ_1 -R в КМ может быть связана способность фабомотизола, в определенной мере восстанавливать сократительную функцию ЛЖ сердца, а также улучшать пластические свойства миокарда. Поскольку известно, что кардиопротективное действие фабомотизола во многом связано с его агонистическим влиянием в отношении σ_1 -R, которые, как известно, рассматривают как эволюционно сложившийся «ремонтный комплекс» клетки, можно полагать, что именно этим объясняется его способность подавлять повышенную экспрессию генов выше указанных рецепторов и регуляторных белков. Также не исключено, что увеличение уровня экспрессии гена σ_1 -R в КМ повлечет за собой оптимизацию энергообразующей функции митохондрий и тем самым будет способствовать улучшению функциональной активности КМ. Исходя из результатов генотоксикологических исследований, можно полагать, что определенный вклад в кардиопротективную активность препарата вносит с его способностью в условиях ишемии миокарда уменьшать интенсивность апоптоза КМ. Подобного рода активность описана и для агонистов σ_1 -R [261].

3.2. Изучение особенностей кардиопротективного действия фабомотизола при некоронарогенном повреждении миокарда

3.2.1. Изучение морфологических особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с алкогольной кардиомиопатией

В качестве модели некоронарогенного повреждения сердца была использована разработанная в нашем институте трансляционная модель АКМП у крыс [15]. В качестве эталонного препарата использовали р-FOX ингибитор триметазидин, который по мнению ряда кардиологов является препаратом выбора для лечения АКМП [6, 138, 157].

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г, к окончанию эксперимента масса животных составляла 400-650 г. Все животные содержались в индивидуальных клетках. На 1-м этапе исследования крыс рандомизировали на 2-е группы: 1-я (n=12) - интактные животные, получавшие обычный рацион питания и свободный доступ к воде, 2-я (n=28) животные, получавшие обычный рацион питания, а в качестве единственного источника жидкости 10%-й раствор этанола. На протяжении всего формирования АКМП (24 недели) еженедельно регистрировали количество потребляемого этанола (г/кг). Все животные этой группы активно потребляли физиологически значимое количество 10%-ного раствора этанола. В пересчете на чистый этанол среднее потребление алкоголя вне зависимости от пола варьировало в пределах 3,5–6,8 г/кг в сутки. По окончанию 24-ой недели животные 1-й группы были повторно рандомизированы на 2- подгруппы: 1а (n=6) - интактные животные к фабомотизолу и 1б (n=6) – интактные животные к триметазидину. Крыс 2-й группы, к окончанию 24-ой недели после эхокардиографического подтверждения наличия АКМП, также повторно рандомизировали на 4 подгруппы: 2а (n=6) — алкоголизованный контроль к фабомотизолу, 2б (n=6) — алкоголизованный контроль к триметазидину, 2в (n=8) — алкоголизованные крысы + фабомотизол и 2г (n=8) — алкоголизованные крысы + триметазидин. Фабомотизол (15 мг/кг/сутки, в/б) и триметазидин (30 мг/кг/сутки, в/б) начинали вводить по

окончании 24-й недели алкоголизации и продолжали в течение 28 дней. Животные интактных и алкоголизированных контрольных групп получали эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида.

На 29-й день после отмены этанола в алкоголизированных группах проводили эвтаназию крыс всех групп, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших морфологических исследований.

3.2.2.А. Результаты патологоанатомического вскрытия

– интактные к фабомотизолу и триметазидину животные.

Визуальный осмотр сердец интактных животных позволяет сделать заключение о том, что их патологоанатомическая картина близка к таковой описанной в подразделе 3.1.1.А (рисунок 7 А, 38 А).

– животные групп алкоголизированного контроля к фабомотизолу и триметазидину.

Сердца округлой формы, тёмно-красного цвета с желтыми вкраплениями. Размеры сердца увеличены. Миокард был дряблым, в эпикарде выявлялись жировые конгломераты (рисунок 38 Б). Полости сердца на разрезе кровенаполнены, дилатированы. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Венечные сосуды кровенаполнены.

– животные основной группы (АКМП + фабомотизол).

Сердца тёмно-красного цвета. Размеры сердец слегка увеличены, форма близка к конусообразной (рисунок 38 В). Консистенция сердечной мышцы менее дряблая, чем у контрольных животных. Жировые конгломераты в эпикарде отсутствуют. Полости сердца кровенаполнены. Дилатация полостей ЛЖ и ПЖ сердца визуально менее выражена по сравнению с группой алкоголизированного контроля. Предсердно-желудочковые отверстия проходимы. Венечные сосуды умеренно кровенаполнены.

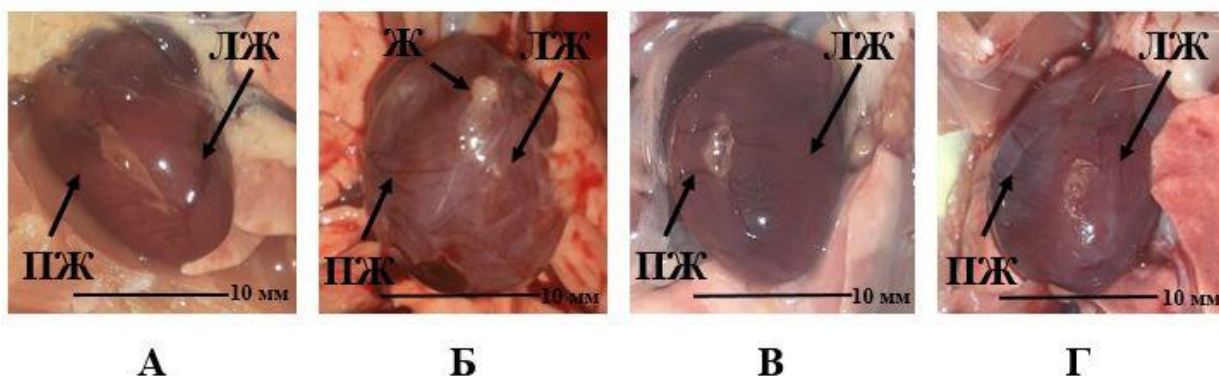


Рисунок 38 – Макропрепараты сердец крыс.

Примечание: А – сердце интактного животного, Б – сердце контрольного животного с АКМП, В - сердце животного с АКМП, получавшего фабомотизол (15 мг/кг/сут в/б), Г - сердце животного с АКМП, получавшего триметазидин (30 мг/кг/сутки, в/б), ЛЖ – левый желудочек сердца, ПЖ – правый желудочек сердца, Ж – жировая ткань

– животные, получавшие препарат сравнения (АКМП + триметазидин).

Патологоанатомическая картина сердец животных, получавших триметазидин, практически не отличается от выше приведенной для фабомотизола (рисунок 38 Г).

Таким образом, согласно результатам патологоанатомического вскрытия, у животных алкоголизованных контрольных групп выявляется дилатация полостей ЛЖ и ПЖ сердца. У животных, получавших фабомотизол или препарат сравнения триметазидин, визуальна дилатация полостей ЛЖ и ПЖ сердца менее выражена, а миокард более плотной консистенции.

3.2.2.Б. Результаты морфометрических измерений

– интактные животные

Как следует из результатов морфометрических измерений, размеры сердца крыс интактных групп соответствуют физиологическим нормам (рисунок 39). Например, площади полостей ЛЖ и ПЖ животных, интактных к фабомотизолу, составляют $4,67 \pm 0,57$ мм² и $2,92 \pm 0,15$ мм² соответственно (таблица 5). В интактной к триметазидину группе эти показатели составляют $6,18 \pm 0,70$ мм² и $3,30 \pm 0,29$ мм² соответственно (Таблица 6).

– животные контрольной к фабомотизолу группы (АКМП на фоне алкогольной депривации).

У контрольных животных по окончании 28-й недели эксперимента, согласно данных морфометрии, отмечается существенная дилатация полостей ЛЖ и ПЖ сердца (таблица 5, рисунок 39). Так, например, если у интактных крыс площадь полости ЛЖ составляет $4,67 \pm 0,57 \text{ мм}^2$, у животных контрольной группы она составляет $11,58 \pm 1,76 \text{ мм}^2$ ($p \approx 0,003$), а площадь полости ПЖ соответственно $2,92 \pm 0,15 \text{ мм}^2$ и $5,18 \pm 0,59 \text{ мм}^2$ ($p \approx 0,008$).

Таблица 5 - Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут., в/б, в течение 28 дней) на морфометрические показатели ЛЖ и ПЖ сердца крыс с АКМП в условиях алкогольной депривации

Группа	Площадь полости ЛЖ, мм ²	Относительная площадь полости ЛЖ, %	Площадь полости ПЖ, мм ²
Интактный контроль, n=6	$4,67 \pm 0,57$ $p \approx 0,003$	$8,8 \pm 0,8$ $p \approx 0,0002$	$2,92 \pm 0,15$ $p \approx 0,0080$
Алкоголизованный контроль, n=6	$11,58 \pm 1,76$	$22,5 \pm 2,8$	$5,18 \pm 0,59$
Фабомотизол, n=7	$5,48 \pm 1,76$ $p \approx 0,0059$	$10,0 \pm 2,6$ $p \approx 0,0004$	$3,35 \pm 0,45$ $p \approx 0,0021$
Примечание: p - указано по отношению к алкоголизованному контролю			

– животные основной группы (АКМП на фоне алкогольной депривации + фабомотизол)

Как следует из результатов морфометрии степень дилатации желудочков сердца крыс, получавших фабомотизол, значимо меньше, чем у контрольных животных (таблица 5, рисунок 39). Так, если у контрольных животных площадь полости ЛЖ составляет $11,58 \pm 1,76 \text{ мм}^2$ или $22,5 \pm 2,8$ % от площади ЛЖ, то у леченных животных эти показатели меньше, чем в контроле - соответственно $5,48 \pm 1,76 \text{ мм}^2$ ($p \approx 0,0059$) и $10,0 \pm 2,6$ % ($p \approx 0,0004$). То же касается и площади ПЖ –

у леченных крыс она также меньше, чем у контрольных животных, соответственно $3,35 \pm 0,45 \text{ мм}^2$ и $5,18 \pm 0,59 \text{ мм}^2$ ($p \approx 0,0021$).

Таблица 6 - Влияние триметазида (30 мг/кг/сут., в/б, в течение 28-и дней) на морфометрические показатели ЛЖ и ПЖ сердца крыс с АКМП в условиях алкогольной депривации

Группа	Площадь полости ЛЖ, мм ²	Относительная площадь полости ЛЖ, %	Площадь полости ПЖ, мм ²
Интактный контроль, n=6	$6,18 \pm 0,70$ $p \approx 0,0001$	$10,1 \pm 0,8$ $p \approx 0,0001$	$3,30 \pm 0,29$ $p \approx 0,0001$
Алкоголизованный контроль, n=6	$18,23 \pm 1,24$	$26,3 \pm 2,8$	$9,22 \pm 1,46$
Триметазидин, n=8	$8,61 \pm 1,06$ $p \approx 0,0002$	$12,7 \pm 1,3$ $p \approx 0,0002$	$4,67 \pm 0,41$ $p \approx 0,0002$
Примечание: p - указано по отношению к алкоголизованному контролю			

– животные контрольной к триметазидину группы (АКМП на фоне алкогольной депривации).

У контрольных животных по окончании 28-й недели эксперимента также отмечается существенная дилатация полостей ЛЖ и ПЖ сердца (таблица 6, Рисунок 39). Если у интактных крыс площадь полости ЛЖ составляет $6,18 \pm 0,70 \text{ мм}^2$ ($p \approx 0,0001$), у животных контрольной группы она составляет $18,23 \pm 1,24 \text{ мм}^2$, а площадь полости ПЖ соответственно составляет $3,30 \pm 0,29 \text{ мм}^2$ ($p \approx 0,0001$) и $9,22 \pm 1,46 \text{ мм}^2$.

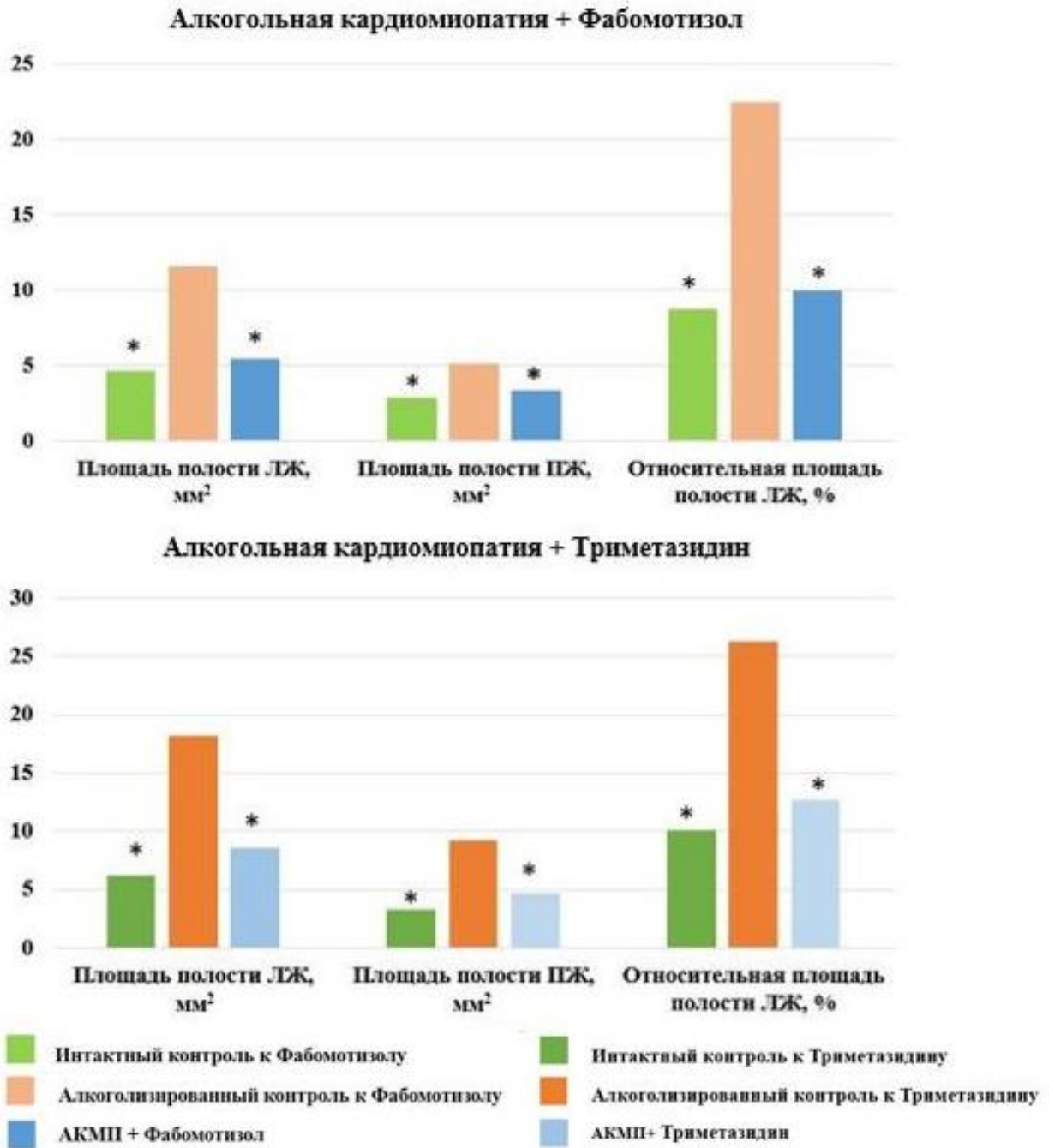


Рисунок 39 - Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут., в/б, в течение 28-и дней) или триметазида (30 мг/кг/сут., в/б, в течение 28 дней) на размеры полостей ЛЖ и ПЖ сердца крыс с АКМП в условиях алкогольной депривации.

Примечание : * - $p \leq 0,05$ - по отношению к алкоголизованному контролю

– животные, получавшие препарат сравнения триметазидин (АКМП на фоне алкогольной депривации + триметазидин).

Морфометрические измерения размеров сердца животных, которые в условиях алкогольной депривации, в течение 28-и дней получали эталонный препарат триметазидин, также свидетельствуют о его кардиопротективной активности (таблица 6, рисунок 39). Если у контрольных животных площадь полости ЛЖ составляет $18,23 \pm 1,24$ мм² или $26,3 \pm 2,8$ % от площади ЛЖ, то у леченных животных этот показатель значительно меньше - соответственно $8,61 \pm 1,06$ мм² ($p \approx 0,0002$) и $12,7 \pm 1,3$ % ($p \approx 0,0002$). Площадь ПЖ у леченных крыс также значительно меньше по сравнению с контрольной группой - соответственно $4,67 \pm 0,41$ мм² и $9,22 \pm 1,46$ мм² ($p \approx 0,0002$).

Таким образом, результаты морфометрических измерений, полученные в этой серии экспериментов, свидетельствуют о том, что систематическая терапия фабомотизолом у крыс с АКМП, также, как и терапия эталонным препаратом триметазидином, в условиях алкогольной депривации способствует значимому уменьшению размеров полостей ЛЖ и ПЖ сердца, что позволяет говорить о том, что препараты инициируют обратное ремоделирование миокарда.

3.2.2.В. Результаты проведенного микроскопического исследования

– интактные к фабомотизолу и триметазидину животные.

Гистологическая картина миокарда интактных крыс не отличается от таковой, описанной в подразделе 3.2.1.В (рисунок 40).

– животные групп алкоголизированного контроля к фабомотизолу и триметазидину.

В стенке сердца крысы определяются оболочки: наружная (эпикард), средняя (миокард) и внутренняя (эндокард). Эндокард выстилает изнутри камеры и клапаны сердца. Миокард представлен поперечнополосатыми клетками сердечной мышцы (КМ), расположенными послойно. Выявляется диффузное венозное и капиллярное полнокровие миокарда с эритростазом. Между

отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Поперечная исчерченность в клетках сердечной мышцы слабо выражена. У всех животных в данных группах (6 крыс в контрольной группе к фабомотизолу и 6 крыс в контрольной группе к триметазидину) обнаружен полиморфизм КМ (наличие атрофичных клеток одновременно с клетками в состоянии умеренной гипертрофии), а также жировые включения в КМ и в межмышечной строме (рисунок 41,42,43). Наружная оболочка сердца (эпикард) представлена соединительнотканной пластиной, плотно срастающейся с миокардом.



Рисунок 40 - Микрофотография миокарда крысы интактной к Фабомотизолу группы. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание : стрелками показаны неизмененные КМ

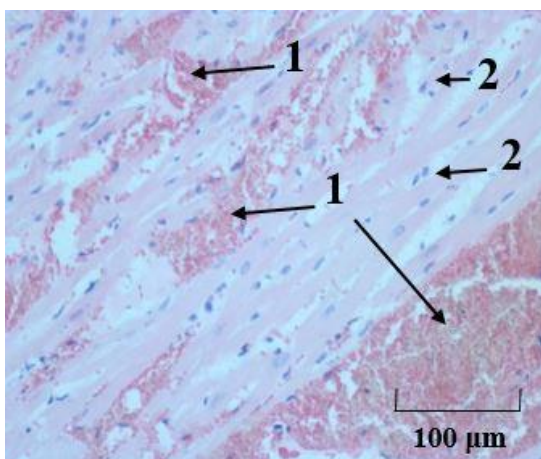


Рисунок 41 - Патологические изменения структуры миокарда крыс (контрольная группа к фабомотизолу) со сформировавшейся АКМП. 28-й день алкогольной депривации. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание :

- 1 – диффузное полнокровие миокарда
- 2 – жировая дистрофия миокарда

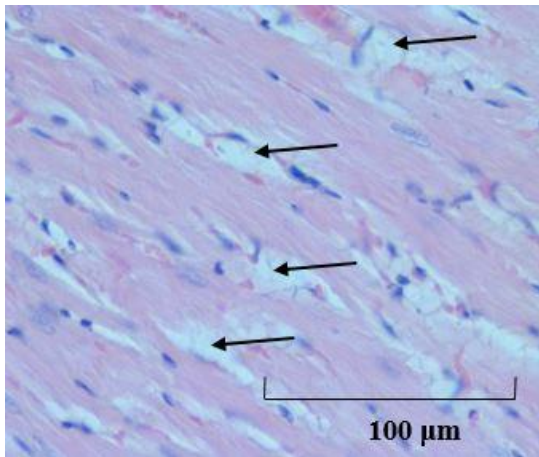


Рисунок 42 - Патологические изменения структуры миокарда крыс (контрольная группа к фабомотизолу) со сформировавшейся АКМП. 28-й день алкогольной депривации. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 400

Примечание: стрелками показана жировая дистрофия миокарда

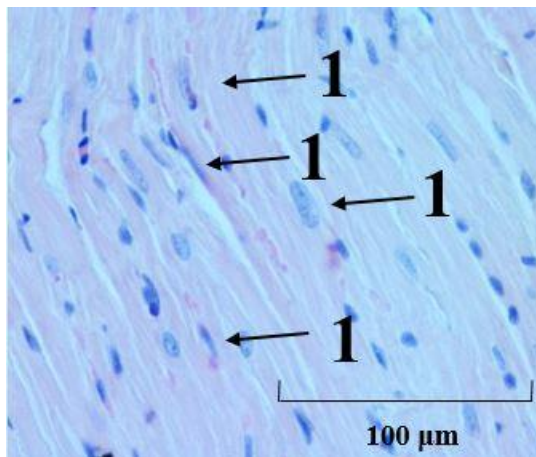


Рисунок 43 - Патологические изменения структуры миокарда крыс (контрольная группа к триметазидину) со сформировавшейся АКМП. 28-й день алкогольной депривации. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 400

Примечание: Стрелками показан полиморфизм КМ

– *животные основной группы (АКМП + фабомотизолу)*. Эндокард выстилает изнутри камеры и клапаны сердца. Миокард представлен поперечнополосатыми клетками сердечной мышцы (КМ), расположенными послойно. Сосуды миокарда полнокровны. Между отдельными группами КМ обнаруживаются небольшие кровоизлияния. Признаки нарушения реологии крови в поле зрения (диффузное полнокровие миокарда, эритростаз), в отличие от алкоголизируемого контроля, обнаруживаются только в отдельных случаях (рисунок 44). В клетках сердечной мышцы слабо выражена поперечная исчерченность. Полиморфизм КМ менее выражен, чем у алкоголизируемых

контрольных животных. Жировые включения в КМ и в межмышечной строме обнаружены только у 2-х животных из 7-и в данной группе. Наружная оболочка сердца (эпикард) представлена соединительнотканной пластиной, плотно срастающейся с миокардом.

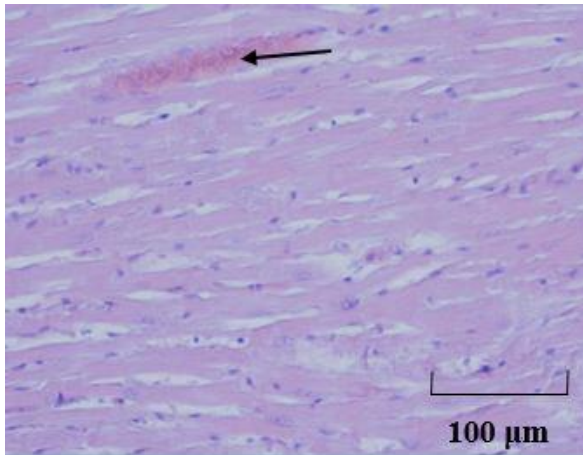


Рисунок 44 – Микрофотография миокарда ЛЖ крысы с АКМП, получавшей фабомотизол. 28-й день алкогольной депривации. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200.

Примечание: стрелкой показано диффузное полнокровие миокарда

– животные, получавшие препарат сравнения (АКМП + триметазидин)

Гистологическая картина миокарда крыс данной группы не имеет существенных отличий от таковой, обнаруженной у животных, получавших фабомотизол. Признаки нарушения реологии крови (диффузное полнокровие миокарда, эритростаз), в отличие от алкоголизируемого контроля, обнаруживаются в поле зрения только в отдельных случаях (рисунок 45). Если у алкоголизируемых контрольных животных полиморфизм КМ сильно выражен, то у крыс, получавших триметазидин, он выражен меньше. Клетки сердечной мышцы имеют слабо выраженную поперечную исчерченность. Интенсивная жировая инфильтрация миокарда обнаружена только у 1 животного из 8, а слабо выраженная жировая инфильтрация миокарда - только у 2 животных.

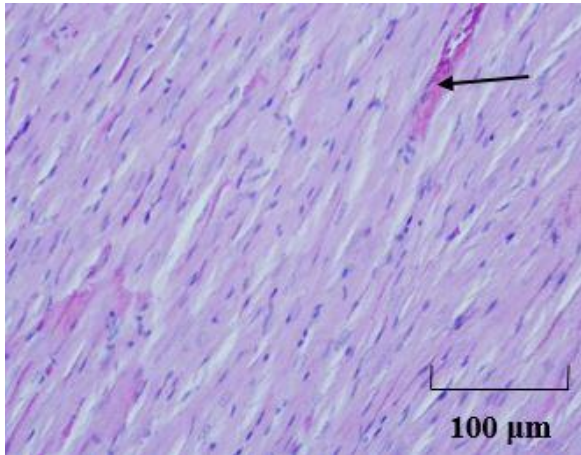


Рисунок 45 - Микрофотография миокарда ЛЖ крысы с АКМП, получавшей триметазидин. 28-й день алкогольной депривации. Окраска галлоцианин-эозином. Увеличение x 200

Примечание: стрелкой показано диффузное полнокровие миокарда

Таким образом, согласно результатам гистологического исследования, систематическая терапия фабомотизолом и эталонным препаратом триметазидином, проведенная в условиях алкогольной депривации животных со сформировавшейся АКМП, способствует существенному уменьшению полиморфизма КМ и признаков жировой дистрофии миокарда. Нарушения реологии крови у животных, получавших фабомотизол или триметазидин, менее выражены, чем в группе алкоголизируемого контроля. В целом эти результаты могут свидетельствовать о том, что препараты обладают кардиопротективной активностью. Также следует отметить, что, согласно результатам морфологических исследований, выполненных на модели АКМП, фабомотизол по своей активности, как минимум, не уступает эталонному препарату триметазидину.

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами [16,17,32,34,35,36,37,38,60,61,62].

3.2.2. Изучение механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола при некоронарогенном повреждении миокарда

3.2.2.1. Изучение влияния фабомотизола на порог электрической фибрилляции сердца у крыс с алкогольной кардиомиопатией

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах изначальной массой 180-200 г. Животные были рандомизированы на 4 группы: 1-я (n = 6) – интактные животные, 2-я (n = 6) – АКМП, 3-я (n = 6) – АКМП + фабомотизол и 4-я (n=5) – АКМП + триметазидин. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б) и триметазидин (30 мг/кг, в/б) вводили ежедневно в течение 28 дней после эхокардиографического подтверждения наличия АКМП по окончании 24-х недель алкоголизации. Животные 2-й группы по аналогичной схеме получали эквивалентный объем апирогенной воды для инъекций.

Эта серия экспериментов была выполнена совместно с с.н.с., к.м.н. В.Н. Столяруком.

Показано, что у контрольных алкоголизованных животных порог электрической фибрилляции сердца статистически значимо ($p \approx 0,009$) ниже, чем у интактных крыс, тогда как у крыс, получавших фабомотизол, порог электрической фибрилляции желудочков сердца не отличался от такового у животных интактной группы (таблица 7, рисунок 46). Необходимо подчеркнуть, что если порог электрической фибрилляции $\geq 0,5$ мА регистрировался у всех интактных животных и животных, получавших фабомотизол, то у контрольных алкоголизованных крыс – только у 1 из 6 (таблица 7, рисунок 46). Полученные в этой серии экспериментов данные свидетельствуют о том, что систематическая экспериментальная терапия фабомотизолом животных со сформировавшейся АКМП способствует восстановлению электрической стабильности КМ, что в существенной мере снижает риск возникновения злокачественных нарушений сердечного ритма, патогномичных для АКМП. Триметазидин подобной активностью не обладает (таблица 7, рисунок 46).

Таблица 7 - Влияние фабомотизола на порог электрической фибрилляции желудочков сердца (ПФЖ) у крыс со сформировавшейся АКМП

Показатель	Интактный контроль, n=6	Алкоголизованный контроль, n=6	Фабомотизол, n=6	Триметазидин, n=5
ПФЖ, мА (медиана, верхний и нижний квартили)	0,7 0,5÷1,5 p≈0,026	0,4 0,4÷0,4	0,7 0,5÷0,7 p≈0,026	0,6 0,4÷0,6 p≈0,51
Кол-во крыс, у кото-рых ПФЖ≥0,5 мА	6/6 p≈0,023	1/6	6/6 p≈0,023	3/5 p≈0,59
Примечание: p – указано по отношению к алкоголизованному контролю				

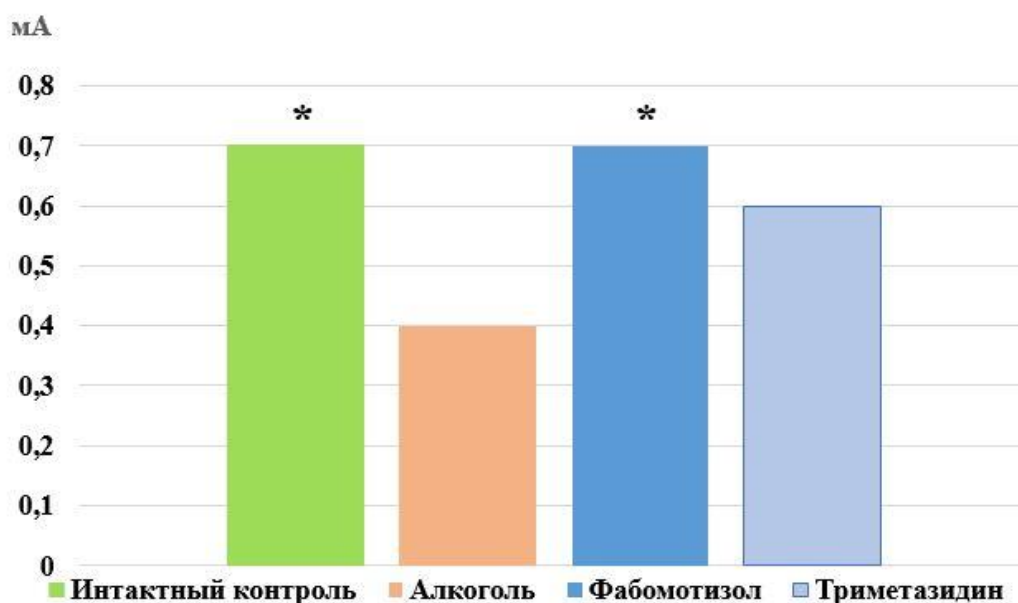


Рисунок 46 - Влияние фабомотизола (15 мг/кг/сут. в течение 28 дней в/б) на порог фибрилляции желудочков сердца крыс в условиях 28-дневной алкогольной депривации после 24 недель принудительного потребления этанола

Примечание: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к алкоголизованному контролю

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами [35,37,38,39].

3.2.2.2. Изучение молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективного действия фабомотизола у крыс с алкогольной кардиомиопатией

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах изначальной массой 180-200 г. На первом этапе исследования животных рандомизировали на две группы: 1-я (n = 8) – интактные крысы, получавшие обычный рацион питания и свободный доступ к воде; 2-я (n = 16) – животные, получавшие обычный рацион питания и в качестве единственного источника жидкости 10% алкоголь. По окончании 24-й недели, после подтверждения наличия у крыс 2-ой группы эхокардиографических признаков сформировавшейся АКМП, алкоголизацию животных 2-й группы прекращали и крыс вновь рандомизировали на две подгруппы: 2а – основная и 2б – контрольная. Животным подгруппы 2а (n = 8) ежедневно в течение 28 дней вводили фабомотизол (15 мг/кг, в/б) в 0,2-0,3 мл апирогенной воды для инъекций; крысам подгруппы 2б (n = 8) по аналогичной схеме вводили эквивалентный объем апирогенной воды для инъекций. Через сутки после последней инъекции животных подвергали эвтаназии, вскрывали грудную клетку и забирали сердца для молекулярных исследований.

Эта серия экспериментов была выполнена совместно с руководителем лаборатории хронического воспаления и микроциркуляции ФГБНУ «Научно-исследовательский институт общей патологии и патофизиологии» в.н.с., д.м.н. Л.М. Кожевниковой.

С целью изучения механизмов кардиопротективной активности фабомотизол при АКМП были исследованы возможные молекулярные механизмы, лежащие в основе способности препарата уменьшать интенсивность патологического ремоделирования сердца и восстанавливать электрическую стабильность КМ. Для этой цели методом ПЦР в реальном времени оценивали влияние фабомотизола на уровень экспрессии генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Ca^{2+} и регуляцию их ритмической активности.

Показано, что в миокарде ЛЖ сердца у контрольных животных с АКМП по сравнению с интактными животными статистически значимо ($p < 0,05$) увеличена экспрессия генов инозитол-трифосфатных рецепторов 2-типа (IP₃R₂) и рианодиновых рецепторов 2-типа (RyR₂), а также регуляторных белков Ерас1, Ерас2 и СаМ (рисунок 47).

Иная картина наблюдается у животных, получавших систематическую экспериментальную терапию фабомотизолом, на фоне которой в КМ значимо уменьшается (практически до уровня, определенного у интактных животных) экспрессия генов IP₃R₂ ($p = 0,006$), RyR₂ ($p = 0,031$) рецепторов и белков Ерас1 ($p = 0,021$), Ерас2 ($p = 0,018$) и СаМ ($p = 0,00001$) (рисунок 47).

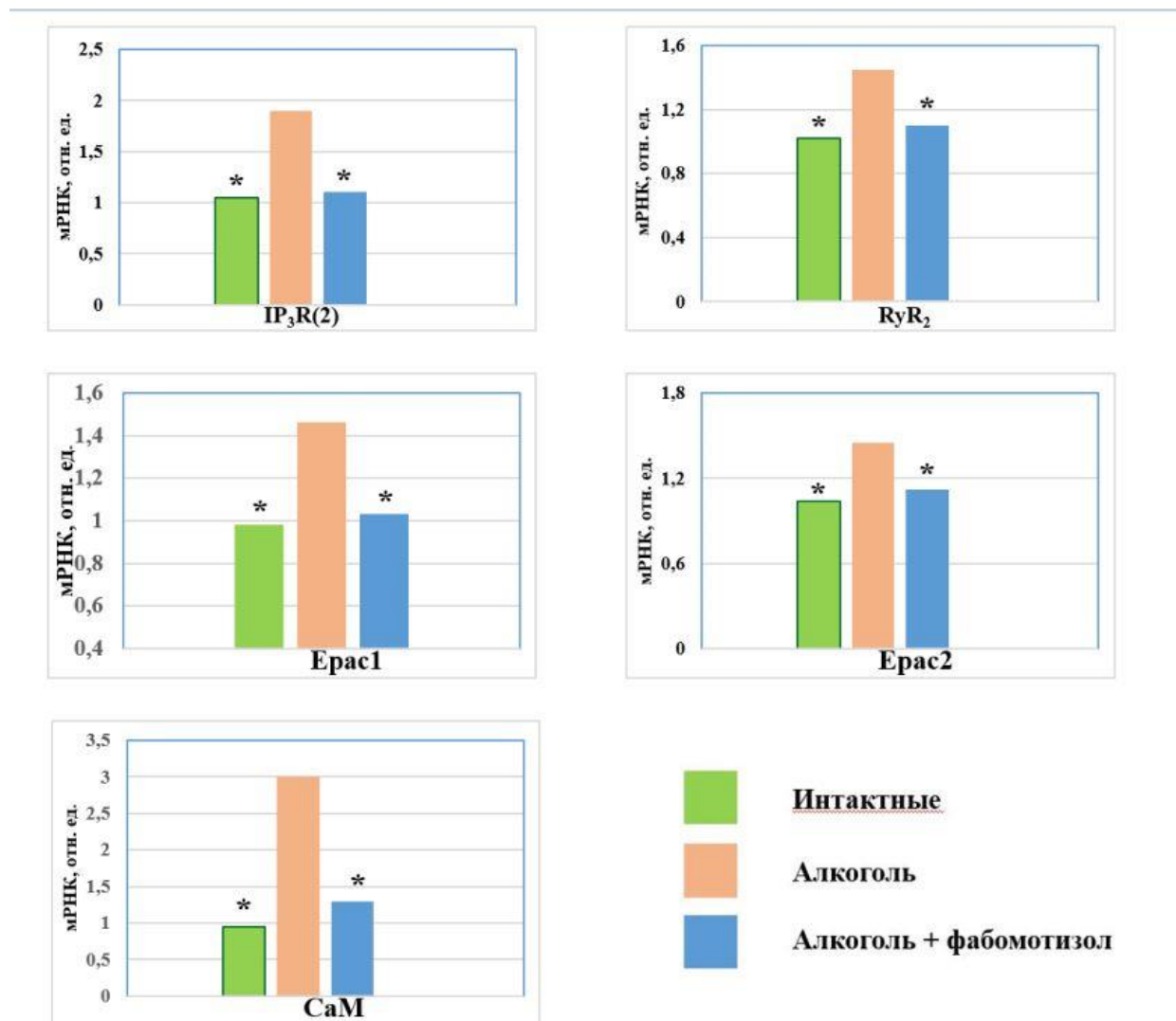


Рисунок 47 - Влияние фабомотизола на уровень экспрессии генов рецепторов и регуляторных белков: IP₃R₂, RyR₂, Ерас1, Ерас2 и СаМ у крыс с АКМП в условиях алкогольной депривации

Примечание: * - $p \leq 0,05$ - по отношению к алкоголизируемому контролю

Таким образом, результаты молекулярных исследований свидетельствуют о том, что у крыс с АКМП в результате экспериментальной терапии фабомотизолом значимо подавляется повышенная экспрессия генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Ca^{2+} и регуляцию их ритмической активности.

Полученные результаты опубликованы в работах с соавторами [27,28,39]

3.2.2.3. Изучение влияния фабомотизола на уровень поврежденности ДНК в миокарде крыс с алкогольной кардиомиопатией

Опыты проводили на белых беспородных крысах-самцах массой 180-200 г. На первом этапе исследования крыс рандомизировали на 2 группы: 1-я (n=6) – интактные животные, получавшие обычный рацион питания и свободный доступ к воде, 2-я (n=18) – животные, получавшие обычный рацион питания, а в качестве единственного источника жидкости 10%-й раствор этанола. По окончании 24-ой недели животные 2-й группы были повторно рандомизированы на три подгруппы: 2а (n=6) —алкоголизованный контроль к фабомотизолу, 2б (n=6) — алкоголизованные крысы + фабомотизол и 2в (n=8) — алкоголизованные крысы + триметазидин. Фабомотизол (15 мг/кг/сутки, в/б) и триметазидин (30 мг/кг/сутки, в/б) начинали вводить по окончании 24-й недели алкоголизации и продолжали в течение 28 дней. Животные интактных и алкоголизованных контрольных групп получали эквивалентный объем изотонического раствора натрия хлорида. На 29-й день проводили эвтаназию крыс, сердца извлекали из грудных клеток для дальнейших генотоксикологических исследований.

Эта серия экспериментов была выполнена совместно с руководителем лаборатории фармакологии мутагенеза А.К. Жанатаевым.

Как следует из полученных данных, у животных с АКМП, по сравнению с интактными крысами, уровень повреждений ДНК статистически значимо не различался (таблица 10). Не выявлено также значимых отличий в оцениваемом показателе для животных, получавших на фоне абстиненции фабомотизол в дозе

15 мг/кг или триметазидин в дозе 30 мг/кг. Вместе с тем, показано, что у контрольных алкоголизованных крыс, по сравнению с интактными, в миокарде статистически значимо ($p=0.0002$) снижено количество так называемых «ghost cells» (клетки с сильно-поврежденной ДНК) (рисунок 50) – соответственно 2,7% и 7,6%. У крыс, получавших фабомотизол, количество «ghost cells» практически не отличается ($p > 0,05$) от интактного контроля (таблица 10). На фоне терапии триметазидином также выявлено увеличение процентного содержания «ghost cells» по сравнению с алкоголизованным контролем, но оно статистически не значимо ($p=0.340$).

Таблица 8 - Влияние фабомотизола и триметазида на уровень ДНК-повреждений в миокарде крыс с АКМП. Щелочная версия метода ДНК-комет

Показатель	Группа			
	Интактный контроль	Алкоголизация	Алкоголизация +фабомотизол	Алкоголизация +триметазидин
%ДНК в хвосте ($m \pm SE$)	36.9 \pm 5.3	29.3 \pm 4.9	32.5 \pm 5.7	35.7 \pm 4.4
«ghost cells» (%)	7.6*	2.7	8.4*	3.8
Примечание * - $p \leq 0,05$ - по отношению к алкоголизованному контролю				

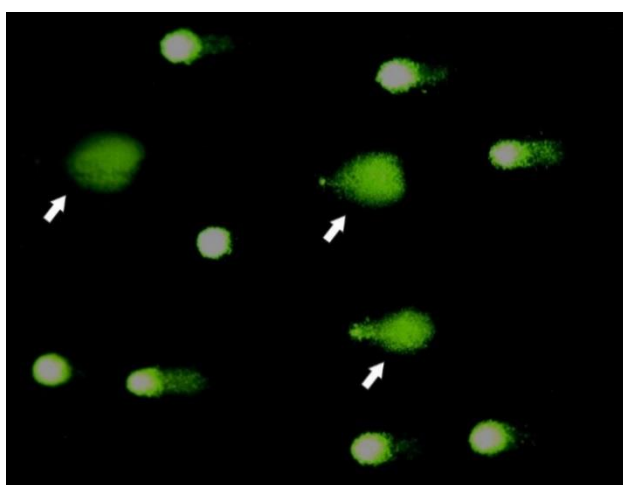


Рисунок 48 - Цифровое изображение с препарата ДНК-комет миокарда крысы. Стрелками указаны атипичные ДНК-кометы клеток с высокой степенью фрагментации ДНК («ghost cells»). Окраска SYBRGreenI; увеличение x200

На сегодня не существует единого мнения о происхождении таких ДНК-комет. Первоначально считалось, что ДНК-кометы с высокой степенью фрагментации ДНК, «ghost cells», представляют собой клетки, находящиеся на стадии апоптоза или предапоптотической гибели, что подтверждалось данными о корреляционной зависимости уровней таких клеток с показателем апоптоза, оцениваемого классическими методами (TUNEL, FACS) [188]. Позднее было показано, что такие ДНК-кометы характерны также для клеток после цитотоксического воздействия [90,117]. Недавние исследования показали, что не все ДНК-кометы с такой морфологией следует рассматривать как ДНК-кометы клеток, находящихся на стадии клеточной гибели (апоптотической или некротической) [163]. Экспериментально было показано, что возникновение ДНК-комет с сильно фрагментированной ДНК может свидетельствовать об активации репаративных процессов в клетках. Исходя из вышеизложенного, можно с определенной долей уверенности полагать, что на фоне длительного токсического воздействия алкоголя в миокарде значительно снижается интенсивность репаративных процессов, о чем и свидетельствует снижение более чем на 70% количество «ghost cells», тогда как на фоне терапии фабомотизолом происходит активация репаративных процессов, о чем свидетельствует восстановление до уровня интактных животных количества «ghost cells». Этот эффект препарата может быть связан с наличием в спектре его фармакологической активности агонистического влияния в отношении σ_1 -R, которые, как известно, рассматривают как эволюционно сложившийся «ремонтный комплекс» клетки [48]. В то же время, нельзя исключить, что снижение количества «ghost cells» в миокарде контрольных алкоголизированных крыс может быть связано и с иными механизмами, в частности ускоренной элиминацией апоптотически- и/или некротически-погибших клеток. Согласно современным представлениям процесс аутофагии играет ведущую роль в поддержании тканевого гомеостаза в сердечной мышце [247]. Нарушение аутофагии установлено при гипертензии, ишемии-реперфузии, инфаркте миокарда, а также при АКМП [247, 219]. Высокая активность аутофагии в

сердечной мышце у пациентов с дилатированной кардиомиопатией ассоциировалась с лучшим прогнозом [210]. Можно предполагать, что атипичные ДНК-кометы на препаратах миокарда крыс могут формировать клетки, находящиеся на стадии аутофагической деградации хроматина. Это позволяет рассматривать появление КМ с фрагментированной ДНК как важный механизм регуляции и поддержания гомеостаза миокарда. Полученные данные определяют перспективность исследований, направленных на изучение роли и механизмов аутофагии в функционировании миокарда с целью разработки фармакологических мишеней для терапии АКМП.

Полученные результаты опубликованы в работе с соавторами [9].

3.2.4. Обсуждение результатов

Как следует из результатов морфогистологических исследований, систематическая терапия фабомотизолом и эталонным препаратом триметазидином, проведенная на фоне алкогольной депривации у животных со сформировавшейся АКМП, способствует развитию обратного ремоделирования миокарда, существенному уменьшению полиморфизма КМ и признаков жировой дистрофии миокарда, что позволяет высказать предположение о том, что оба препарата проявляют кардиопротективную активность. Это предположение подтверждают результаты эхокардиографических исследований, выполненных м.н.с. Е.О Ионовой, из которых следует, что систематическая терапия как фабомотизолом, так и триметазидином животных с АКМП способствует обратному ремоделированию ЛЖ сердца и значительному увеличению его инотропной функции [16] и, как следствие этого, снижению тяжести патогномичной для АКМП сердечной недостаточности.

Из проведенных гистологических исследований следует, что на фоне терапии фабомотизолом и, в определенной мере, триметазидином уменьшается интенсивность жировой дистрофии миокарда.

Известно, что жировые включения в строму миокарда, наряду с фиброзом, являются морфологическим субстратом, инициирующим развитие нарушений сердечного ритма [85, 121, 154, 262 и др.]. В силу сказанного, представлялось интересным оценить, как уменьшение под влиянием фабомотизола и триметазидина жировой дистрофии миокарда влияет на электрическую стабильность КМ у животных с АКМП. Из полученных данных следует, что только фабомотизол восстанавливает до уровня у интактных животных порог электрической фибрилляции сердца, что позволяет говорить о том, что на фоне систематической терапии препаратом восстанавливается электрическая стабильность КМ. Этот эффект фабомотизола представляется достаточно важным, поскольку хорошо известно, что основным клиническим проявлением АКМП, помимо хронической сердечной недостаточности, являются

злокачественные нарушения сердечного ритма. Согласно результатам крупного перекрестного исследования, включившего в себя 75 430 историй болезней пациентов с АКМП, у 48% из них были выявлены, преимущественно, злокачественные, нарушения сердечного ритма, среди которых преобладали фибрилляция/трепетание предсердий (32%) и желудочковая тахикардия (8%) [231]. Риск развития злокачественных желудочковых аритмий возникает при снижении фракции выброса ЛЖ сердца ниже 40% [113]. Поскольку течение АКМП практически в 50% случаев отягощают преимущественно злокачественные нарушения сердечного ритма, нет ничего удивительно в том, что у этой категории больных крайне высок риск ВС (диагностируется у 30-40% пациентов с АКМП) [135, 206]. Эпидемиологические исследования свидетельствуют о том, что АКМП занимает 2-3 место среди всех причин ВС [43, 145,]. У лиц моложе 35 лет, страдающих хроническим алкоголизмом, ВС диагностируется чаще, чем при других аритмогенных заболеваниях, в том числе ИБС и аритмогенной кардиомиопатии ПЖ [4].

В отличие от фабомотизола, триметазидин не обладает антиаритмической активностью и отсутствие у него влияния на порог электрической фибрилляции желудочков сердца представляется логичным, поскольку несмотря на то, что на фоне препарата интенсивность жировой дистрофии миокарда значительно снижается, он существенно не влияет на уровень фиброза миокарда, который, как известно, является одним из морфологических субстратов, ответственных за формирование нарушений сердечного ритма.

При изучении молекулярных механизмов, лежащих в основе кардиопротективной способности фабомотизола при АКМП, было показано, что на фоне систематической терапии препаратом:

– в КМ статистически значимо подавляется повышенная экспрессия генов $RyR2$ ($p = 0,031$) и IP_3R2 ($p = 0,006$) рецепторов. IP_3R2 представляет собой трансмембранный встроенный в плазматическую мембрану СПР канал-образующий белок [177]. Эта изоформа инозитол-трифосфатного рецептора, также как и $RyR2$ рецептора, экспрессируется в КМ желудочков сердца [103, 235].

В настоящее время эти рецепторы рассматривают в качестве ключевых игроков, регулирующих сократительную и ритмическую функцию КМ [131]. Полагают, что активированный агонистом IP_3 -R2 может вызывать сенсibilизацию соседних с ними RyR2, что приводит к кратковременному «мощному» выбросу ионов Ca^{2+} из депо СПР – так называемому выбросу «искры Ca^{2+} » [119]. Помимо этого, активность RyR2 может модулироваться CaM посредством модуляции активности CaMKII.

При низких концентрациях ионов Ca^{2+} CaM связывается с RyR2, ингибируя этот канал. При высоких концентрациях ионов Ca^{2+} CaM активирует CaMKII, которая и фосфорилирует RyR2 в ответ на стресс сердечно-сосудистой системы [72]. В условиях патологии, например при ХСН, избыточная активация RyR2 может привести к избыточной утечке ионов Ca^{2+} из СПР, что приводит к преждевременным сокращениям (аритмия) КМ, а в случае истощения запасов ионов Ca^{2+} в СПР – к сократительной дисфункции [92, 250]. Механизмы RyR2-обусловленного аритмогенеза, например, при ФП, патогномичной для ХСН, связывают как с перегрузкой ионами Ca^{2+} СПР, так и с их избыточной утечкой [245, 152]. Избыточная RyR2-обусловленная утечка ионов Ca^{2+} из депо СПР связана как с повышенной экспрессией гена белка RyR2 в КМ, так и с независимым от CaMKII фосфорилированием RyR2 [92].

– в КМ статистически значимо подавляется повышенная экспрессия гена CaM ($p = 0,00001$). Регуляторный белок CaM является основным белком, регулирующим в клетке Ca^{2+} -зависимую сигнализацию. В условиях патологии миокарда CaM активирует ряд сигнальных белков, ответственных за ремоделирование сердечной мышцы, ключевым из которых является CaMKII, инициирующая гипертрофию и дисфункцию миокарда [149]. Показано, что CaM-обусловленная избыточная экспрессия гена CaMKII вызывает сердечную недостаточность посредством активации (фосфорилирования) таких белков как RyR2 и фосфолумбан [268]. Кроме того, в клетках сердечной мышцы CaMKII специфически связывается с гистондеацетилазой 4 (HDAC4), что влечет за собой гипертрофию и ремоделирование ЛЖ сердца [71]. Также в результате CaMKII-

индуцированного фосфорилирования HDAC4 распадается комплекс HDAC4/MEF2 и последний переходит в активное состояние [248]. Известно, что MEF2 является одним из основных миогенных трансформирующих факторов, ответственных за гипертрофию и ремоделирование миокарда [192]. Повышенная экспрессия гена CaMKII также может инициировать развитие нарушений сердечного ритма посредством активации позднего Na⁺ тока, протекающего через сарколемму КМ [225].

Помимо CaMKII, в кальмодулин-опосредованном постинфарктном ремоделировании сердца значительная роль принадлежит кальций/кальмодулин-зависимой серин-треонин фосфатазе (кальциневрин; CaN). В условиях патологии CaN инициирует гипертрофию и ремоделирование миокарда, активируя (дефосфорилируя) локализованный в цитоплазме ядерный фактор транскрипции – NFATc [253]. Дефосфорилированный NFATc транслоцируется в ядро, где связывается со своей ядерной изоформой (NFATn) и активирует синтез практически всего семейства провоспалительных цитокинов.

– в КМ статистически значимо подавляется экспрессия гена регуляторных белков *Eras 1* ($p = 0,021$). Как уже было отмечено выше (см. стр. № 103), помимо РКА эффектором cAMP являются регуляторные белки *Eras*. Было показано, что гипертрофия КМ не связана с активацией β -адренорецептор/cAMP/РКА сигнального каскада [269], и реализуется не зависимо от РКА путем активации CaMKII [91]. Позднее было показано, что этот феномен связан с активацией *Eras1/Ras* сигнального прогипертрофического каскада, который инициирует последовательную активацию Ca²⁺-чувствительных белков CaN и CaMKII [175].

В условиях патологии повышенная экспрессия гена белков *Eras* стимулирует продукцию/активность прогипертрофического транскрипционного ядерного фактора «каппа-би» (NF-kB) [180]. Активация NF-kB белками *Eras* опосредуется CaN. При изучении уровня экспрессии гена белков *Eras1* и *Eras2* в биоптатах тканей, полученных из гипертрофированных сердец животных, было показано, что по сравнению с интактными в них значимо ($p < 0.05$) увеличивается экспрессия гена только белков *Eras1*, тогда как уровень экспрессии гена белков

Ерас2 не изменяется [242]. Аналогичные результаты были получены и при изучении экспрессии гена белков Ерас в биоптатах миокарда ЛЖ пациентов, страдающих IV классом ХСН по NYHA. Показано, что в них экспрессия гена белков Ерас1 в 2 раза выше ($p < 0.05$) по сравнению с таковой у пациентов без ХСН, тогда как экспрессия гена белков Ерас2 не изменена [175]. Помимо способности инициировать гипертрофию и ремоделирование сердца, белкам Ерас1 присуща и профиброгенная активность, которая связана с активацией Ерас1/Rap1 сигнального каскада, инициирующего миграцию фибробластов [264] и/или активацией Ерас1/Rap1/PKC δ сигнального каскада, завершающегося фосфорилированием P38 MAP-киназы (P38MAPK), играющей ведущую роль в активации IL-6 [86].

– в КМ статистически значимо подавляется повышенная экспрессия гена регуляторных белков Ерас2 ($p = 0,018$).

Влияние повышенной экспрессии гена белков Ерас2 на функциональное состояние сердца рассмотрена выше (см. стр. № 99).

Таким образом, результаты исследований по изучению молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на модели АКМП у крыс свидетельствуют о том, что его способность уменьшать интенсивность патологического ремоделирования миокарда может быть связана с подавлением в миокарде ЛЖ сердца повышенной экспрессии генов регуляторных белков СаМ и Ерас1. Антиаритмическое действие препарата, скорее всего, обусловлено его способностью восстанавливать в миокарде ЛЖ сердца нормальный уровень экспрессии генов ключевых рецепторов и белков, ответственных за поддержание в КМ гомеостаза ионов Са²⁺ и регуляцию их ритмической активности – RyR2, IP₃R2, СаМ и Ерас2.

Есть все основания полагать, что, как минимум, антиаритмическая активность фабомотизола связана с его агонистическим влиянием на σ_1 -R, поскольку ранее было показано, что на фоне блокады σ_1 -R антиаритмическое действие препарата не реализуется [49]. Известно, что на наружной мембране СПР КМ локализуется стационарная форма σ_1 -R, включающая в себя, помимо

собственно σ_1 -R, якорный белок анкирин В-220 и инозитол-1,4,5-трифосфат связанный рецептор (IP_3 -R). В отсутствие лиганда анкирин В-220 выступает в качестве блокатора IP_3 -R за счет высокой аффинности к С-концевой терминали IP_3 -R [255]. При взаимодействии σ_1 -R с агонистом анкирин В-220 дислоцируется от С-терминали IP_3 -R и последний переходит в открытое, но не активированное состояние. Далее IP_3 -R взаимодействует со своим агонистом 1,4,5-инозитол-трифосфатом (IP_3), в результате чего IP_3 -R активируется [255] и вызывает сенсibilизацию соседних с ними $RyR2$, что приводит к кратковременному «мощному» выбросу ионов Ca^{2+} из депо СПР – так называемому выбросу «искры Ca^{2+} » [119]. Синхронный выброс «искры Ca^{2+} » в цитозоль КМ из депо СПР через IP_3 -R2 и $RyR2$ каналы обусловлен тем, что они физически и функционально связаны между собой таким образом, что активность отдельного канала координируется с соседним. Этот феномен носит название «сопряженное стробирование» [169]. Выброс ионов Ca^{2+} из депо СПР является ключевым событием, связывающим деполяризацию мембраны КМ и их механическую (инотропную) и ритмическую активность в процессе электромеханического сопряжения клеток сердца. Как уже было отмечено выше, повышенная экспрессия гена $RyR2$ инициирует утечку ионов Ca^{2+} из депо СПР [92] и тем самым повышает их аритмогенный потенциал. Нормализация под влиянием фабомотизола у крыс с АКМП уровня экспрессии в миокарде генов $RyR2$ и IP_3R2 , а также белков CaM и $Eras2$ должна способствовать повышению уровня электрической стабильности КМ и улучшению их сократительной способности.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Анализ результатов морфогистологических особенностей действия фабомотизола свидетельствует о том, что терапия препаратом (15 мг/кг, в/б ежедневно в течение 15 дней), начатая в условиях острого и подострого ИМ, способствует уменьшению зоны некроза и сохранению гистологической картины КМ, стимулирует ангиогенез в периинфарктной зоне, снижает интенсивность постинфарктного ремоделирования ЛЖ сердца, а также восстанавливает массу функционального миокарда.

Морфогистологические исследования особенностей действия фабомотизола, выполненные на трансляционной модели постинфарктной ХСН у крыс, продемонстрировали, что систематическая терапия препаратом (15 мг/кг, в/б, ежедневно, в течение 28 дней, начиная с 90-го дня после воспроизведения переднего трансмурального ИМ) оказывает определенное цитопротективное действие: в периинфарктной зоне миокарда ЛЖ сердца леченных животных, в отличие от контрольных, большая часть КМ имели нормальную форму и величину с сохраненной поперечной исчерченностью миофибрилл и ядрами нормальной формы и величины. КМ в состоянии дистрофии практически отсутствовали. Результаты морфометрии свидетельствуют о том, что терапия фабомотизолом способствует обратному ремоделированию ЛЖ сердца, что дает основание полагать, что препарат уменьшает тяжесть течения ХСН. Это предположение подтверждают результаты гистологической оценки состояния органов-мишеней (легкие, печень), в которых застойные явления выражены в значительно меньшей степени, чем у контрольных животных с ХСН.

При изучении на модели ХСН молекулярных механизмов, лежащих в основе кардипротективного действия фабомотизола, было показано, что препарат воздействует на различные звенья этого патологического процесса: как следует из полученных данных, на фоне терапии фабомотизолом в миокарде подавляется выявленная у контрольных животных повышенная экспрессия генов AT1-R и

AVPR1A-R рецепторов. Поскольку хорошо известно, что патогенез ХСН во многом связан с гиперактивностью таких нейрогуморальных регуляторов как РААС и гипоталамо-гипофизарная система [95,134,150,195,249], естественно, что снижение практически до уровня, зарегистрированного у ложнооперированных крыс, экспрессии акцепторов действия ангиотензина II и вазопрессина – AT1-R и AVPR1A-R рецепторов, – может лежать в основе способности препарата препятствовать развитию/уменьшать интенсивность постинфактного ремоделирования ЛЖ сердца. Не менее важным представляется и тот факт, что препарат значительно увеличивает в КМ экспрессию гена σ_1 -R, с чем может быть связана его способность повышать в условиях ХСН инотропную функцию ЛЖ сердца, а также, возможно, улучшать пластические свойства миокарда.

Исходя из результатов генотоксикологических исследований, можно полагать, что определенный вклад в кардиопротективную активность препарата вносит его способность в условиях ишемии миокарда уменьшать интенсивность апоптоза КМ.

При морфогистологическом исследовании особенностей кардиопротективного действия фабомотизола у животных с АКМП на фоне алкогольной депривации было показано, что систематическая терапия препаратом (15 мг/кг, в/б, ежедневно, в течение 28 дней, начатая по окончании 24-й недели принудительной алкоголизации крыс 10% раствором этанола) способствует развитию обратного ремоделирования миокарда, существенному уменьшению полиморфизма КМ и признаков жировой дистрофии миокарда. Близкий результат был получен и при изучении морфогистологических особенностей кардиопротективного действия эталонного препарата триметазидина (30 мг/кг, в/б, ежедневно, в течение 28 дней, начатая по окончании 24-й недели принудительной алекоголизации крыс 10% раствором этанола), который ряд клиницистов позиционируют как препарат выбора для лечения АКМП. Результаты этой серии экспериментов позволяют сделать заключение о том, что фабомотизол по своей способности в условиях АКМП инициировать обратное ремоделирования миокарда, восстанавливать гистологическую картину КМ и

уменьшать жировую дистрофию миокарда, как минимум, не уступает эталонному препарату триметазидину.

При проведении экспериментов по изучению влияния фабомотизола на порог электрической фибрилляции желудочков сердца было показано, что препарат восстанавливает до уровня у интактных животных вдвое сниженный у контрольных животных с АКМП порог электрической фибрилляции сердца, что позволяет говорить о том, что на фоне систематической терапии фабомотизолом восстанавливается электрическая стабильность КМ. Результаты этой серии экспериментов представляются достаточно важными, поскольку известно, что основным клиническим проявлением АКМП, помимо ХСН, являются злокачественные нарушения сердечного ритма, которые у 30-40% пациентов приводят к ВС [135,206].

В отличие от фабомотизола, эталонный препарат триметазидин не влияет на порог электрической фибрилляции желудочков сердца у животных с АКМП.

При изучении молекулярных механизмов кардиопротективного действия фабомотизола на модели АКМП у крыс было показано, что препарат подавляет в миокарде ЛЖ сердца, практически до уровня интактных животных, наблюдаемую у контрольных животных с АКМП повышенную экспрессию генов регуляторных белков CaM и Eras1. Можно полагать, что такое действие препарата будет способствовать нормализации в КМ гомеостаза ионов Ca^{2+} и тем самым способствовать как улучшению инотропной функции сердца, так и уменьшению интенсивности его ремоделирования, поскольку известно, что повышенная экспрессия генов белков CaM и Eras1 приводит к активации сопряженных с ними внутриклеточных сигнальных каскадов, ответственных за развитие патологического ремоделирования миокарда [71,149,175,180,253].

В основе способности фабомотизола повышать электрическую стабильность КМ, т.е. проявлять антиаритмическую активность, согласно результатам молекулярных исследований, лежит способность препарата подавлять повышенную экспрессию генов RyR2 и IP₃R2 рецепторов и регуляторных белков CaM и Eras2, повышенная активация которых инициирует

утечку ионов Ca^{2+} из депо СПР и тем самым повышает аритмогенный потенциал КМ [92,131,132,198,225]. Этот эффект препарата, скорее всего, связан с его агонистическим влиянием на σ_1 -R КМ, поскольку известно, что σ_1 -R регулируют выброс ионов Ca^{2+} из депо СПР, как минимум, посредством модуляции активности IP_3R и RyR рецепторов.

Определенный вклад в кардиопротективное действие фабомотизола в условиях АКМП может внести и его способность активировать в миокарде репаративные процессы, которые, согласно результатам генотоксикологических исследований, связаны со способностью препарата восстанавливать в КМ содержание «клеток-призраков».

Таким образом, можно говорить о том, что результаты настоящих и ранее выполненных исследований свидетельствуют о том, что σ_1 -R можно рассматривать как оригинальную биомишень для создания инновационных кардиотропных лекарственных средств. Такую точку зрения поддерживают данные систематического обзора литературы, опубликованного в 2020 году в журнале *International Journal of Cardiology Heart&Vasc* исследования из департамента физиологии Кембриджского университета под названием «Является ли σ_1 -R потенциальной фармакологической мишенью для лечения сердечной патологии?» Авторы этого обзора делают обоснованное заключение о том, что «sigma-1R играют важную роль в кардиопротекции и должны быть изучены в качестве потенциальной лекарственной мишени для лечения сердечных патологий» [156].

Все вышесказанное позволяет заключить, что в настоящем исследовании полностью реализованы стоящие перед ним задачи.

ВЫВОДЫ

1. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 15 дней) значительно уменьшает зону некроза, стимулирует ангиогенез в перинфарктной зоне, сохраняет микроскопическую картину кардиомиоцитов и снижает интенсивность постинфарктного ремоделирования левого желудочка сердца на моделях острого и подострого инфаркта миокарда у крыс.

2. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней) восстанавливает микроскопическую картину кардиомиоцитов, вызывает обратное ремоделирование левого желудочка сердца и уменьшает тяжесть течения хронической сердечной недостаточности.

3. Фабомотизол (15 мг/кг, в/б, ежедневно, 28 дней) в условиях трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии у крыс, как и триметазидин, способствует обратному ремоделированию миокарда, уменьшению полиморфизма кардиомиоцитов и признаков жировой дистрофии миокарда, однако, в отличие от триметазида, повышает электрическую стабильность миокарда.

4. Кардиопротективное действие фабомотизола в условиях хронической сердечной недостаточности реализуется на фоне подавления экспрессии генов ангиотензиновых рецепторов I типа (AT1-R), вазопрессиновых рецепторов I типа (V1A-R) и регуляторных белков Erac2, а также увеличения экспрессии генов сигма-1-рецепторов (σ_1 -R).

5. Фабомотизол в условиях модели алкогольной кардиомиопатии у крыс подавляет экспрессию генов рианодиновых рецепторов II типа (RyR2), инозитол-трифосфатных рецепторов типа II (IP₃R2), регуляторных белков кальмодулина (CaM), Erac1 и Erac2.

6. Фабомотизол уменьшает в кардиомиоцитах показатель «малые» ДНК-кометы на модели инфаркта миокарда и нормализует поврежденность ДНК по показателю «клетки-призраки» на модели алкогольной кардиомиопатии.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

Результаты, полученные на моделях коронарогенной и некоронарогенной патологии миокарда, свидетельствуют, что фабомотизол уменьшает степень патологического ремоделирования сердца, способствует сохранению структуры кардиомиоцитов, снижает в них выраженность ДНК-повреждений. В условиях хронической сердечной недостаточности фабомотизол подавляет экспрессию генов ангиотензиновых рецепторов I типа, вазопрессиновых рецепторов I типа, регуляторных белков Ерас2, а также увеличивает экспрессию генов сигма-1-рецепторов. В условиях алкогольной кардиомиопатии фабомотизол восстанавливает электрическую стабильность кардиомиоцитов, подавляет экспрессию генов рианодинных рецепторов II типа, инозитол-трифосфатных рецепторов II типа, регуляторных белков кальмодулина, Ерас1, Ерас2.

Полученные результаты выявляют ранее неизвестные свойства фабомотизола и дают основания для постановки вопроса о расширении показаний его применения в клинической практике.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АД – артериальное давление
- АКМП – алкогольная кардиомиопатия
- АМФ - аденозинмонофосфат
- БСК – болезни системы кровообращения
- ВС – внезапная сердечная смерть
- ГАМК – гамма-аминомасляная кислота
- ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота
- ИБС – ишемическая болезнь сердца
- ИМ – инфаркт миокарда
- кДа - килодальтон
- КМ – кардиомиоциты
- ЛЖ – левый желудочек сердца
- ЛО – ложнооперированные животные
- МАО-А – моноаминоксидаза А
- МАМ - митохондрией-связывающий участок саркоплазматического ретикулума
- мкмоль - микромоль
- ММП-1 – матриксная металлопротеиназа 1
- мРНК – матричная РНК
- ОКС – острый коронарный синдром
- РААС – ренин-ангиотензин-альдостероновая система
- ПЖ – правый желудочек сердца
- САС – симпато-адреналовая система
- СПР – саркоплазматический ретикулум
- ФП - фибрилляция предсердий
- ХСН – хроническая сердечная недостаточность
- ЦНС – центральная нервная система
- ЧСС – частота сердечных сокращений

Akt - протеинкиназа B

ATF-2 - активирующий транскрипционный фактор-2

ANOVA - дисперсионный анализ ANalysis Of VAriance

Ang II - ангиотензин II

APD90 - длительность потенциала действия на уровне 90% фазы реполяризации PD

AT1A-R - рецептор ангиотензина II подтипа AT1

ATF4, ATF6 - транскрипционные факторы 4, 6

AVP – вазопрессин, аргинин-вазопрессин

Bax - проапоптотический белок Bax

β -AR - β -адренорецептор

BDNF - нейротрофический фактор мозга (brain-derived neurotrophic factor)

Bcl-xL - антиапоптотический белок Bcl-xL

BiP - СПР-резидентный шаперон BiP

cAMP – циклический аденозинмонофосфат

CaM – кальмодулин

CaMKII - кальмодулин-зависимая протеинкиназа II

CaMKIV - кальмодулин-зависимая протеинкиназа IV

COS-7 - линия фибробластоподобных клеток, полученная из ткани почек африканских зеленых мартышек

CRISPR - clustered regularly interspaced short palindromic repeats, короткие палиндромные повторы, регулярно расположенные группами; особые локусы бактерий, состоящие из прямых повторяющихся последовательностей.

CTGF - фактор роста соединительной ткани

Cx40 – коннексин 40

DHEA – дигидроэпиандростерон

DTG - дитолилгуанидин

eNOS - эндотелиальная синтаза оксида азота

EGFR - рецептор эпидермального фактора роста

ERK1/2 – регулируемая внеклеточными сигналами MAP-киназа ERK (англ. *extracellular signal-regulated kinase*), представленная двумя близкими по структуре белками, ERK1 и ERK2

Ерас - exchange proteins directly activated by cAMP, регуляторные белки, напрямую активируемые

GRK2 - G-протеин-соединенная рецепторная киназа 2

НАДН⁺ - кофермент никотинамидадениндинуклеотид

НЕК-293 – линия клеток эмбриональной почки человека 293

hERG или K_v11,1 – трансмембранные потенциалзависимые ионные калиевые каналы (human ether a-gogo related gene)

I_{Ca} - медленный трансмембранный входящий кальциевый ток

I_{kf} - быстрый трансмембранный выходящий калиевый ток

I_{ks} - медленный трансмембранный выходящий калиевый ток.

I_{Na} - быстрый трансмембранный входящий натриевый ток

IL-6 - провоспалительный цитокин IL-6

iNOS – индуцибельная синтаза оксида азота

IP₃ - инозитол-трифосфат

IP3R2 - инозитол-трифосфатный рецептор 2-типа

IRE1 α - инозитол-требующий фермент 1 альфа

MAP3K7 - цитозольная серин/треониновая протеинкиназа

p38 MAPK - p38 митоген-активируемая протеинкиназа

MEF2 - миоцитарный транскрипционный энхансер фактор-2

ms - миллисекунда

NE – ядерная мембрана

NFAT - ядерный фактор активированных T-клеток

NF- κ B – ядерный транскрипционный фактор Каппа-би

PD – потенциал действия

PERK-киназа (синоним РНК-киназы протеинкиназы или PKR-подобная ER-киназа

PI3K - фермент фосфоинозитид-3-киназа

p-FOX ингибитор - partial fatty acid oxidation inhibitor, ингибитор β -окисления жирных кислот

PGRMC1 - рецептор прогестерона 1

PKA – протеинкиназа A

PKC-delta – протеинкиназа C дельта

PLB или PLN = белок фосфоламбан, ключевой регулятор расслабления КМ

ROS - активные формы кислорода

RyR2 – рианодинновый рецептор 2-типа

SERCA2 - SRsarco/endoplasmic reticulum Ca^{2+} -АТРаза, Ca^{2+} -зависимая

АТРаза

siRNA - малые (короткие) интерферирующие РНК

TAK1 - цитозольная серин/треониновая протеинкиназа

TGF- β 1 - трансформирующий фактор роста β 1

TnC - регуляторный глобулярный белок тропонин C

TMEM97 - трансмембранный белок 97

σ_1 -R - σ_1 -рецептор

V1A-R – рецептор к вазопрессину 1 типа

VDAC - расположенный на наружной мембране митохондрий потенциалзависимый анионный канал (voltage-dependet anion channel)

XBP1s - мРНК-связывающий белок x-box 1

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Байкова, В.С. Влияние "Афобазола" на содержание нейромедиаторных аминокислот в стриатуме крыс при глобальной преходящей ишемии [Текст] / В.С. Байкова, И.А. Кадников, М.В. Воронин, Т.С. Ганьшина, А.В. Гнездилова, А.А. Горбунов, Р.С. Мирзоян, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2011. - Т. 151, № 5. - С. 526-529.
2. Баласанян, М.Г. Нейропротекторная способность афобазола в защите ишемизированного мозга [Текст] / М.Г. Баласанян, А.С. Канаян, А.В. Топчян, В.П. Акопян // Экспериментальная и клиническая фармакология. -2021. - Т. 84, № 2. - С. 23-27.
3. Бисерова, И.Н. Использование афобазола при лечении пароксизмальной формы фибрилляции предсердий [Текст] / И.Н. Бисерова, Б.А. Татарский // Русский медицинский журнал. - 2007. - Т. 15, № 9. - С. 760.
4. Вититнова, М.Б. Изучение механизмов кардиопротективного действия агониста $\sigma 1$ -рецепторов анксиолитика афобазола [Текст] / М.Б. Вититнова, Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, И.А. Мирошкина, С.А. Крыжановский, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». Материалы съезда. – 2018. №81. – Приложение. С. 43.
5. Гордеева, М.В. Внезапная сердечная смерть молодых людей [Текст] / М.В. Гордеева, Л.Б. Митрофанова, А.В. Пахомов, О.Е. Велеславова, М.В. Берман, Г.П. Лаврентюк, П.Г. Платонов, Ю.В.Шубик // Вестник аритмологии. – 2012. - №68. – С. 34- 44.
6. Драпкина, О.М., Проблема алкогольной кардиомиопатии [Текст] / О.М. Драпкина // Эффективная фармакотерапия в кардиологии и ангиологии. - 2008. - № 1. - 30-34.

7. Дурнев, А.Д., Антимутагенные и антигератогенные свойства афобазола [Текст] / А.Д. Дурнев, А.К. Жанатаев, О.В. Шредер, С.Б. Середенин // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. - Т. 72, № 1. – С. 46-51.

8. Жанатаев, А.К. Феномен атипичных ДНК-комет [Текст] / А.К. Жанатаев, Е.А. Анисина, З.В. Чайка, И.А. Мирошкина, А.Д. Дурнев // Цитология. – 2017. – Т.59, №3. – С.163-168.

9. Жанатаев, А.К., Поврежденность ДНК в клетках миокарда крыс с экспериментальной алкогольной кардиомиопатией: модифицирующие эффекты фабомотизола и триметазида [Текст] / А.К. Жанатаев, И.А. Мирошкина, И.Б. Цорин, З.В. Чайка, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2018. - №2. С. 28-34.

10. Зенина, Т.А., Изучение нейропротекторных свойств афобазола в опытах *in vitro* [Текст] / Т.А. Зенина, И.В. Гавриш, Д.С. Мелкумян, Т.С. Середенина, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2005. - Т. 140. - № 8. - С. 161-163. Фармакотерапия в Кардиологии. – 2018. – Т.14, № 2. - С.156-166.

11. Концевая, А.В., Экономический ущерб от сердечно-сосудистых заболеваний в Российской Федерации в 2016 году [Текст] / А.В. Концевая, О.М. Драпкина, Ю.А. Баланова, А.Э. Имаева, Е.И. Суворова, М.Б. Худяков // Рациональная

12. Крыжановский, С.А. Изучение антиишемического действия «Афобазола» в условиях экспериментального инфаркта миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, А.В. Сорокина, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.А. Мирошкина, И.Б. Цорин, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2010. - Т. 150, № 9. С. 284-287.

13. Крыжановский, С.А. К механизму противofiбрилляторного действия афобазола [Текст]. // С.А. Крыжановский, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2010. – т. 149, № 3. – С. 290-293.

14. Крыжановский, С.А. Плейотропные (кардиотропные) эффекты анксиолитика афобазола (обзор экспериментальных исследований) [Текст] / С.А. Крыжановский, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, С.Б. Середенин // Терапевт. - 2012. - № 1. - С. 032-040.

15. Крыжановский, С.А., Трансляционная модель алкогольной кардиомиопатии [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Л.Г. Колик, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, А.В. Сорокина, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин // Молекулярная медицина. - 2015. - №3. - С. 40-47.

16. Крыжановский, С.А. О возможности использования афобазола для лечения алкогольной кардиомиопатии и профилактики сопутствующих ей осложнений [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Л.Г. Колик, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, А.В. Сорокина, И.А. Мирошкина, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин // Молекулярная медицина. - 2015. - №4. - С. 35-42.

17. Крыжановский, С.А. Доказательство валидности эхокардиографии в модельных экспериментах на мелких животных [Текст] / С.А. Крыжановский, Л.Г. Колик, И.Б. Цорин, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, А.В. Сорокина, М.Б. Вититнова, И.А. Мирошкина // Бюл. эксп. биол. и медицины. – 2016. – Т. 161, № 3. – С. 416-420.

18. Крыжановский, С.А. Влияние афобазола на уровень индуцибельной NO-синтазы в ишемизированном миокарде [Текст] / С.А. Крыжановский, Т.А. Антипова, И.Б. Цорин, С.В. Круглов, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова // Молекулярная медицина. - 2016. - Т. 14 № 3. - С. 26-31.

19. Крыжановский, С.А. Отдаленные результаты экспериментальной терапии афобазолом у крыс, перенесших острый инфаркт миокарда [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, Е.О. Ионова, М.Б. Вититнова // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2017. - Т. 163, № 2. - С. 140-143.

20. Крыжановский, С.А. К механизму кардиопротективного действия агониста $\sigma 1$ -рецепторов анксиолитика фабомотизола гидрохлорида (афобазола)

[Текст] / С.А. Крыжановский, Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, И.Ф. Суханова, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.А. Мирошкина, С.Б. Середенин // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2018. – Т.165, №5. -С.605-609.

21. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности у крыс [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, В.В. Барчуков, И.А. Мирошкина, А.В. Сорокина, Л.М. Кожевникова, А.Д. Дурнев // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. - 2018. - Т.62, № 2. - С. 136–148.

22. Крыжановский, С.А. Оценка экспрессии рецепторных и регуляторных белков в миокарде крыс в условиях трансляционной модели хронической сердечной недостаточности [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.А. Мирошкина, Л.М. Кожевникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2018. - Т.62, №4. – С. 28-35.

23. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель сердечной недостаточности [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, В.В. Барчуков, И.А. Мирошкина, А.Д. Дурнев // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». Материалы съезда. – 2018. №81. – Приложение. - С. 128.

24. Крыжановский, С.А. Изучение кардиопротективных эффектов фабомотизола гидрохлорида на трансляционной модели хронической сердечной недостаточности [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, В.В. Барчуков, Л.М. Кожевникова, С.Б. Середенин. Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2019. - Т. 168, № 7. - С. 39-44.

25. Крыжановский, С.А. Хроническая сердечная недостаточность: трансляционная модель [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, Е.О. Ионова, В.В. Барчуков, И.А. Мирошкина, А.В. Сорокина,

Л.М. Кожевникова, А.Д. Дурнев // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. – 2019. – Т.167, №5. -С. 655-660.

26. Крыжановский, С.А. Трансляционная модель хронической сердечной недостаточности: способ и критерии оценки формирования [Текст] / С.А. Крыжановский, И.Б. Цорин, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, В.В. Барчуков, И.А. Мирошкина, А.В. Сорокина, Л.М. Кожевникова, А.Д. Дурнев, С.Б. Середенин // Патент на изобретение 2744681 С1, 15.03.2021. - Заявка № 2018126602 от 19.07.2018.

27. Крыжановский, С.А. Роль сигма-1 рецепторов в регуляции деятельности сердца. Часть 1. Структура, локализация и функциональная активность сигма-1 рецепторов в кардиомиоцитах [Текст] / С.А. Крыжановский, И.А. Мирошкина // Физиология человека. - 2021. - Т. 47. № 2. - С. 101-115.

28. Крыжановский, С.А. Роль сигма-1 рецепторов в регуляции деятельности сердца. Часть 2. Роль сигма-1 рецепторов в кардиопротекции [Текст] / С.А. Крыжановский, И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова // Физиология человека. - 2021. - Т. 47, № 4. - С. 124-134.

29. Мирзоян, Р.С. Цереброваскулярные эффекты афобазола при сочетанной сосудистой патологии мозга и сердца [Текст] / Р.С. Мирзоян, Н.А. Хайлов, Т.С. Ганьшина // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2010. - Т. 73, № 5. - С. 2-7.

30. Мирошкина, И.А. Морфологическая оценка кардиопротективного действия афобазола на модели острой и хронической ишемии миокарда у крыс [Текст] / И.А. Мирошкина // Материалы IV съезда фармакологов России «Инновации в современной фармакологии». –2012. –С.132.

31. Мирошкина, И.А. Морфометрическая оценка кардиопротективного действия афобазола на модели хронической ишемии миокарда у крыс [Текст] / И.А. Мирошкина // Материалы Первой Всероссийской Научно-практической конференции молодых учёных «Проблемы разработки новых лекарственных средств». –2013. –С.69.

32. Мирошкина, И.А. Морфологическая оценка кардиопротекторных эффектов афобазола на трансляционной модели алкогольной кардиомиопатии у крыс [Текст] / И.А. Мирошкина // Достижения современной фармакологической науки. Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых с Международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова. – 2015. – С. 204-208.

33. Мирошкина, И.А. Изучение влияния афобазола на ремоделирование левого желудочка сердца на модели острого инфаркта миокарда [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова // Достижения современной фармакологической науки. Сборник материалов Всероссийской конференции молодых ученых с Международным участием, посвященной 150-летию со дня рождения академика Н.П. Кравкова. – 2015. – С. 208-213.

34. Мирошкина, И.А. Морфо-гистологические критерии повреждения миокарда в условиях длительной алкоголизации крыс [Текст] / И.А. Мирошкина // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. II Всероссийская научная конференция «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты». Материалы конференции. – 2017. – Т.80, №6. – Приложение. С. 20.

35. Мирошкина, И.А. Изучение особенностей кардиопротекторного действия триметазида и афобазола у крыс с алкогольной кардиомиопатией [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, А.В. Сорокина, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. V съезд фармакологов России «Научные основы поиска и создания новых лекарств». Материалы съезда. – 2018. - №81. – Приложение. С. 159.

36. Мирошкина, И.А. Кардиопротективное действие триметазида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в период абстиненции [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, А.В. Надорова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, А.В. Сорокина, Л.Г. Колик, А.Д. Дурнев, И.Б. Цорин, С.А. Крыжановский // Молекулярная медицина. – 2018. – Т.16, №1. - С. 44-50.

37. Мирошкина, И.А. Сравнительное изучение кардиопротекторного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях абстиненции [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, А.В. Сорокина, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, Л.Г. Колик, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев // Молекулярная медицина. – 2018. - Т.16, №3. -С. 58-64.

38. Мирошкина, И.А. Сравнительное изучение особенностей кардиопротекторного действия триметазидина и афобазола у крыс с алкогольной кардиомиопатией [Текст] / И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, А.В. Сорокина, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев //Материалы Всероссийской конференции молодых ученых, посвященной 95-летию со дня рождения профессора А.А. Никулина «Достижения современной фармакологической науки». - Под ред. Е.Н. Якушевой. – 2018. – 118 с. -С.76.

39. Мирошкина, И.А. К механизму антиаритмического действия фабомотизола дигидрохлорида при алкогольной кардиомиопатии [Текст] / И.А. Мирошкина, Л.М. Кожевникова, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021. -№1. – С.37–44.

40. Мирошкина, И.А. Изучение влияния фабомотизола дигидрохлорида на морфологическую картину левого желудочка сердца у крыс с подострым инфарктом миокарда [Текст] / И.А. Мирошкина, А.В. Сорокина, И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, С.А. Крыжановский, А.Д. Дурнев // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2021 - №4. – С. 29–35.

41. Мирошкина, И.А. К механизму кардиопротективного действия фабомотизола гидрохлорида [Текст] / И.А. Мирошкина // II научная конференция молодых ученых с международным участием «Актуальные исследования в фармакологии». Материалы конференции. - 2021. - С. 25.

42. Мирошкина, И.А. Сигма-1 рецепторы как биомишень для создания оригинальных кардиотропных лекарственных средств [Текст] / И.А. Мирошкина // II научная конференция молодых ученых с международным участием

«Актуальные исследования в фармакологии». Материалы конференции. - 2021 г. - С. 140.

43. Пермяков, А.В., Пирогов А.С., Якимов И.А. Алкогольная кардиомиопатия по данным ГУЗ "БСМЭ" МЗ УР (г. Ижевска) за 3 года (2000-2002 гг.) [Текст] / А.В. Пермяков, А.С. Пирогов, И.А. Якимов // Проблемы экспертизы в медицине. – 2003. – Т. 3, № 2(10). – С. 11-13.

44. Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Ч.1. Методические рекомендации по оценке ДНК-повреждений методом щелочного гель-электрофореза отдельных клеток в фармакологических исследованиях. - 2012. - Москва: Гриф и К. - С. 115-128.

45. Сапожников, А.Г. Гистологическая и микроскопическая техника: Руководство [Текст] / А.Г. Сапожников, А.Е. Доросевич // 2000. - Смоленск: САУ.

46. Середенин, С.Б. Фармакогенетическая концепция антисеелективного эффекта [Текст] / С.Б. Середенин, Т.А. Воронина, Г.Г. Незнамов, Ю.А. Бледнов, Б.А. Бадыштов, И.В. Виглинская, М.М. Козловская, Н.В. Колотилинская, М.А. Яркова, В.Л. Савельев, Т.Л. Гарибова, Е.А. Вальдман // Вестник Российской академии медицинских наук. - 1998. - Т. 4, № 11. - С. 3-9.

47. Середенин, С.Б. Влияние анксиолитиков афобазола и атаракса на ионные токи нейронов прудовика [Текст] / С.Б. Середенин, Ю.Д. Игнатов, А.И. Вислобоков, К.Н. Мельников // Психофармакология и биологическая наркология. - 2005. - Т. 5, № 4. - С. 1061-1070.

48. Середенин, С.Б., Нейрорецепторные механизмы действия афобазола [Текст] / С.Б. Середенин, М.В. Воронин // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2009. - Т. 72, № 1. - С. 3-11.

49. Середенин, С.Б. Афобазол снижает двигательные расстройства, вызванные галоперидолом [Текст] / С.Б. Середенин, Т.Л. Гарибова, А.Л. Кузнецова, М.В. Воронин, М.А. Яркова, Т.А. Воронина // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2009. – Т.72, №1. – С.15-18.

50. Середенин, С.Б. К механизму противоишемического действия препарата «Афобазол» [Текст] / С.Б. Середенин, И.Б. Цорин, М.Б. Вититнова, В.Н. Столярук, Г.Г. Чичканов, С.А. Крыжановский // Бюллетень экспериментальной биологии и медицины. - 2013. - Т. 155, № 6. - С. 723-727.

51. Середенин, С.Б., Сигма-1 рецепторы – новая мишень фармакологической регуляции [Текст] / С.Б. Середенин, М.В. Воронин, Е.В. Абрамова // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2017. - Т.80, № 9. - С. 9-19.

52. Силкина, И.В. Усиление кровоснабжения ишемизированного мозга под влиянием афобазола [Текст] / И.В. Силкина, В.В. Александрин, Т.С. Ганьшина, С.Б. Середенин, Р.С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2004. - Т. 67, № 5. - С. 9-12.

53. Силкина, И.В. Влияние афобазола на содержание продуктов свободнорадикального окисления и активность каталазы в условиях ишемии головного мозга [Текст] / И.В. Силкина, Т.А. Зенина, С.Б. Середенин, Р.С. Мирзоян // Экспериментальная и клиническая фармакология. - 2006. - Т. 69, № 4. - С. 47-50.

54. Смертность от болезней системы кровообращения за 2018 год. Ассоциация содействия развитию здравоохранения «Медицинская палата Ульяновской области» // [Электронный ресурс]. URL: www.https/medpalata73.ru (дата обращения 24.10.2021)

55. Столярук, В.Н., Изучение эффектов афобазола на модели реперфузионных аритмий [Текст] / В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, С.А. Крыжановский // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2010. - № 4. - С. 41-45.

56. Столярук, В.Н. Изучение противofiбрилляторной активности афобазола у животных с интактным и денервированным миокардом [Текст] / В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, С.А. Крыжановский // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2010. - № 4. - С. 45-48.

57. Столярук, В.Н. Оценка эффективности афобазола на модели ваготонической фибрилляции предсердий [Текст] / В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, И.Б. Цорин, С.А. Крыжановский // Вестник Российской академии медицинских наук. - 2010. - № 4. - С. 49-52.

58. ТАСС. Почти половина смертей в России в 2019 году связаны с болезнями системы кровообращения / ТАСС [Электронный ресурс] // URL: <https://tass.ru/obschestvo/6627091> (дата обращения 24.10.2021)

59. Цорин, И.Б. Особенности действия селективного анксиолитика афобазола на сердечно-сосудистую систему [Текст] / И.Б. Цорин, И.П. Палка, Г.Г. Чичканов // Экспериментальная и клиническая фармакология. -2009. - Т. 72, № 1. - С. 41-45.

60. Цорин, И.Б. Афобазол как кардиопротектор при алкогольной кардиомиопатии [Текст] / И.Б. Цорин, Л.Г. Колик, Е.О. Ионова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, А.В. Сорокина, И.А. Мирошкина, А.В. Надорова, А.И. Варков, С.А. Крыжановский // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. 6-я Международная конференция «Биологические основы индивидуальной чувствительности к психотропным средствам». Материалы конференции. – 2015. – С. 62.

61. Цорин, И.Б. Сравнительное изучение кардиопротекторного действия триметазидина и фабомотизола гидрохлорида у крыс со сформировавшейся алкогольной кардиомиопатией в условиях продолжающегося потребления этанола [Текст] / И.Б. Цорин, И.А. Мирошкина, Е.О. Ионова, А.В. Надорова, В.Н. Столярук, М.Б. Вититнова, А.В. Сорокина, Л.Г. Колик, А.Д. Дурнев, С.А. Крыжановский // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2016. - №3. - С. 38-41.

62. Цорин, И.Б. Экспериментальная модель хронического алкоголь-обусловленного поражения сердца [Текст] / И.Б. Цорин, В.Н. Столярук, Е.О. Ионова, М.Б. Вититнова, И.А. Мирошкина, Л.Г. Колик // Экспериментальная и клиническая фармакология. Приложение. II Всероссийская научная конференция «Современная лекарственная токсикология: фундаментальные и прикладные аспекты». Материалы конференции. – 2017. - Т.80, №6. – Приложение. С. 32.

63. Шляхто, Е.В. За полгода от ишемической болезни сердца умерло почти в 17 раз больше россиян, чем заболевших ковидом [Электронный ресурс] / Е.В. Шляхто // URL: <https://doctorpiter.ru/articles/26524,22.09.2020> (дата обращения 24.10.2021)
64. Щербакова, Е.М. Демографические итоги I полугодия 2018 года в России. Ч. 2. [Электронный ресурс]. / Е. Щербакова // ДемоскопWeekly. – 2018. - № 781-782. - URL: www.demoskop.ru/weekly/2018/0781/barom03.php.
65. Abate, C. Elements in support of the ‘non-identity’ of the PGRMC1 protein with the sigma2 receptor [Text] / C. Abate, M. Niso, V. Infantino, A. Menga, F. Berardi // European Journal of Pharmacology. - 2015. - № 758. - P. 16-23.
66. Abdullah, C.S. Cardiac Dysfunction in the Sigma 1 Receptor Knockout Mouse Associated With Impaired Mitochondrial Dynamics and Bioenergetics [Text] / C.S. Abdullah, S. Alam, R. Aishwarya // Journal of the American Heart Association. - 2018. - Vol. 7, № 20. - P. 1-22.
67. Alon, A. Identification of the gene that codes for the sigma2 receptor [Text] / A. Alon, H.R. Schmidt, M.D Wood, J.J. Sahn, S.F. Martin, A.C. Cruse // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2017. - Vol. 114, № 27. - P.7160-7165.
68. Amador, F.J. Ryanodine receptor calcium release channels: lessons from structure-function studies [Text] / F.J. Amador, P.B. Stathopoulos, M. Enomoto, M. Ikura // The FEBS Journal. - 2013. - Vol. 280, № 21. - P. 5456-70.
69. Anciaux, K. Cyclic AMP-mediated induction of the glial fibrillary acidic protein is independent of protein kinase A activation in rat C6 glioma [Text] / K. Anciaux, K. Van Dommelen, S. Nicolai, E. Van Mechelen, H. Slegers // Journal of Neuroscience Research. - 1997. – Vol. 48, № 4. – P. 324-33.
70. Aydar, E. The sigma receptor as a ligand-regulated auxiliary potassium channel subunit [Text] / E. Aydar, C.P. Palmer, V.A.Klyachko, M.B. Jackson // Neuron. - 2002. - Vol. 34, № 3. - P. 399-410.
71. Backs, J. The delta isoform of CaM kinase II is required for pathological cardiac hypertrophy and remodeling after pressure overload [Text] / J. Backs, T. Backs,

S. Neef, M.M. Kreusser, L.H. Lehmann, D.M. Patrick, C.E. Grueter, X. Qi, J.A. Richardson, J.A. Hill, H.A. Katus, R. Bassel-Duby, LS. Maier, E.N. Olson // Proceedings of the National Academy of Sciences. – 2009. - Vol 106, № 7. – P.2342-2347.

72. Balshaw, D.M. Calmodulin Binding and Inhibition of Cardiac Muscle Calcium Release Channel (Ryanodine Receptor) [Text] / D.M. Balshaw, L. Xu, N. Yamaguchi, D.A. Pasek, G. Meissner // Journal of Biological Chemistry. – 2001. - Vol 276, № 23. - P. 20144–20153.

73. Bao, Q. MicroRNA-297 promotes cardiomyocyte hypertrophy via targeting sigma-1 receptor [Text] / Q. Bao, M. Zhao L. Li Chen, Y. Wang, S. Wu, W. Wu, X. Liu // Life Sciences. - 2017. - № 175. - P. 1–10.

74. Bhuiyan, M.S. Ovariectomy augments overload-induced associated with changes in Akt and nitric oxide synthase signaling pathways in female rats [Text] / M.S. Bhuiyan, N. Shioda, K. Fukunaga // American Journal of Physiology. Endocrinology and Metabolism. - 2007. Vol. 293, № 6. - P. 1606-1614.

75. Bhuiyan, M.S. Stimulation sigma-1 receptor signaling dehydroepiandrosterone ameliorates hypertrophy and dysfunctions in ovariectomized rats [Text] / M.S. Bhuiyan, K. Fukunaga // Expert Opinion on Therapeutic Targets. - 2009. - Vol. 13, № 11. - P. 1253-65.

76. Bhuiyan, M.S. Targeting sigma-1 receptor with fluvoxamine ameliorates pressure-overload-induced hypertrophy and dysfunctions [Text] / M.S. Bhuiyan, H.Tagashira, N.Shioda, K. Fukunaga // Expert Opinion on Therapeutic Targets. - 2010. - Vol. 14, № 10. - P. 1009-1022.

77. Bhuiyan, M.S. Targeting sigma-1 receptor signaling by endogenous ligands for cardioprotection [Text] / M.S. Bhuiyan, K. Fukunaga // Expert Opinion on Therapeutic Targets. - 2011. - Vol. 15, № 2. - P. 145-155.

78. Bhuiyan, M.S. Sigma-1 receptor stimulation with fluvoxamine activates Akt-eNOS signaling in the thoracic aorta of ovariectomized rats with abdominal aortic banding [Text] / M.S. Bhuiyan, H. Tagashira, K. Fukunaga // European Journal of Pharmacology. - 2011. - Vol. 650, № 2-3. - P. 621-628.

79. Bhuiyan, M.S. Dehydroepiandrosterone-mediated stimulation of sigma-1 receptor activates Akt-eNOS signaling in the thoracic aorta of ovariectomized rats with abdominal aortic banding [Text] / M.S. Bhuiyan, H.Tagashira, K. Fukunaga // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. - 2011. - № 29. - P. 219-230.
80. Bhuiyan, M.S. Crucial interactions between selective serotonin uptake inhibitors and sigma-1 receptor in heart failure [Text] / M.S. Bhuiyan, H.Tagashira, K. Fukunaga // *Journal of Pharmacological Sciences*. - 2013. - № 121. - P. 177-184.
81. Bootman, M.D. An update on nuclear calcium signaling [Text] / M.D. Bootman, C. Fearnley, I. Smyrniak, F. MacDonald, H.L. Roderick // *Journal of Cell Science*. - 2009. - Vol. 122, № 14. - P. 2337-2350.
82. Bouchard, P. Quirion R. [3H]1,3-di(2-tolyl)guanidine and [3H](+)pentazocine binding sites in the rat brain:autoradiographic visualization of the putative sigma1 and sigma2 receptor subtypes [Text] / P. Bouchard, R. Quirion // *Neuroscience*. - 1997. - Vol. 76, № 2. - P. 467-477.
83. Bowen, W.D. Metabolites of haloperidol display preferential activity at sigma receptors compared to dopamine D-2 receptors [Text] / W.D. Bowen, E.L. Moses, P.J. Tolentino, J.M. Walker // *European Journal of Pharmacology*. -1990. - Vol. 177, № 3. - P. 111-118.
84. Brune, S. The sigma enigma: in vitro/in silico site-directed mutagenesis studies unveil σ_1 receptor ligand binding [Text] // *Biochemistry*. - 2014. - Vol. 53, № 18. - P. 2993–3003.
85. Calore, M. Lorenzon A, De Bortoli M, Poloni G, Rampazzo A. Arrhythmogenic cardiomyopathy: a disease of intercalated discs [Text] / M. Calore, A. Lorenzon, M. De Bortoli, G. Poloni, A. Rampazzo // *Cell and Tissue Research*. – 2015. - Vol 360, № 3. – P.491-500. doi: 10.1007/s00441-014-2015-5
86. Chen, C. β -Adrenergic receptors stimulate interleukin-6 production through Epac-dependent activation of PKC δ /p38 MAPK signalling in neonatal mouse cardiac fibroblasts [Text] / C. Chen, J. Du, W. Feng, Y. Song, Z. Lu, M. Xu, Z. Li, Y. Zhang // *British Journal of Pharmacology*. - 2012. - Vol. 166, № 2. - P. 676

- 87.** Chen, X. The secretion patterns and roles of cardiac and circulating arginine vasopressin during the development of heart failure [Text] / X. Chen, G. Lu, K. Tang, Q. Li, X. Gao // *Neuropeptides*. – 2015. - № 51. - P. 63-73.
- 88.** Cheng, X. Epac and PKA: a tale of two intracellular cAMP receptors [Text] / X. Cheng, Z. Ji, T. Tsalkova, F. Mei // *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*. – 2008. - Vol 40, №7. - P.651-62.
- 89.** Chu, U.B. The sigma-2 receptor and progesterone receptor membrane component 1 are different binding sites derived from independent genes [Text] / U.B. Chu, T.A. Mavlyutov, M.L. Chu, H. Yang, A. Schulman, C. Mesangeau, C. R. McCurdy, L.W. Guo, A. E. Ruoho // *EBioMedicine*. - 2015. - Vol. 2, № 11. - P. 1806-1813.
- 90.** Collins A.R. The comet assay: topical issues [Text] / A.R. Collins, A.A. Oscoz, G. Brunborg, I. Gaivão, L. Giovannelli, M. Kruszewski, C.C. Smith, R. Stetina // *Mutagenesis*. – 2008. - Vol 23, №3. – P.143-151.
- 91.** Colomer, J.M. Pressure overload selectively up-regulates Ca²⁺/calmodulin-dependent protein kinase II *in vivo* [Text] / J.M. Colomer, L. Mao, H.A. Rockman, A.R. Means // *Journal of Molecular Endocrinology*. - 2003. – Vol. 17, № 2. - P. 183.
- 92.** Connell, P. Targeting pathological leak of ryanodine receptors: preclinical progress and the potential impact on treatments for cardiac arrhythmias and heart failure [Text] / P. Connell, T.A. Word, X.H.T. Wehrens // *Expert Opinion on Therapeutic Targets*. – 2020. - Vol 24, № 1. P. 25-36. doi: 10.1080/14728222.2020.1708326.
- 93.** Crottès, D. Sig1R protein regulates hERG channel expression through a post-translational mechanism in leukemic cells [Text] / D.Crottès, S. Martial, R. Rapetti-Mauss, D. F. Pisani, C. Loriol, B. Pellissier, P. Martin, E. Chevet, F. Borgese, O. Soriani // *Journal of Biological Chemistry*. - 2011. - Vol. 286, № 32. - P. 27947-27958.
- 94.** Cuevas, J. Afobazole modulates neuronal response to ischemia and acidosis via activation of sigma-1 receptors [Text] / J. Cuevas, A. Behensky, W. Deng, C. Katnik

// Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 2011. - Vol 339, № 1. – P. 152-160.

95. Danser, A.H. Local renin-angiotensin systems: the unanswered questions [Text] / A.H. Danser // The International Journal of Biochemistry & Cell Biology. – 2003. - Vol 35, № 6. – P.759-768.

96. De Stefani, D. Enjoy the Trip: Calcium in Mitochondria Back and Forth [Text] / D. De Stefani, R. Rizzuto, T. Pozzan // Annual Review of Biochemistry. - 2016. - № 85. - P. 161-192.

97. Dean, R.G. Connective tissue growth factor and cardiac fibrosis after myocardial infarction [Text] / R.G. Dean, L.C. Balding, R. Candido, W.C. Burns, Z. Cao, S.M. Twigg, LM. Burrell // Journal of Histochemistry and Cytochemistry . – 2005. - Vol 53, № 10. - P. 1245-1256.

98. Domínguez-Rodríguez, A. Proarrhythmic effects sustained activation on TRPC3/4 in rat ventricular cardiomyocytes [Text] / A. Domínguez-Rodríguez, .G Ruiz-Hurtado, J. Sabourin, A.M. Gómez, J.L. Alvarez, J.P. Benitah // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. – 2015. - № 87. – P.74-8.

99. Dudek, J. Functions and pathologies of BiP and its interaction partners [Text] / J. Dudek, J. Benedix, S. Cappel, M. Greiner, C. Jalal, L. Müller, R. Zimmermann // Cellular and Molecular Life Sciences. - 2009. - Vol. 66, № 9. - P. 1556-1569.

100. Dybkova, N. Tubulin polymerization disrupts cardiac β -adrenergic regulation of late Ina [Text] / N. Dybkova, S. Wagner, J. Backs, T.J. Hund, P.J. Mohler, T. Sowa, V.O. Nikolaev, L.S. Maier // Cardiovascular Research. – 2014. – Vol. 103, № 1. – P.168-177.

101. Ela, C. Sigma receptor ligands modulate contractility, Ca^{++} influx and beating rate in cultured cardiac myocytes [Text] / C. Ela, J. Barg, Z. Vogel, Y. Hasin, Y. Eilam // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. - 1994. - № 269. - P. 1300-1309.

102. Fialova, K. Apparent desensitization of the effects of sigma receptor ligand haloperidol in isolated rat and guinea pig hearts after chronic treatment [Text] / K.

Fialova, O. Krizanova, J. Jarkovsky, M. Novakova // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. - 2009. - № 87. - P. 1019- 1027.

103. Fill, M. Ryanodine receptor calcium release channels [Text] / M. Fill, J.A. Copello // *Physical Review*. - 2002. - V. 82, № 4. - P. 893-922.

104. Fujimoto, M. Sigma-1 receptor chaperones regulate the secretion of brain-derived neurotrophic factor [Text] / M. Fujimoto, T. Hayashi, R. Urfer, S. Mita, T.P. Su // *Synapse*. - 2012. - V. 66, № 7. - P. 630-639.

105. Gao, Q.J. Sigma-1 Receptor Stimulation with PRE-084 Ameliorates Myocardial Ischemia-Reperfusion Injury in Rats [Text] / Q.J. Gao, B. Yang, J. Chen, S.B. Shi, H.J. Yang, X. Liu // *Chinese Medical Journal*. – 2018. – Vol.131, № 5. – P.539-543.

106. Gemel, J. Connexin40 abnormalities and atrial fibrillation in the human heart [Text] / J. Gemel, A.E. Levy, A.R. Simon, K. B. Bennett , X.Ai, S. Akhter, E. C. Beyer // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. - 2014. - № 76. - P. 159-168.

107. Goldman, S. Raya T.E. Rat infarct model of myocardial infarction and heart failure [Text] / S. Goldman, T.E. Raya // *Journal of Cardiac Failure*. -1995. – Vol.1, № 2. – P. 169-77.

108. Goldsmith, SR. The role of vasopressin in congestive heart failure [Text] / S.R. Goldsmith // *Cleveland Clinic Journal of Medicine*. – 2006. – Vol.73, Suppl. 3. – S19-S23.

109. Gomez, M.J. Functional and autoradiographic characterization of dopamine D2-like receptors in the guinea pig heart [Text] / M.J. Gomez, G. Rousseau, R. Nadeau, R. Berra, G. Flores, J. Suárez // *Canadian Journal of Physiology and Pharmacology*. - 2002. - № 80. - P. 578-587.

110. Gromek, K.A. The oligomeric states of the purified sigma-1 receptor are stabilized by ligands [Text] / K.A. Gromek, F.P. Suchy, H.R. Meddaugh, R. L. Wrobel, L. M. LaPointe, U. B. Chu, J. G. Primm, A. E. Ruoho, A. Senes, B. G. Fox // *Journal of Biological Chemistry*. -2014. - Vol. 289, № 29. - P. 20333–20344.

111. Guo, Y. Comparative analysis reveals distinct and overlapping functions of Mef2c and Mef2d during cardiogenesis in *Xenopus laevis* [Text] / Y. Guo, S.J. Kühl,

A.S. Pfister, W. Cizelsky, S. Denk, L. Beer-Molz, M. Kühl // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, №1. - e87294.

112. Guo, Y. Sigma-1 receptor ligands improves ventricular repolarization-related ion remodeling in rats with major depression disorder [Text] / Y. Guo, C. Zhang, X. Chen, X. Liu, T. Ye, Y. Fo, S. Shi, C. Qu, J. Liang, B. Shen, B. Yang // *Psychopharmacology (Berl)*. – 2021. – Vol. 238, №2. – P. 487-499.

113. Guzzo-Merello, G. Malignant ventricular arrhythmias in alcoholic cardiomyopathy [Text] / G. Guzzo-Merello, F. Dominguez, E. González-López, M. Cobo-Marcos, M. Gomez-Bueno, I. Fernandez-Lozano, I. Millan, J. Segovia, L. Alonso-Pulpon, P. Garcia-Pavia // *International Journal of Cardiology*. – 2015. - № 199. – P. 99-105.

114. Halapas, A. In vivo models for heart failure research [Text] / A. Halapas, A. Papalois, A. Staupoulou, A. Philippou, N. Pissimissis, A. Chatzigeorgiou, E. Kamper, M. Koutsilieris // *In Vivo*. – 2008. – Vol.22, № 6. – P.767-80.

115. Hanner, M. Purification, molecular cloning, and expression of the mammalian sigma1-binding site [Text] / M Hanner, F.F. Moebius, A. Flandorfer, H. G. Knaus, J. Striessnig, E. Kempner, H. Glossmann // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 1996. - № 93. - P. 8072—8077.

116. Hang, P. Brain neurotrophic factor regulates TRPC3/6 channels and protects against myocardial infarction in rodents [Text] / P Hang, J. Zhao, B. Cai, S. Tian, W. Huang, J. Guo, C. Sun, Y. Li, Z. Du // *International Journal of Biological Sciences*. - 2015. - Vol. 11, № 5. - P. 536-45.

117. Hartmann, A. Influence of cytotoxicity and compound precipitation on test results in the alkaline comet assay [Text] / A. Hartmann, E. Kiskinis, A. Fjällman, W. Suter // *Mutation Research*. – 2001. - № 497. – P.199-212.

118. Hartmann, A. Recommendations for conducting the in vivo alkaline comet assay. 4th International Comet Assay Workshop [Text] / A. Hartmann, E. Agurell, C. Beevers, S. Brendler-Schwaab, B. Burlinson, P. Clay, A. Collins, A. Smith, G. Speit, V. Thybaud, R. R. Tice // *Mutagenesis*. – 2003. – Vol.18, № 1. – P.45-51.

119. Harzheim, D. Increased InsP3Rs in the junctional sarcoplasmic reticulum augment Ca²⁺ transients and arrhythmias associated with cardiac hypertrophy [Text] / D. Harzheim, M. Movassagh, R.S.-Y. Foo, O. Ritter, A. Tashfeen, S. J. Conway, M. D. Bootman, H. L. Roderick // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2009. - V. 106, № 27. - P. 11406-11411.

120. Hashimoto, K. Sigma-1 receptor chaperone and brain-derived neurotrophic factor: emerging links between cardiovascular disease and depression [Text] / K. Hashimoto // Progress in Neurobiology. - 2013. - № 100. - P. 15-29.

121. Haverkamp, W. Arrhythmogenic right ventricular cardiomyopathy [Text] / W. Haverkamp, S. Rolf, K.J. Osterziel, R. Dietz, S. Peters // Herz. – 2005. – Vol.30, 6. – P.565-570.

122. Hayashi, T. Regulating ankyrin dynamics: Roles of sigma-1 receptors [Text] / T. Hayashi, T.P. Su // Proceedings of the National Academy of Sciences. - 2001. - № 98. - P. 491-496.

123. Hayashi T. Sigma-1 receptors (sigma(1) binding sites) form raft-like microdomains and target lipid droplets on the endoplasmic reticulum: roles in endoplasmic reticulum lipid compartmentalization and export [Text] / T. Hayashi, T.P. Su // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. - 2003. - Vol. 306, № 2. - P. 718-725.

124. Hayashi, T. The potential role of sigma-1 receptors in lipid transport and lipid raft reconstitution in the brain: implication for drug abuse [Text] / T. Hayashi, T.P. Su // Life Sciences. - 2005. - Vol. 77, № 14. - P. 1612-1624.

125. Hayashi, T. Sigma-1 receptor chaperones at the ER-mitochondrion interface regulate Ca(2+) signaling and cell survival [Text] / T. Hayashi, T.P. Su // Cell. -2007. - Vol. 131, № 3. - P. 596–610.

126. Hayashi, T. Subcellular Localization and Intracellular Dynamics of Sigma-1 Receptors. In Sigma Receptors: Chemistry, Cell Biology and Clinical Implications [Text] / T. Hayashi, T.P. Su, R.R. Matsumoto, W.D. Bowen // Eds; Springer: New York, NY, USA. - 2007. - P. 151-164.

127. Hayashi T., Detergent-resistant microdomains determine the localization of sigma-1 receptors to the endoplasmic reticulum-mitochondria junction [Text] / T. Hayashi, M. Fujimoto // *Molecular Pharmacology*. - 2010. - № 77. - P. 517-528.

128. He, F. A suppresses ischemia/reperfusion-induced myocardial apoptosis in mice via activating PI3K/Akt/eNOS signaling pathway [Text] / F. He, B.L. Xu, C. Chen, H.-J. Jia, J.-X. Wu, X.-C. Wang, J.-L. Sheng, L. Huang, J. Cheng // *Acta Pharmacologica Sinica*. - 2016. - Vol.37, № 6.- P. 763-771.

129. Hellewell, S.B. A sigma-like binding site in rat pheochromocytoma (PC12) cells: decreased affinity for (+)-benzomorphans and lower molecular weight suggest a different sigma receptor form from that of guinea pig brain [Text] / S.B. Hellewell, W.D. Bowen // *Brain Research*. -1990. - Vol. 527, № 2. - P. 244–253.

130. Hellewell S.B. Rat liver and kidney contain high densities of sigma 1 and sigma 2 receptors: characterization by ligand binding and photoaffinity labeling [Text] / S.B. Hellewell, A. Bruce, G. Feinstein, J. Orringer, W. Williams, W. D. Bowen // *European Journal of Pharmacology*. -1994. - Vol. 268, № 1. - P. 9-18.

131. Hohendanner, F. Calcium and IP3 dynamics in cardiac myocytes: experimental and computational perspectives and approaches [Text] / F. Hohendanner, A.D. McCulloch, L.A. Blatter, A.P. Michailova // *Frontiers in Pharmacology*. -2014. - Vol. 5, Article 35. - P. 1-10.

132. Hothi, S.S. Epac activation, altered calcium homeostasis and ventricular arrhythmogenesis in the murine heart [Text] / S.S. Hothi, I.S. Gurung, J.C. Heathcote, Y. Zhang, S. W. Booth, J. N. Skepper, A. A. Grace, C. L.-H. Huang // *Pflügers Archiv: European Journal of Physiology*. -2008. - Vol. 457, № 2. – P.253-270.

133. Huikuri H.V. Psychotropic medications and the risk of sudden cardiac death [Text] / H.V. Huikuri // *Journal of the American Heart Association*. - 2015. - Vol. 4, № 2. - P. 1-2.

134. Hupf, H. Evidence for a vasopressin system in the rat heart [Text] / H. Hupf, D. Grimm, G.A. Riegger, H. Schunkert // *Circulation Research*. -1999. – Vol. 84, № 3. P. 365-70.

135. Iacovoni, A. Alcoholic cardiomyopathy [Text] / A. Iacovoni, R. De Maria,

A. Gavazzi // *Journal of Cardiovascular Medicine*. - 2010. - Vol. 11, № 12. - P. 884-892.

136. Jia, J. Sigma-1 Receptor-Modulated Neuroinflammation in Neurological Diseases [Text] / J. Jia, J. Chend, C. Wang, X. Zhen // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. – 2018. – Vol.12, Article 314. - P.1-7.

137. Johannessen, M.A. Voltage-gated sodium channel modulation by sigma receptors in cardiac myocytes and heterologous systems [Text] / M.A. Johannessen, S. Ramachandran, L. Riemer, A. Ramos-Serrano, A.E. Ruoho, M. B. Jackson // *American Journal of Physiology - Cell Physiology*. - 2009. - Vol. 296, № 5. - P. 1049–1057.

138. Kantor, P.F. The antianginal drug trimetazidine shifts cardiac energy metabolism from fatty acid oxidation to glucose oxidation by inhibiting mitochondrial long-chain 3-ketoacyl coenzyme A tholase [Text] / P.F. Kantor, A. Lucien, R. Kozak, G.D. Lopaschuk // *Circulation Research*. – 2000. - № 86. – P. 580-588

139. Katz, J.L. A role for sigma receptors in stimulant self-administration and addiction [Text] / J.L. Katz, W.C. Hong, T. Hiranita, T.P. Su // *Behavioural Pharmacology*. - 2016. - Vol. 27, № 2-3. - Spec Issue. - P. 100-115.

140. Kawai, T. AT1 receptor signaling pathways in the cardiovascular system [Text] / T. Kawai, S.J. Forrester, S. O'Brien, A. Baggett, V. Rizzo, S. Eguchi // *Pharmacological Research*. -2017. – Vol.125 (Pt A). – P.4-13.

141. Kazachenko, A.A. Experimental modeling of chronic heart failure [Text] / A.A. Kazachenko, S.V. Okovityj, A.N. Kulikov, D. Yu, Ivkin, E.B. Shustov // *Biomeditsina*. – 2013. - № 3. – P. 41-48.

142. Kekuda, R. Cloning and functional expression of the human type 1 sigma receptor (hSigmaR1) [Text] / R. Kekuda, P.D. Prasad, Y.J. Fei, F. H. Leibach, V. Ganapathy // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. -1996. - Vol. 229, № 2. - P. 553-558.

143. Kikuchi-Utsumi, K. Chronic treatment with a selective ligand for the sigma-1 receptor chaperone, SA4503, up-regulates BDNF protein levels in the rat hippocampus [Text] / K. Kikuchi-Utsumi, T. Nakaki // *Neuroscience Letters*. - 2008. - Vol. 440, № 1. - P. 19-22.

144. Kim, F. J. Sigma Proteins: Evolution of the Concept of Sigma Receptors [Text] / F. J. Kim, G. W. Pasternak // Springer International Publishing AG. 2017. P 1-330.
145. Klatsky, A.L. Alcohol and cardiovascular health [Text] / A.L. Klatsky // *Physiology & Behavior*. – 2010. – Vol.100, № 1. – P.76-81
146. Klouz, A. Are sigma receptors implicated in ischemic injury? [Text] / A. Klouz, M.H. Loueslati, R. Daghfous, D. Morin // *Therapie*. - 2001. - Vol. 56, № 5. - P. 557-562.
147. Koduri, H. Contribution of fibrosis and the autonomic nervous system to atrial fibrillation electrograms in heart failure [Text] / H. Koduri, J. Ng, I. Cokic, G. L. Aistrup, D. Gordon, J. A. Wasserstrom, A. H. Kadish, R. Lee, R. Passman, B. P. Knight, J. J. Goldberger, R. Arora // *Circulation Arrhythmia and Electrophysiology*. 2012. - № 5. - P. 640-649.
148. Kourrich, S. The sigma-1 receptor: roles in neuronal plasticity and disease [Text] / S Kourrich, T.P. Su, M. Fujimoto, A. Bonci // *Trends in Neurosciences*. - 2012. - Vol. 35, № 12. - P. 762-771.
149. Kreusser, M.M. Integrated mechanisms of CaMKII-dependent ventricular remodeling [Text] / M.M. Kreusser, J. Backs // *Frontiers in Pharmacology*. -2014. - № 5. – P.36.
150. Kumar, R. The intracellular renin-angiotensin system: implications in cardiovascular remodeling [Text] / R. Kumar, V.P. Singh, K.M. Baker // *Current Opinion in Nephrology and Hypertension*. – 2008. – Vol.17, № 2. – P. 168-173.
151. Kurata, K. Beta-estradiol, dehydroepiandrosterone, and dehydroepiandrosterone sulfate protect against N-methyl-D-aspartate-induced neurotoxicity in rat hippocampal neurons by different mechanisms [Text] / K. Kurata, M. Takebayashi, S. Morinobu, S. Yamawaki // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 2004. - Vol. 311, № 1. - P. 237-245.
152. Landstrom, AP. Calcium Signaling and Cardiac Arrhythmias [Text] / A.P. Landstrom, D. Dobrev, X.H.T. Wehrens // *Circulation Research*/ - 2017. –Vol.120, № 12. - P. 1969–1993.

- 153.** Laurini, E. 3D homology model of Sigma1 receptor [Text] / E. Laurini, D. Marson, M. Fermeglia, S. Princl. // Handbook of Experimental Pharmacology. - 2017. - № 244. - P. 27-50.
- 154.** Le Heuzey, J.Y. Mechanisms of atrial fibrillation: recent advances [Text] / J.Y. Le Heuzey, X. Copie, P. Henry, F. Halimi, T. Lavergne, M.C. Iliou, L. Guize // Archives des Maladies du Coeur et des Vaisseaux. -1994. – Vol.87, Spec. № 3. - P. 41-45.
- 155.** Lezcano, N. Early effects of Epac depend on the fine-tuning of the sarcoplasmic reticulum Ca²⁺ handling in cardiomyocytes [Text] / N. Lezcano, J.I.E. Mariángelo, L. Vittone, X.H.T. Wehrens, M. Said, C. Mundiña-Weilenmann // Journal of Molecular and Cellular Cardiology. -2018. - № 114. –P.1-9.
- 156.** Lewis, R. Is the sigma-1 receptor a potential pharmacological target for cardiac pathologies? A systematic review [Text] / R. Lewis, J. Li, P.J. McCormick, C. L.-H. Huang, K. Jeevaratnam // International Journal of Cardiology. Heart & Vasculature. - 2019. - №26. - P. 100449.
- 157.** Li, H. Clinical effects of carvedilol and trimetazidine for the treatment of alcoholic cardiomyopathy [Text] / H. Li, F. Liu, X. Li, X.-M. Li, L. Zhu // Experimental and Therapeutic Medicine. – 2016. - № 12. – P. 979-982.
- 158.** Li, X. IRE1alpha-XBP1 pathway is activated upon induction of single prolonged stress in rat neurons of the medial prefrontal cortex [Text] / X. Li, F. Han, Y. Shi // Journal of Molecular Neuroscience. -2015. - № 57. - P. 63–72.
- 159.** Li, Y.C. Elevated levels of cholesterol-rich lipid rafts in cancer cells are correlated with apoptosis sensitivity induced by cholesterol-depleting agents [Text] / Y.C. Li, M.J. Park, S.K. Ye, C.-W. Kim, Y.-N. Kim // The American Journal of Pathology. - 2006. - №168. - P. 1107–1118.
- 160.** Lijnen, P.J. Role of intracardiac renin-angiotensin-aldosterone system in extracellular matrix remodeling [Text] / P.J. Lijnen, V.V. Petrov // Methods and Findings in Experimental and Clinical Pharmacology. -2003. – Vol.25, № 7. – P. 541-64.

161. Liu, M.Q. Endoplasmic reticulum stress: a novel mechanism and therapeutic target for cardiovascular diseases [Text] / M.Q. Liu, Z. Chen, L.X. Chen // *Acta Pharmacologica Sinica*. - 2016. - № 37. - P. 425–443.

162. Liu, X. Chronic stimulation of the Sigma-1 receptor ameliorates autonomic nerve dysfunction and atrial fibrillation susceptibility in a rat model of depression [Text] / X. Liu, C. Qu, H. Yang, S. Shi, C. Zhang, Y. Zhang, J. Liang, B. Yang // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. - 2018. – Vol. 315, № 6. – P. H1521-H1531.

163. Lorenzo, Y. The comet assay, DNA damage, DNA repair and cytotoxicity: hedgehogs are not always dead [Text] / Y. Lorenzo, S. Costa, A.R. Collins, A. Azqueta // *Mutagenesis*. – 2013. – Vol. 28, № 4. – P.427-432.

164. Lou, L. Yiqi Huoxue preserves heart function by upregulating the Sigma-1 receptor in rats with myocardial infarction [Text] / L. Lou, C. Li, J. Wang, A. Wu, T. Zhang, Z. Ma , L. Chai, D. Zhang , Y. Zhao, B. Nie, Q. Jin, H. Chen , W. J. Liu // *Experimental and Therapeutic Medicine*.- 2021. – Vol. 22, №5. – P. 1308.

165. Mammucari, C. Molecules and roles of mitochondrial calcium signaling [Text] / C. Mammucari, M. Patron, V. Granatiero, R. Rizzuto // *BioFactors*. – 2011. - Vol. 37, № 3. - P. 219-227.

166. Manni, L. Reduced plasma levels of NGF and BDNF in patients with acute coronary syndromes [Text] / L. Manni, V. Nikolova, D. Vyagova, G.N. Chaldakov, L. Aloe // *International Journal of Cardiology*. -2005. - Vol. 102, № 1. - P. 169-171.

167. Marchi, S. Mitochondrial and endoplasmic reticulum calcium homeostasis and cell death [Text] / S. Marchi, S. Patergnani, S. Missiroli, G. Morciano, A. Rimessi, M.R. Wieckowski, C. Giorgi, P. Pinton // *Cell Calcium*. - 2018. - № 69. - P. 62-72.

168. Martin, W.R. The Effects of morphine- and nalorphine-like drugs in the nondependent and morphine-dependent chronic spinal dog [Text] / W.R., Martin, C.G. Eades, J.A. Thompson, R.E. Huppler, P.E. Gilbert // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 1976. - № 197. - P. 517—532.

169. Marx, S.O. Coupled gating between cardiac calcium release channels (ryanodine receptors) [Text] / S.O. Marx, J. Gaburjakova, M. Gaburjakova, C.

Henrikson, K. Ondrias, A. R. Marks // *Circulation Research*. -2001. - Vol. 88, № 11. - P. 1151–1158.

170. Mattson, MP. Glutamate and neurotrophic factors in neuronal plasticity and disease [Text] / M.P. Mattson // *Annals of the New York Academy of Sciences*. -2008. - № 1144. - P. 97-112.

171. Matsumoto, R.R. Correlation between neuroleptic binding to sigma(1) and sigma(2) receptors and acute dystonic reactions [Text] / R.R. Matsumoto, B. Pouw // *European Journal of Pharmacology*. -2000. - Vol. 401, № 2. - P. 155-160.

172. Mavlyutov, T.A. APEX2-enhanced electron microscopy distinguishes sigma-1 receptor localization in the nucleoplasmic reticulum [Text] / T.A. Mavlyutov, H. Yang, M.L. Epstein, A.E. Ruoho, J. Yang, L.-W. Guo // *Oncotarget*. - 2017. - Vol. 8, № 31. - P. 51317 -51330.

173. Mei, J. Molecular cloning and pharmacological characterization of the rat sigma1 receptor [Text] / J. Mei, G.W. Pasternak // *Biochemical Pharmacology*. -2001. - Vol. 62, № 3. - P. 349-355.

174. Métrich, M. Epac mediates beta-adrenergic receptor-induced cardiomyocyte hypertrophy [Text] / M. Métrich, A. Lucas, M. Gastineau, J.-L. Samuel, C. Heymes, E. Morel, F. Lezoualc'h // *Circulation Research*. - 2008. - Vol. 102, № 8. - P. 959-965.

175. Métrich, M., Laurent A.C., Breckler M. et al. Epac activation induces histone deacetylase nuclear export via a Ras-dependent signalling pathway [Text] / M. Métrich, A.C. Laurent, M. Breckler, N. Duquesnes, I. Hmitou, D. Courillau, J.-P. Blondeau, B. Crozatier, F. Lezoualc'h, E. Morel // *Cellular Signalling*. - 2010. - Vol. 22, № 10. - P. 1459 - 1468.

176. Meunier, J. Sigma-1 receptors regulate Bcl-2 expression by reactive oxygen species-dependent transcriptional regulation of nuclear factor kappa B [Text] / J. Meunier, T. Hayashi // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2010. Vol. 332, № 2. - P. 388-97.

177. Mikoshiba, K. IP3 receptor/Ca²⁺ channel: from discovery to new signaling concepts [Text] / K. Mikoshiba // *Journal of Neurochemistry*. -2007. - Vol. 102. - № 5. - P. 1426-1446.

178. Mizoguchi, Y. Microglial Intracellular Ca²⁺ Signaling in Synaptic Development and its Alterations in Neurodevelopmental Disorders [Text] / Y. Mizoguchi, A. Monji // *Frontiers in Cellular Neuroscience*. -2017. - Vol. 11, Article 69. - P. 1-9.

179. Monassier, L. Sigma(2)-receptor ligand-mediated inhibition of inwardly rectifying K(+) channels in the heart [Text] / L. Monassier, B. Manoury, C. Bellocq, J. Weissenburger, H. Greney, D. Zimmermann, J.-D. Ehrhardt, P. Jaillon, I. Baró, P. Bousquet // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 2007. - Vol. 322, № 1. - P. 341-350.

180. Morel, E. cAMP-binding protein Epac induces cardiomyocyte hypertrophy [Text] / E. Morel, A. Marcantoni, M. Gastineau, R. Birkedal, F. Rochais, A. Garnier, A.M. Lompré, G. Vandecasteele, F. Lezoualc'h // *Circulation Research*. -2005. - Vol. 97, № 12. - P. 1296 – 12304.

181. Mortl, D. Dual rate-dependent cardiac electrophysiologic effects of haloperidol. Slowing of intraventricular conduction and lengthening of repolarization [Text] / D. Mortl, E. Agneter, P. Krivanek, K. Koppatz, H. Todt // *Journal of cardiovascular pharmacology*. - 2003. -№ 41. - P. 870-879.

182. Nakayama, H. The IP₃ receptor regulates cardiac hypertrophy in response to select stimuli [Text] / H. Nakayama, I. Bodi, M. Maillet, J. DeSantiago, T. L. Domeier, K. Mikoshiba, J. N. Lorenz, L. A. Blatter, D.M. Bers, J. D. Molkentin // *Circulation Research*. - 2010. - № 107. - P. 659–666.

183. Narita, N. Interactions of selective serotonin reuptake inhibitors with subtypes of sigma receptors in rat brain [Text] N. Narita, K Hashimoto, S. Tomitaka, Y. Minabe // *European Journal of Pharmacology*. - 1996. - № 307. - P. 117–119.

184. Ncbi.nlm.nih.gov: The National Center for Biotechnology Information [Electronic resource]. Режим доступа: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gene/10280>.

185. Nerbonne, J.M. Molecular Basis of Functional Myocardial Potassium Channel Diversity [Text] / J.M. Nerbonne // *Cardiac Electrophysiology Clinics*. - 2016. - Vol. 8, № 2. - P. 257-273.

186. Novakova, M. Haloperidol increases expression of the inositol 1,4,5-trisphosphate receptors in rat cardiac atria, but not in ventricles [Text] / M Novakova, B. Sedlakova, M. Sirova, K. Fialova, O. Krizanova // *General Physiology and Biophysics*. - 2010. - № 29. - P. 381-389.

187. Okada, S. Brain neurotrophic factor protects against cardiac dysfunction after myocardial infarction via central nervous system-mediated pathway [Text] / S. Okada, M. Yokoyama, H. Toko, K. Tateno, J. Moriya, I. Shimizu, A. Nojima, T. Ito, Y. Yoshida, Y. Kobayashi, H. Katagiri, T. Minamino, I. Komuro // *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* - 2012. - Vol. 32, № 8. - P. 1902-1909.

188. Olive, P.L. Sizing highly fragmented DNA in individual apoptotic cells using the comet assay and a DNA crosslinking agent [Text] / P.L. Olive, J.P. Banáth // *Experimental Cell Research*. – 1995. - Vol.221, № 1. - P.19-26.

189. Ooi, K. Sigma-1 Receptor Activation Suppresses Microglia M1 Polarization via Regulating Endoplasmic Reticulum–Mitochondria Contact and Mitochondrial Functions in Stress-Induced Hypertension Rats [Text] / K.Ooi, L. Hu, Y. Feng, C. Han, X. Ren, X.Qian, H. Huang, S. Chen, Q. Shi, H. Lin, J. Wang, D. Zhu, R. Wang, C. Xia // *Molecular Neurobiology*. – 2021. – Vol. 58, №12. – P. 6625–6646

190. Palmer, C.P. σ Receptor modulation of ion channels. In: *Sigma Receptors: Chemistry, Cell Biology, and Clinical Implications* edited by Matsumoto R., Bowen W.D., and Su T.P. [Text]/ C.P. Palmer, E. Aydar, M.B. Jackson / New York, NY: Kluwer Acad. - 2007. - P. 127–149.

191. Pan, Y.X. Cloning and characterization of a mouse sigma1 receptor [Text] / Y.X. Pan, J. Mei, J. Xu, B.L. Wan, A. Zuckerman, G.W. Pasternak // *Journal of Neurochemistry*. - 1998. - Vol. 70, № 6. - P. 2279-2285.

192. Passariello, C.L. mAKAP-a master scaffold for cardiac remodeling [Text] / C.L. Passariello, J. Li, K. Dodge-Kafka, M.S. Kapiloff // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. - 2015. – Vol.65, № 3. – P. 218-225.

193. Patel, K.P. Angiotensin peptides and nitric oxide in cardiovascular disease [Text] / K.P. Patel, H.D. Schultz // *Antioxidants & Redox Signaling*. – 2013. – Vol. 19, № 10. - P. 1121-32.

194. Patron, M. The mitochondrial calcium uniporter (MCU): molecular identity and physiological roles [Text] / M. Patron, A. Raffaello, V. Granatiero, A. Tosatto, G. Merli, D. De Stefani, L. Wright, G. Pallafacchina, A. Terrin, C. Mammucari, R. Rizzuto // *Journal of Biological Chemistry*. -2013. - Vol. 288, № 15. - P. 10750-10758.

195. Paul, M. Physiology of local renin-angiotensin systems [Text] / M. Paul, A. Poyan Mehr, R. Kreutz // *Physiological reviews*. – 2006. – Vol.86, № 3. – P. 747-803.

196. Penas, C. Sigma receptor agonist 2-(4-morpholinethyl)1 phenylcyclohexanecarboxylate (Pre084) increases GDNF and BiP expression and promotes neuroprotection after root avulsion injury [Text] / C. Penas, A. Pascual-Font, R. Mancuso. , J. Forés, C. Casas, X. Navarro // *Journal of Neurotrauma*. - 2011. - № 28. - P. 831–840.

197. Penke, B. The Role of Sigma-1 Receptor, an Intracellular Chaperone in Neurodegenerative Diseases [Text] / B. Penke, L. Fulop, M. Szucs, E. Frecska // *Current Neuropharmacology*. - 2018. - Vol. 16, № 1. - P. 97-116.

198. Pereira, L. Epac2 mediates cardiac β 1-adrenergic-dependent sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} leak and arrhythmia [Text] / L. Pereira, H. Cheng, D.H. Lao, L. Na, R.J. van Oort, J.H. Brown, X.H. Wehrens, J. Chen, D.M. Bers // *Circulation*. – 2013. – Vol.127, № 8. – P. 913-922.

199. Pereira, L. Novel Epac fluorescent ligand reveals distinct Epac1 vs. Epac2 distribution and function in cardiomyocytes [Text] / L. Pereira, H. Rehmann, D.H. Lao, J. R. Erickson, J. Bossuyt, J. Chen, D. M. Bers // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2015. - V. 112, № 13. - P. 3991.

200. Prasad, P.D. Exon-intron structure, analysis of promoter region, and chromosomal localization of the human type 1 sigma receptor gene [Text] / P.D. Prasad, H. W. Li, Y. J. Fei, M. E. Ganapathy, T. Fujita, L. H. Plumley, T. L. Yang-Feng, F. H. Leibach, V. Ganapathy // *Journal of Neurochemistry*. - 1998. - Vol. 70, № 2. - P. 443–451.

201. Prole, D.L. Structure and Function of IP3 Receptors [Text] / D.L. Prole, C.W. Taylor // *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*. - 2019. - Vol. 11, № 4. - pii: a035063.

202. Qiu, B. CART attenuates stress response induced by cerebral ischemia and reperfusion through upregulating synthesis and secretion [Text] / B. Qiu, , S.Hu., L. Liu, M. Chen, L. Wang, X. Zeng, S. Zhu // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. - 2013. - Vol. 436, № 4. - P. 655-659.

203. Qu, J. Stimulation of Sigma-1 Receptor Protects against Cardiac Fibrosis by Alleviating IRE1 Pathway and Autophagy Impairment [Text] / J. Qu, M. Li, D. Li , Y. Xin, J. Li , S. Lei, W. Wu, X. Liu // *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*. – 2021. – Vol. 2021. - 8836818. – P. 1-25.

204. Quirion, R. A proposal for the classification of sigma binding sites [Text] / R. Quirion, W.D. Bowen, Y. Itzhak, J.L. Junien, J.M. Musacchio, R.B. Rothman, T.P. Su, S.W. Tam, D.P. Taylor // *Trends in Pharmacological Sciences*. - 1992. - Vol. 13, № 3. - P. 85-86.

205. Raudenska, M. Haloperidol cytotoxicity and its relation to oxidative stress [Text] / M. Raudenska, J. Gumulec, P. Babula, T. Stracina, M. Sztalmachova, H. Polanska, V. Adam, R. Kizek, M. Novakova, M. Masarik // *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*. - 2013. - Vol. 13, № 14. - P. 1993-1998.

206. Rehm, J. Epidemiology and alcohol policy in Europe [Text] / J. Rehm, W. Zatonski, B. Taylor, P. Anderson // *Addiction*. – 2011. – Vol.106, Issue s1. – P. 11-19.

207. Renström, E. Protein kinase A-dependent and -independent stimulation of exocytosis by cAMP in mouse pancreatic B-cells [Text] / E. Renström, L. Eliasson, P. Rorsman // *The Journal of Physiology*. – 1997. – Vol.502, Pt 1. – P.105-18.

208. Rosenkranz, S. TGF-beta1 and angiotensin networking in cardiac remodeling [Text] / S. Rosenkranz // *Cardiovascular Research*. – 2004. – Vol.63, № 3. – P.423-32.

209. Ryskamp, D.A. Neuronal Sigma-1 Receptors: Signaling Functions and Protective Roles in Neurodegenerative Diseases [Text] / D.A. Ryskamp, S. Korban, V. Zhemkov, N. Kraskovskaya, I. Bezprozvanny // *Frontiers in Neuroscience*. - 2019. - V. 13, Article 862. - P. 1-20.

210. Saito T., Autophagic vacuoles in cardiomyocytes of dilated cardiomyopathy with initially decompensated heart failure predict improved prognosis

[Text] / T. Saito, K. Asai, S. Sato, M. Hayashi, A. Adachi, Y. Sasaki, H. Takano, K. Mizuno, W. Shimizu // *Autophagy*. – 2016. – Vol. 12, №3. – P. 579-87.

211. Selye, A. I. Simple technic for surgical occlusion of coronary vessels in the rat [Text] / A. I. Selye, E. Bajuz, S. Crasso, P. Nendell // *Angiology*. – 1960. - № 11. – P. 398–407.

212. Seth, P. Cloning and structural analysis of the cDNA and the gene encoding the murine type 1 sigma receptor [Text] / P. Seth, F.H. Leibach, V. Ganapathy // *Biochemical and Biophysical Research Communications*. - 1997. - Vol. 241, № 2. - P. 535-540.

213. Seth, P. Cloning and functional characterization of a sigma receptor from rat brain [Text] / P. Seth, Y.J. Fei, H.W. Li, W. Huang, F.H. Leibach, V. Ganapathy // *Journal of Neurochemistry*. - 1998. - Vol. 70, № 3. - P. 922-931.

214. Schmidt, H.R. Crystal structure of the human sigma receptor [Text] / H.R. Schmidt, S. Zheng, E. Gurpinar, A. Koehl, A. Manglik, A.C. Kruse // *Nature*. - 2016. - Vol. 532, № 7600. - P. 527-530.

215. Schmidt, H.R. The Molecular Function of σ Receptors: Past, Present, and Future [Text] / H.R. Schmidt, A.C. Kruse // *Trends in Pharmacological Sciences*. - 2019. - Vol. 40, № 9. - P. 636-654.

216. Schroder, M. The mammalian unfolded protein response [Text] / M. Schroder, R.J. Kaufman // *Annual Review of Biochemistry*. - 2005. - № 74. - P. 739-789.

217. Sharp, A.H. Differential cellular expression of isoforms of inositol 1,4,5-triphosphate receptors in neurons and glia in brain [Text] / A.H. Sharp, F.C.Jr. Nucifora, O. Blondel, C. A. Sheppard, C. Zhang, S. H. Snyder, J. T. Russell, D. K. Ryugo, C. A. Ross // *The Journal of Comparative Neurology*. -1999. - Vol. 406, № 2. - P. 207-220.

218. Shimizu, I. Physiological and pathological cardiac hypertrophy [Text] / I. Shimizu, T. Minamino // *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*. - 2016. - № 97. - P. 245–262.

219. Shimomura H., Autophagic degeneration as a possible mechanism of myocardial cell death in dilated cardiomyopathy [Text] / H. Shimomura, F. Terasaki, T,

Hayashi, Y. Kitaura, T. Isomura, H. Suma // Japanese Circulation Journal. – 2001. - № 65. – P. 965–968.

220. Shinoda, Y. Haloperidol aggravates transverse aortic constriction-induced heart failure via mitochondrial dysfunction [Text] / Y. Shinoda, H. Tagashira, M.S. Bhuiyan, H. Hasegawa, H. Kanai, K. Fukunaga // Journal of Pharmacological Sciences. - 2016. - № 131. - P. 172-183.

221. Smith, S.B. Sigma Receptors: Their Role in Disease and as Therapeutic Targets [Text] / S.B., Smith, T.P. Su // Springer International Publishing AG. - 2017. - P 1-312.

222. Soriani, O. A-Current down-modulated by sigma receptor in frog pituitary melanotrope cells through a G protein-dependent pathway [Text] / O. Soriani, F.L. Foll, FM. Roman, F.P. Monnet, H. Vaudry, L. Cazin // Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics. – 1999. – Vol.289, №1. – P. 321-328.

223. Soriani, O. The sigma-ligand (+)-pentazocine depresses M current and enhances calcium conductances in frog melanotrophs [Text] / O. Soriani, F. Le Foll, L. Galas, F. Roman, H. Vaudry, L. Cazin // American Journal of Physiology. - 1999. - Vol. 277, № 1. - P. E73-80.

224. Soriani, O. Sigma 1 receptor and ion channel dynamics in cancer // In: Sigma Receptors: Their Role in Disease and as Therapeutic Targets/ S.B. Smith, T.P. Su Eds. [Text] / O. Soriani, R. Rapetti-Mauss // 2017. Springer International Publishing AG. - P. 63-77.

225. Sossalla, S. Diastolic dysfunction and arrhythmias caused by overexpression of CaMKIIdelta(C) can be reversed by inhibition of late Na(+) current [Text] / S. Sossalla, U. Maurer, H. Schotola, N. Hartmann, M. Didie, W.H. Zimmermann, C. Jacobshagen, S. Wagner, L.S. Maier // Basic Research in Cardiology. – 2011. - № 106. - P.263–272.

226. Stracina T., Novakova M. Cardiac Sigma Receptor – An Update [Text] // Physiol. Res. 2018. V. 67. № 4. P. S561 – S576.

227. Stracina, T. Long-Term Haloperidol Treatment Prolongs QT Interval and Increases Expression of Sigma 1 and IP3 Receptors in Guinea Pig Hearts [Text] / T.

Stracina, I. Slaninova, H. Polanska, M. Axmanova, V. Olejnickova, P. Konecny, M. Masarik, O. Krizanova, M. Novakova // *Tohoku Journal of Experimental Medicine*. - 2015. - №236. - P. 199-207.

228. Su, T.P. Evidence for sigma opioid receptor: binding of [3H]SKF-10047 to etorphineinaccessible sites in guinea-pig brain [Text] / T.P. Su // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 1982. - V. 223, № 2. - P. 284–290.

229. Su, T.P., The sigma-1 receptor chaperone as an inter-organelle signaling modulator [Text] / T.P. Su, T. Hayashi, T. Maurice, S. Buch, A. E. Ruoho // *Trends in Pharmacological Sciences*. - 2010. - Vol. 31, № 12. - P. 557-566.

230. Suessbrich, H. The inhibitory effect of the antipsychotic drug haloperidol on HERG potassium channels expressed in *Xenopus* oocytes [Text] / H. Suessbrich, R. Schönherr, S.H. Heinemann, B. Attali, F. Lang, A. E. Busch // *British Journal of Pharmacology*. - 1997. - Vol. 120, № 5. - P. 968-974.

231. Sulaiman, S. Burden of arrhythmia and electrophysiologic procedures in alcoholic cardiomyopathy hospitalizations [Text] / S. Sulaiman, N. Yousef, M.M. Benjamin, S. Sundararajan, R. Wingert, M. Wingert, A. Mohammed, A. Jahangir // *International Journal of Cardiology*. – 2020. – Vol.304. – P. 61-68.

232. Sun, Y. Dexmedetomidine protects mice against myocardium ischaemic/reperfusion injury by activating an AMPK/PI3K/Akt/eNOS pathway [Text] / Y. Sun, C. Jiang, J. Jiang, L. Qiu // *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*. - 2017. - Vol. 44, № 9. - P. 946-953.

233. Tagashira, H. Sigma1-receptor stimulation with fluvoxamine ameliorates aortic constriction-induced myocardial hypertrophy and dysfunction in mice [Text] H. Tagashira, M.S. Bhuiyan, N. Shioda, H. Hasegawa, H. Kanai, K. Fukunaga // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*.- 2010. - Vol. 299, № 5. - P. H1535-H1545.

234. Tagashira, H. Distinct cardioprotective effects of 17 β -estradiol and dehydroepiandrosterone on pressure-overload-induced hypertrophy in ovariectomized female rats [Text] / H. Tagashira, M.S. Bhuiyan, N. Shioda, K. Fukunaga // *Menopause*. - 2011. - № 18. - P. 1317-1326.

235. Tagashira, H. Diverse regulation of IP3 and ryanodine receptors by pentazocine through σ_1 -R eceptor in cardiomyocytes [Text] / H. Tagashira, M.S. Bhuiyan, K. Fukunaga // *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. - 2013. - № 305. - P. 1201–1212.

236. Tagashira, H. Vascular endothelial σ_1 -receptor stimulation with SA4503 rescues aortic relaxation via Akt/eNos signaling in ovariectomized rats with aortic banding [Text] / H. Tagashira, T. Matsumoto., K. Taguchi , C. Zhang, F. Han, K. Ishida, S. Nemoto, T. Kobayashi, K. Fukunaga // *Circulation Journal*. - 2013. - № 77. - P. 2831-2840.

237. Tagashira H. Fluvoxamine rescues mitochondrial Ca²⁺ transport and ATP production through σ_1 -receptor in hypertrophic cardiomyocytes [Text] / H. Tagashira, M.S. Bhuiyan, N. Shioda, K. Fukunaga // *Life Sciences*. - 2014. - № 95. - P. 89-100.

238. Takebayashi, M. Sigma-1 receptors potentiate epidermal growth factor signaling towards neuritogenesis in PC12 cells: potential relation to lipid raft reconstitution [Text] / M. Takebayashi, T. Hayashi, T.P. Su // *Synapse*. - 2004. - V. 53, № 2. - P. 90-103.

239. Tchedre, K.T. Sigma-1 receptor regulation of voltage-gated calcium channels involves a direct interaction [Text] / K.T. Tchedre, R.Q. Huang, A. Dibas, R. R. Krishnamoorthy, G. H. Dillon, T. Yorio// *Investigative Ophthalmology & Visual Science*. - 2008. - V. 49, №11. -P. 4993 - 5002.

240. Tilley, D.G. β -adrenergic receptor-mediated cardiac contractility isinhibited via vasopressin type 1A-receptor-dependentsignaling [Text] / D.G. Tilley, W. Zhu, V.D. Myers, L.A. Barr, E. Gao, X. Li, J. Song, R.L. Carter, C.A. Makarewich, D. Yu, C.D. Troupes, L.A. Grisanti, R.C. Coleman, W.J. Koch, S.R. Houser, J.Y. Cheung, A.M. Feldman // *Circulation*. – 2014. - Vol.130, № 20. – P.1800-1811.

241. Tsai, S.A. Sigma-1 Receptors Fine-Tune the Neuronal Networks [Text] / S.A. Tsai, T.P. Su // *Advances in Experimental Medicine and Biology*. - 2017. - № 964. - P. 79-83.

242. Ulucan, C. Developmental changes in gene expression of Epac and its upregulation in myocardial hypertrophy [Text] C. Ulucan, X. Wang, E. Baljinnyam, Y.

Bai, S. Okumura, M. Sato, S. Minamisawa, S. Hirotani, Y. Ishikawa// *American Journal of Physiology - Heart and Circulatory Physiology*. - 2007. - Vol. 293, № 3. - P. H1662.

243. Vagnerova, K. Sigma 1 receptor agonists act as neuroprotective drugs through inhibition of inducible nitric oxide synthase [Text] / K.Vagnerova, P.D. Hurn, A. Bhardway, J.R. Kirsch // *Anesthesia & Analgesia*. - 2006. - V. 103, № 2. - P. 430-434.

244. Van Waarde A. Potential applications for sigma receptor ligands in cancer diagnosis and therapy [Text] / A. Van Waarde, A.A. Rybczynska, N.K. Ramakrishnan, K. Ishiwata, P.H. Elsinga, R.A. Dierckx // *Biochimica et Biophysica Acta*. - 2015. - № 1848. - P. 2703-2714.

245. Voigt, N. Cellular and molecular mechanisms of atrial arrhythmogenesis in patients with paroxysmal atrial fibrillation [Text] / N. Voigt, J. Heijman, Q. Wang, D.Y. Chiang, N. Li, M. Karck, X.H.T. Wehrens, S. Nattel, D. Dobrev // *Circulation*. – 2014. – Vol. 129, № 2. - P. 145–56.

246. Wakabayashi, H. Visualization of Dynamic Expression of Myocardial Sigma-1 Receptor After Myocardial Ischemia and Reperfusion Using Radioiodine-Labeled 2-[4-(2-iodophenyl)piperidino]cyclopentanol (OI5V) Imaging [Text] / H. Wakabayashi, J. Taki, H. Mori, T. Hiromasa, N. Akatani, A. Inaki, T. Kozaka, K. Shiba, K. Ogawa, S. Kinuya // *Circulation Journal*. – 2021. – V. 85, Issue 11. – P. 2102-2108

247. Wang, S., Role of autophagy and regulatory mechanisms in alcoholic cardiomyopathy [Text] / S. Wang, J. Ren // *Biochimica et Biophysica Acta*. – 2018. - S0925-4439 1864 (6 Pt A). - P. 2003-2009.

248. Wang, Z. HDAC4: mechanism of regulation and biological functions [Text] / Z. Wang, G. Qin, T.C. Zhao // *Epigenomics*. – 2014. - Vol 6, № 1. – P. 139-150.

249. Wasilewski, M.A. Arginine vasopressin receptor signaling and functional outcomes in heart failure [Text] / M.A. Wasilewski, V.D. Myers, F.A. Recchia, A.M. Feldman, D.G. Tilley // *Cellular Signaling*. – 2016. - Vol 28, № 3. - P.224-233.

250. Wehrens, X.H. FKBP12.6 deficiency and defective calcium release channel (ryanodine receptor) function linked to exercise-induced sudden cardiac death [Text] /

X.H. Wehrens, S.E. Lehnart, F. Huang, J. A. Vest, S. R. Reiken, P. J. Mohler, J. Sun, S. Guatimosim, L. S. Song, N. Rosemlit, J. M. D'Armiento, C. Napolitano, M. Memmi, S. G. Priori, W. J. Lederer, A. R. Marks // *Cell*. – 2003. - Vol 113, № 7. – P.829–840.

251. Wenzel, S. Redox-sensitive intermediates mediate angiotensin II-induced p38 MAP kinase activation, AP-1 binding activity, and TGF-h expression in adult ventricular cardiomyocytes [Text] / S. Wenzel, G. Taimor, H.M. Piper, K.D. Schlüter // *The FASEB Journal*. – 2001. - № 15. – P.2291–2303.

252. Wilke, R.A. K⁺ channel modulation in rodent neurohypophysial nerve terminals by sigma receptors and not by dopamine receptors [Text] / R.A. Wilke, P.J. Lupardus, D.K. Grandy, M. Rubinstein, M. J. Low, M. B. Jackson // *The Journal of Physiology*. - 1999. - № 517, Pt 2. - P. 391-406.

253. Wilkins, B.J. Calcineurin/NFAT coupling participates in pathological, but not physiological, cardiac hypertrophy [Text] / B.J. Wilkins, Y.S. Dai, O.F. Bueno, S.A. Parsons, J. Xu, D.M. Plank, F. Jones, T.R. Kimball, J.D. Molkentin // *Circulation Research*. - 2004. - Vol 94, № 1. – P. 110-8.

254. Woischwill, C. Regulation of the human atrial myosin light chain 1 promoter by Ca²⁺-calmodulin-dependent signaling pathways [Text] / C. Woischwill, P. Karczewski, H. Bartsch, H.P. Luther, M. Kott, H. Haase, I. Morano // *The FASEB Journal*. – 2005. - Vol. 19, № 6. – P. 503-11.

255. Wu, Z. Role of sigma-1 receptor C-terminal segment in inositol 1,4,5-trisphosphate receptor activation: constitutive enhancement of calcium signaling in MCF-7 tumor cells [Text] / Z. Wu, W.D. Bowen // *Journal of Biological Chemistry*. - 2008. - Vol. 283, № 42. - P. 28198-28215.

256. Wu, C.S. Antipsychotic drugs and the risk of ventricular arrhythmia and/or sudden cardiac death: a nation-wide case-crossover study [Text] / C.S. Wu, Y.T. Tsai, H.J. Tsai // *Journal of the American Heart Association*. - 2015. - V. 4, № 2. - P. 1-9.

257. Xu, F. GRK2 Mediates Arginine Vasopressin-Induced Interleukin-6 Production via Nuclear Factor- κ B Signaling Neonatal Rat Cardiac Fibroblast [Text] / F.

Xu, S. Sun, X. Wang, E. Ni, L. Zhao, W. Zhu // *Molecular Pharmacology*. – 2017. - Vol .92, № 3. - P. 278-284.

258. Xu, J. Identification of the PGRMC1 protein complex as the putative sigma-2 receptor binding site [Text] / J. Xu, C. Zeng, W. Chu, F. Pan, J. M. Rothfuss, F. Zhang, Z. Tu, D. Zhou, D. Zeng, S. Vangveravong, F. Johnston, D. Spitzer, K. C. Chang, R. S. Hotchkiss, W. G. Hawkins, K. T. Wheeler, R. H. Mach // *Nature Communications*. 2011. - № 2. - P. 380.

259. Yagasaki, Y. Chronic antidepressants potentiate via sigma-1 receptors the brain-derived neurotrophic factor-induced signaling for glutamate release [Text] Y. Yagasaki, T. Numakawa, E. Kumamaru, T. Hayashi, T.P. Su, H. Kunugi // *Journal of Biological Chemistry*. – 2006, № 281. - P. 12941–12949.

260. Yan-ping, H. Mitogenic effect of arginine vasopressin on adult rat cardiac fibroblast: involvement of PKC-erk1/2 pathway [Text] / H. Yan-ping, Z. Lian-you, Z. Qiang-sun, L. Shao-wei, Z. Xiao-yan, L. Xiao-long, N. Xiao-lin, L. Xia // *Journal of Cardiovascular Pharmacology and Therapeutics*. – 2008. – Vol. 52, №1. – P. 72-81.

261. Yang, S. Sigma receptor agonists provide neuroprotection *in vitro* by preserving bcl-2 [Text] / S. Yang, A. Bhardwaj, J. Cheng, N.J. Alkayed, P.D. Hurn, J.R. Kirsch // *Anesthesia & Analgesia*. – 2007. – №104. - P. 1179–1184.

262. Yang, Z. Desmosomal dysfunction due to mutations in desmoplakin causes arrhythmogenic right ventricular dysplasia/cardiomyopathy [Text] / Z. Yang, N.E. Bowles, S.E. Scherer, M.D. Taylor, D.L. Kearney, S. Ge, V.V. Nadvoretzkiy, G. DeFreitas, B. Carabello, L.I. Brandon, L.M. Godsel, K.J. Green, J.E. Saffitz, H. Li, G.A. Danieli, H. Calkins, F. Marcus, J.A. Towbin // *Circulation Research*. – 2006. - Vol.99,№6. – P. 646-55. doi: 10.1161/01.RES.0000241482.19382. c6

263. Ye T. Chronic inhibition of the sigma-1 receptor exacerbates atrial fibrillation susceptibility in rats by promoting atrial remodeling [Text] / T. Ye, X. Liu, C. Qu, C. Zhang, Y. Fo, Y. Guo, X. Chen, S. Shi, B. Yang // *Life Sciences*. – 2019. - № 235. - P. 116837.

264. Yokoyama, U. The cyclic AMP effector Epac integrates pro- and anti-fibrotic signals [Text] / U. Yokoyama, H.H. Patel, N.C. Lai, N. Aroonsakool, D.M.

Roth, P. A. Insel // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. - 2008. - Vol. 105, № 17. - P. 6386.

265. Zhang, H. Sigma receptors inhibit high-voltage-activated calcium channels in rat sympathetic and parasympathetic neurons [Text] / H. Zhang, J. Cuevas // *Journal of Neurophysiology*. - 2002. - Vol. 87, № 6. - P. 2867-2879.

266. Zhang, H. Sigma Receptor activation blocks potassium channels and depresses neuroexcitability in rat intracardiac neurons [Text] / H. Zhang, J. Cuevas // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. - 2005. - Vol. 313, №3. - P. 1387-96.

267. Zhang, H. Sigma receptor activation inhibits voltage-gated sodium channels in rat intracardiac ganglion neurons [Text] / H. Zhang, C. Katnik, J. Cuevas // *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. – 2009. - Vol. 2, № 1. - P. 1-11.

268. Zhang, T. The deltaC isoform of CaMKII is activated in cardiac hypertrophy and induces dilated cardiomyopathy and heart failure [Text] / T. Zhang, L.S. Maier, N.D. Dalton, S. Miyamoto, J. Jr. Ross, D.M. Bers, J.H. Brown // *Circulation Research*. – 2003. - № 92. - P. 912–919.

269. Zheng, M. Distinct beta-adrenergic receptor subtype signaling in the heart and their pathophysiological relevance [Text] / M. Zheng, Q.D. Han, R.P. Xiao // *Acta Physica Sinica*. - 2004. - Vol. 56, № 1. - P. 1.

270. Zhao, G.L. Berberine protects rat heart from ischemia/reperfusion injury via activating JAK2/STAT3 signaling and attenuating endoplasmic reticulum stress [Text] / G.L. Zhao, L.M. Yu, W.L. Gao, W.X. Duan, B. Jiang, X.D. Liu, B. Zhang, Z.H. Liu, M.E. Zhai, Z.X. Jin, S.Q. Yu, Y. Wang // *Acta Physica Sinica*. - 2016. - Vol. 37, № 3. - P. 354–367.

271. Zou, Y. Ryanodine receptor type 2 is required for the development of pressure overload-induced cardiac hypertrophy [Text] / Y. Zou, Y. Liang, H. Gong, N. Zhou, H. Ma, A. Guan, A. Sun, P. Wang, Y. Niu, H. Jiang, H. Takano, H. Toko, A. Yao, H. Takeshima, H. Akazawa, I. Shiojima, Y. Wang, I. Komuro, J. Ge // *Hypertension*. - 2011. - № 58. - P. 1099–1110.