ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ АВТОНОМНОЕ ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ ПЕРВЫЙ МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ И.М. СЕЧЕНОВА МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ (СЕЧЕНОВСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ)

На правах рукописи

Говорушкина Наталия Станиславовна

Эффекты модуляции рецепторов N-метил-D-аспартата в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии

3.3.3. Патологическая физиология

Диссертация
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научные руководители:
доктор медицинских наук, профессор
Болевич Сергей Бранкович
доктор медицинских наук, профессор
Яковлевич Владимир

Москва - 2022

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ 5
ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ 17
1.1. Глутаматные рецепторы и их роль в организме 17
1.1.1. Виды и особенности ионотропных глутаматных рецепторов 17
1.1.2. Структура NMDA-рецепторов 19
1.1.3. Контроль открытия рецепторов 23
1.1.4. Аллостерическая регуляция 25
1.1.5. Агонисты и антагонисты рецептора 26
1.1.6. Роль магния в регулировании функции рецептора NMDA 31
1.1.7. NMDA-рецепторы и центральная нервная система 32
1.1.8. NMDA-рецепторы и сердечно-сосудистая система 36
1.2. Свободные радикалы и окислительно-восстановительное равновесие 38
1.2.1. Свободные радикалы 39
1.2.2. Свободные радикалы и сердечно-сосудистая система 41
1.3. Ишемическо-реперфузионное повреждение 44
1.3.1. Патофизиология ишемически-реперфузионного повреждения 45
1.3.2. Роль АФК в возникновении ишемически-реперфузионного повреждения 47
1.3.3. Накопление ионов Ca^{2+} 47
1.3.4. Открытие митохондриальных переходных пор 48
1.3.5. Факторы риска и клинические проявления ишемическо-реперфузионного повреждения 48
1.4. Феномен прекондиционирования 49
1.4.1. Прекондиционирование миокарда ишемией 51
1.4.2. Механизм ишемического прекондиционирования 53
1.4.3. Фармакологическая подготовка 54
ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 57
2.1. Экспериментальная модель исследования 57

2.1.1. Модели ретроградной перфузии: перфузия с постоянным давлением и перфузия с постоянным потоком 57
2.1.2. Langendorff аппарат LF-01 F-P 58
2.2. Экспериментальный протокол 61
2.3. Биохимический анализ 64
2.3.1. Определение индекса перекисного окисления липидов (ИПОЛ-TBARS) 64
2.3.2. Определение содержания оксида азота 65
2.3.3. Определение содержания супероксидного анион радикала (O_2-) 66
2.3.4. Определение перекиси водорода (H_2O_2) 66
2.4. Статистическая обработка данных 67
ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ 68
3.1. Значения кардиодинамических параметров изолированного сердца крыс после ишемии и во время репефузии без кондиционирования 68
3.2. Влияние применения глутамата при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 72
3.3. Влияние применения глутамата при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 76
3.4. Влияние применения глицина при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 80
3.5. Влияние применения глицина при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 84
3.6. Влияние применения МК-801 при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 88
3.7. Влияние применения МК-801 при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 92
3.8. Влияние применения мемантина при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 97
3.9. Влияние применения мемантина при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс 101

3.10. Значения параметров оксидационного стресса изолированного сердца крыс после ишемии и во время репефузии без кондиционирования 105
3.11. Влияние применения глутамата при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 109
3.12. Влияние применения глутамата при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 112
3.13. Влияние применения (RS)-(tetrazol-5-YL) глицина при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 115
3.14. Влияние применения (RS)-(tetrazol-5-YL) глицина при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс..... 118
3.15. Влияние применения МК-801 при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 121
3.16. Влияние применения МК-801 при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 124
3.17. Влияние применения мемантина при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 127
3.18. Влияние применения мемантина при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс 130
ОБСУЖДЕНИЕ 133
ВЫВОДЫ 144
СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ 146
СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ..... 148

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования

Рецепторы N-метил-D-аспартата (NMDA) относятся к группе йонотропных рецепторов глутамата, которые играют роль в синаптической передаче возбуждения, открывая лиганд-зависимые трансмембранные ионные каналы. Для адекватного функционирования NMDA-рецепторов необходимо, чтобы в их структуре содержались две глутаматных субъединицы N1 (GluN1) и две глутаматных субъединицы N2 (GluN2), или одна субъединица GluN2 и одна глутаматная субъединица N3 (GluN3). Поскольку субъединицы GluN1 и GluN3 связывают глицин, а GluN2 представляет собой глутамат, для активации рецептора NMDA требуется действие обоих коагонистов, глицина и глутамата [177]. Физиологическая роль NMDA-рецептора в первую очередь связана с функцией центральной нервной системы (ЦНС) [6]. NMDA-рецепторы, в дополнение к другим йонотропным глутаматным рецепторам (AMPA-рецептор (рецептор α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионовой кислоты) и каинат), играют ключевую роль в быстрой регуляции синаптической пластичности, включая долгосрочное потенцирование и длительную депрессию, которые являются клеточной основой памяти и процессов обучения [165]. Нарушение активности рецептора NMDA связано с рядом неврологических заболеваний. Ключевым расстройством при болезни Альцгеймера является неадекватная регуляция индуцированной амилоидом бета(Aβ)-активности NMDA-рецептора [14]. С одной стороны, Aβ индуцирует эндоцитоз и интернализацию синаптических NMDA-рецепторов, а с другой - индуцирует гиперактивность экстрасинаптических NMDA-рецепторов, предотвращая переход глутамата из внеклеточного пространства, вызывая тем самым нейротоксичность [6, 193].

Несколько десятилетий назад результаты некоторых исследований показали возможность существования NMDA-рецепторов и вне нервных тканей [44].

Существуют данные об их распространенности в большом количестве тканей и органов, в том числе и в сердце, где они впервые были обнаружены в кардиомиоцитах крысы [183]. Исследование временного и пространственного распределения в тканях радиоактивно меченных антагонистов NMDA-рецепторов ([^{3}H] CGS и [^{3}H] MK-801) выявило их широкое распространение в ряде органов, таких как сердце, легкие, почки и желудок [106]. Исследование отдельных субъединиц рецептора NMDA выявило высокую представленность GluN1 в сердце крысы, тогда как те же авторы не обнаружили GluN2, и их заключение было сведено к возможному существованию гомоолигомерных рецепторов NMDA, состоящих из GluN1 [6, 146]. Изучая распространенность отдельных субъединиц рецепторов NMDA в сердце крысы, зарегистрировано наличие GluN2B, обнаруживаемой в сердечной ткани от ранних стадий развития до десятой недели постнатальной жизни [128]. Однако в этом исследовании GluN1 не была выявлена ни на одной стадии развития. Однако результаты данных исследований противоречивы. Также имеются данные о NMDA-рецепторах в эндотелии кровеносных сосудов в разных частях тела. Введение глутамата и D-серина (которые связываются с глицином) вызывает активацию NMDA-рецепторов, которые активируют эндотелиальную азот-оксид синтазу (eNOS), что приводит к увеличению продукции оксида азота (NO) и вазодилатации в мозговых артериях. Этот каскад опосредуется астроцитами, которые накапливают глутамат и D-серин и выделяют их в зависимости от активности нервной системы [156]. Изучение влияния гомоцистеина и механизмов, посредством которых он оказывает негативное влияние на сердечно-сосудистую систему (ССС), показало наличие GluN1 и GluN2A в сонных артериях крыс, а также экспрессию всех субъединиц рецептора NMDA в эндотелии аорты крысы. В том же исследовании также сообщалось об увеличении экспрессии GluN1 под действием гомоцистеина и увеличении пролиферации клеток, а также об уменьшении пролиферации при предыдущем введении MK-801 [6, 41].

Степень разработанности темы исследования

Появляется все больше доказательств важности NMDA-рецепторов в регуляции электрической активности сердца [117]. Кроме того, все больше исследований посвящено изучению влияния чрезмерной стимуляции этих рецепторов на сердце и ССС, в результате чего хроническая активация этих рецепторов со стороны определенных агонистов вызывает значительные электрофизиологические нарушения и повышает вероятность желудочковых аритмий [150]. Механизм патофизиологических нарушений, вызванных высокими концентрациями гомоцистеина, связан с активацией NMDA-рецепторов [6, 22].

Активация NMDA-рецептора позволяет значительному количеству ионов Ca^{2+} проникать в клетку (в отличие от других йонотропных глутаматных рецепторов, которые являются преимущественно Na^{+}-каналами), что вызывает чрезмерное накопление Ca^{2+} в клетках, дисбаланс в выработке и устранении активных форм кислорода (АФК) и, следовательно, окислительный стресс и нарушение митохондриальной функции. Конечным результатом данного процесса является апоптоз. Исследования кардиомиоцитов показали, что введение блокатора рецепторов NMDA, МК-801 ((+)-5-methyl-10,11-dihydro-5Hdibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine hydrogen maleate), предотвращает ранее описанный каскад и последующий апоптоз [158].

Предыдущие исследования воздействия МК-801 и глутамата на нейроны гиппокампа крыс показали, что совместное применение этих двух веществ вызывает кратковременное открытие каналов под действием глутамата с последующей блокировкой каналов, вызванной МК-801 [170].

Эти факты указывают на важность NMDA-рецепторов в регуляции физиологической активности и патологических процессов в ССС, а также на роль окислительного стресса как одного из посредников данных реакций [6].

Цель

Выявить особенности влияния введения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.

Задачи

1. Выявить особенности кардиодинамических показателей, коронарного потока и параметров оксидативного стресса изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии без кондиционирования.
2. Изучить влияние глутамата во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.
3. Изучить влияние глицина во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.
4. Изучить влияние МК-801 во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.
5. Изучить влияние мемантина во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.
6. Провести сравнительную характеристику влияния агонистов и антагонистов во время прекондиционирования и посткондиционирования на

кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.

Научная новизна исследования

1. Впервые выявлено, что кардиодинамические параметры сердца, которое подвергалось двадцатиминутной ишемии с кондиционированием агонистами NMDA-рецепторов (глутаматом и глицином) и последующей тридцатиминутной реперфузии, снижаются и не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям, то есть не происходит адекватного их восстановления. Одновременно в данной группе увеличиваются значения показателей оксидативного стресса как в первую минуту, так и на тридцатой минуте реперфузии после двадцатиминутной ишемии.
2. Впервые обнаружено, что кардиодинамические параметры сердца, которое подвергалось двадцатиминутной ишемии с кондиционированием антагонистами NMDA-рецепторов (МК-801 и мемантином) и последующей тридцатиминутной реперфузии, повышаются и возвращаются к значениям, близким к начальным значениям, то есть происходит их адекватное восстановление. Одновременно в данной группе снижаются значения показателей оксидативного стресса как в первую минуту, так и на тридцатой минуте реперфузии после двадцатиминутной ишемии.
3. Впервые зарегистрированно, что антагонисты NMDA-рецепторов, в отличие от их агонистов, вызывают повышение всех кардиодинамических показателей и снижение уровня окидативного стресса.

Теоретическая и практическая значимость работы

По сравнению с контрольной группой, которая не подвергалась кондиционированию, наилучшие эффекты в сохранении сердечной функции после ишемии и во время реперфузии наблюдались при использовании

блокаторов NMDA-рецепторов во время посткондиционирования, причем МК-801 имел более выраженный положительный эффект по сравнению с мемантином. Наиболее выраженным негативным влиянием на кардиодинамические показатели было использование глутамата во время посткондиционирования. Полученные результаты указывают на возможность существования и участия других глутаматных рецепторов, помимо рецепторов NMDA, в достижении этих результатов. Применение агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов продемонстрировало практически полностью противоположное влияние на динамику продукции тестируемых АФК и азота. Учитывая важность кальция для сердечной функции, а также его влияние на выработку АФК и азота, предполагаемый механизм этих изменений, вероятно, подразумевает нарушение гомеостаза кальция, поскольку NMDA-рецепторы значительно более проницаемы для ионов кальция, чем других ионов.

Материалы диссертации по исследованию эффектов модуляции NMDA-рецепторов в изолированном сердце крысы во время ишемии и реперфузии рекомендуются для использования в практике научных исследований, посвященных изучению патогенеза сердечно-сосудистых заболеваний, а также для разработки и апробации методов патогенетической терапии и профилактики для обеспечения кардиопротективного эффекта при гипо- и реперфузии миокарда.

Теоретические представления об эффектах модуляции NMDA-рецепторов в изолированном сердце, сформулированные в работе, могут использоваться в образовательном процессе медицинских вузов.

Методология и методы исследования

Диссертация выполнена на кафедре патологии человека Института биодизайна и моделирования сложных систем ФГАОУ ВО Первый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова Министерства здравоохранения Российской Федерации (Сеченовский Университет).

На исследование получено разрешение локального этического комитета ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) (выписка из протокола № 31-20 от 11.11.2020 г.). Экспериментальная работа проведена на 90 крысах Vistar Albino на базе Лаборатории физиологии сердечно-сосудистой системы (зав. проф. В Яковлевич) факультета медицинских наук университета г.Крагуевац (Сербия). Выводы и практические рекомендации автора диссертации основаны на результате исследования достаточного количества крыс с прекондиционированием и посткондиционированием агонистами NMDA-рецепторов (глутаматом и глицином) и антагонистами NMDA-рецепторов (МК-801 и мемантином).

Для выполнения исследования использованы современные лабораторные и инстрементальные методы, позволяющие с высокой степенью достоверности оценить влияние введения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов во время прекондиционирования и посткондиционирования на кардиодинамические показатели миокарда, коронарный поток и оксидативный стресс изолированного сердца крыс при ишемии и реперфузии.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Значения максимальной и минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс и дп/дт мин), систолического и диастолического давления в левом желудочке (СЛВП и ДЛВП), частоты сердечных сокращений (ЧСС) и коронарного потока перфузирующего раствора (КППР) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования были ниже на тридцатой минуте реперфузии по сравнению с контрольными значениями. Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, которые подвергались двадцатиминутной ишемии без кондиционирования, не возвращаются к значениям, близким к начальным во время тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит их адекватного восстановления. Одновременно в группе без

кондиционирования показатели индекса перекисного окисления липидов (ИПОЛ), супероксид-анион-радикала (O_2-) и перокиси водорода (H_2O_2) были значительно выше в последнюю минуту реперфузии по сравнению с базовыми (контрольными). Таким образом, реперфузия вызывает активизацию свободнорадикальных процессов.

2. Уровни дп/дт макс и дп/дт мин, СЛВП и ДЛВП, ЧСС и КППР изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии с прекондиционированием глутаматом были ниже на тридцатой минуты реперфузии, по сравнению с контрольными значениями и значениями в последнюю минуту введения глутамата. После посткондиционирования глутаматом все кардиодинамические параметры и ЧСС были значительно ниже в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями. В тоже время, при прекондиционировании глутаматом значения O_2- и H_2O_2 были значительно выше в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями, а при посткондиционировании этим же веществом значения ИПОЛ и O_2- были значительно выше в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями.

3. Глицин в качестве прекондиционирования приводил к значительному снижению значения дп/дт макс и дп/дт мин, СЛВП и ДЛВП, ЧСС и КППР изолированного сердца крыс в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольным значением. При посткондиционировании глицином значения вышеуказанных параметров были значительно ниже в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями. Введение глицина в качестве агониста рецептора NMDA вызывало значительное увеличение ИПОЛ, O_2- и H_2O_2 в последнюю минуту реперфузии при относительно нормальных контрольных значений. В этой группе посткондиционирование глицином приводило к повышению значения O_2- на тридцатой минуте реперфузии по сравнению с исходным уровнем.

4. МК-801 вызывал статистически значимое снижение всех кардиодинамических параметров через полчаса после начала реперфузии миокарда, после периода его

20-минутной ишемии, после их кратковременного увеличения через минуту от начала реперфузии миокарда, так что они не были статистически значимо отличными от контрольных значений. У животных с посткондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались показатели СЛВП, ДЛВП, КППР, которые снижались через полчаса после начала реперфузии и достигали контрольных значений. У животных с посткондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда снижались показатели дп/дт макс, дп/дт мин, ЧСС, которые увеличивались через полчаса после начала реперфузии и достигали контрольных значений. МК-801, как антагонист рецептора NMDA, при прекондиционировании вызывал значительное снижение всех измеряемых биомаркеров окислительного стресса. При посткондиционировании МК-801 значения H_2O_2 были значимо ниже в последнюю минуту реперфузии по сравнению с базовыми значениями, в то время как значения других биомаркеров существенно не изменились.

5. Кардиодинамические параметры сердца, как после прекондиционирования, так и при посткондиционировании мемантином и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, после тридцатиминутной реперфузии возвращаются к значениям, близким к начальным, то есть происходит их адекватное восстановление. Прекондиционирование мемантином вызвало значительное снижение продукции NO_2- и O_2- по сравнению с контрольными значениями, в то время как значения ИПОЛ, NO_2- и H_2O_2 были значительно ниже в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями. Использование мемантина в посткондиционировании привело к значительному снижению значений NO_2- и H_2O_2, которые были значимо ниже по сравнению с базовыми значениями. Значения ИПОЛ и O_2- существенно не изменились.

Соответствие диссертации паспорту заявленной научной специальности

Представленная диссертация соответствует паспорту специальности 3.3.3. Патологическая физиология. Результаты исследования соответствуют области

исследования специальности, а именно пунктам №3, №8 и №1 паспорта специальности Патологическая физиология (Обсласть науки: 3. Медицинские науки).

Степень достоверности и апробация результатов

Достоверность полученных результатов определяется достатичным количеством животных (90 крыс, разделенных на 9 групп по 10 в каждой группе), применением современных методов лабораторной диагностики.

Первичная документация диссертации проверена комиссией, созданной распряжением проректора по научно-исследовательской работе ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) доцента Д.В.Бутнару, распряжение от 17 ноября 2020 г. № 270.

Для оценки достоверности полученных данных использовались надлежащие методы статистического анализа.

Данные исследования используются при проведении практических занятий и лекций у обучающихся (студенти, ординаторы, аспиранты и врачи повышения квалификаций) на кафедре патологии человека Института биодизайна и моделирования сложных систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова МЗ РФ (Сеченоский Университет), а также на кафедре физиологии медицинского факультета университета г. Крагуевац (Сербия).

Основные положения работы доложены и обсуждены на: 4-м конгрессе физиологических наук Сербии с международным участием «Current trends in physiological sciences: from cell signals to the biology of aging» (Сербия, г. Ниш, 19-23 сентября 2018); 45-м конгрессе Октябрьские дни здоровья Крагуевацкого районного филиала сербского медицинского общества («Октобарски здравствени дани, српског лекарског друштва окружна подружница Крагујевац») (Сербия, г. Крагуевац, 29-30 октября 2020); симпозиуме лаборатории сердечно-сосудистой физиологии «Ефекти модулације N-метил-D-аспартатних рецептора у изолованом

срцу пацова током исхемије и реперфузије» (Сербия, г. Крагуевац, 28 августа 2020).

Апробация результатов диссертации проведена на совместной научно-методической конференции сотрудников кафедры патологии человека, кафедры патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет) и кафедры физиологии факультета медицинских наук университета г.Крагуевац (Сербия) 26 ноября 2020 г.

Публикации

Основное содержание диссертационного исследования отражено в 3 печатных работах соискателя, из них в изданиях из Перечня Университета/Перечня ВАК при Минобрауки – 1 статья, в журналах, включенных в международные базы Scopus - 2 статьи.

Личный вклад автора

Вкладом автора в данную работу является определение цели и задачи исследования, проведение экспериментальных исследований, обработке и анализе полученных данных, а также обобщении полученных результатов. Экспериментальные исследования проведены совместно с сотрудниками лаборатории сердечно-сосудистых заболеваний Факультета медицинских наук Университета г. Крагуевац V. Jakovljevic, V. Zivkovic, I. Milosavljevic, J. Jeremic, J. Bradic, D. Djuric, K. Radonjic, M. Andjic, N. Draginic, A. Stojanovic, I. Srejovic [71, 72]. Обобщении полученных результатов проведено совместно с сотрудниками кафедр патологии человека и патофизиологии Института биодизайна и моделирования сложных систем С.Б. Болевичем, В. Яковлевичем, Б.И. Тачиевой, С.С. Болевич, А.С. Орловой, М.А. Фокиной, А.Б. Салтыковым, Е.М. Морозовой, Н.В. Самбуровой, М.Н. Вуколовой, Е.Б. Тезиковым [6].

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 169 страницах машинописного текста, состоит из введения, обзора литературы, описания материалов и методов исследования, результатов исследования и их обсуждения, заключения. Список литературы содержит 199 источников, из них 18 отечественных и 183 зарубежных авторов. Работа иллюстрирована 94 рисунками и содержит 20 таблиц.

ГЛАВА 1. ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

1.1. Глутаматные рецепторы и их роль в организме

1.1.1. Виды и особенности ионотропных глутаматных рецепторов

NMDA-рецепторы, вместе с AMPA-рецепторами, каинатными рецепторами и δ-рецепторами относятся к группе ионотропных рецепторов глутамата. Ионотропные глутаматные рецепторы опосредуют синаптическую передачу возбуждения, открывая лиганд-зависимые трансмембранные ионные каналы, которые сортируются по их фармакологическим свойствам. Кроме того, все ионотропные глутаматные рецепторы являются структурными мембранными белками, которые состоят из четырех больших субъединиц, которые образуют центральный канал [6]. Каждая из субъединиц рецептора глутамата содержит четыре домена: большой внеклеточный амино-терминальный домен (ATD), который играет ключевую роль в организации рецептора (специфичной для подтипа), транспорта и модуляции; внеклеточный лиганд-связывающий домен (LBD), который связывает специфические агонисты и антагонисты; трансмембранный домен (TMD), который образует канал, проходящий через мембрану; и внутриклеточный карбокси-терминальный домен (CTD), который участвует в транспорте, подвижности и регуляции рецептора [177, 165]. При соединении четырех субъединиц TMD образуется один ионный канал, причем поверхности контакта между TMD значительно больше, чем у других доменов, что указывает на сильное влияние ионного канала на стабильность тетрамерной структуры распределенных субъединиц [165].

Все рецепторы глутамата кодируются в общей сложности 18 генами, которые могут быть дополнительно подразделены на семь подгрупп на основе профилей связывания лиганда и последовательностей нуклеиновых кислот (Таблица 1). AMPA- и каинатные рецепторы, а также субъединицы NMDA-

рецептора GluN2 связывают глутамат, тогда как субъединицы NMDA-рецептора GluN1 и GluN3 и δ-рецепторы связывают глицин и D-серин [193].

Таблица 1 - Названия некоторых субъединиц ионотропных глутаматных каналов по номенклатуре NC-IUPHAR [177, 44]

Группа рецепторов	NC-IUPHAR субъединицы	Название хуманог гена	Локализация на хуманим хромозомима
NMDA	GluN1	*GRIN1*	9q34.3
	GluN2A	*GRIN2A*	16p13.2
	GluN2B	*GRIN2B*	12p12
	GluN2C	*GRIN2C*	17q25
	GluN2D	*GRIN2D*	19q13.1
	GluN3A	*GRIN3A*	9q31.1
	GluN3B	*GRIN3B*	19p13.3
AMPA	GluA1	*GRIA1*	5q31.1
	GluA2	*GRIA2*	4q32–q33
	GluA3	*GRIA3*	Xq25–q26
	GluA4	*GRIA4*	11q22
Каинатные	GluK1	*GRIK1*	21q22.11
	GluK2	*GRIK2*	6q16.3–q21
	GluK3	*GRIK3*	1p34–p33
	GluK4	*GRIK4*	11q22.3
	GluK5	*GRIK5*	19q13.2
δ рецепторы	GluD1	*GRID1*	10q22
	GluD2	*GRID2*	4q22

Обозначения: NC-IUPHAR - International Union of Pharmacology Committee on Receptor Nomenclature and Drug Classification - Комитет по номенклатуре рецепторов и классификации лекарств

Все четыре субъединицы рецептора AMPA могут связываться с образованием гомомеров или гетеромеров. Субъединицы рецептора каината также могут образовывать гомомеры или гетеромеры, причем субъединицы GluK4 и GluK5 образуют функциональные каналы только в сочетании с

субъединицами GluK1, GluK2 или GluK3. Субъединицы δ-рецептора (GluD1 и GluD2) могут образовывать гомомерные рецепторы [9].

Для того чтобы NMDA-рецепторы функционировали необходимо, чтобы они содержали две субъединицы GluN1 и две субъединицы GluN2 или одну субъединицу GluN2 и одну субъединицу GluN3. Поскольку GluN1 и GluN3 связывают глицин, а GluN2 - глутамат, для активации рецептора NMDA требуется действие обоих ко-агонистов [6, 177].

Регуляция проницаемости ионных каналов включает ряд конформационных изменений, которые происходят после связывания или высвобождения соответствующего лиганда. За счет регистрации ионных токов в клетке после связывания глутамата в качестве агониста были определены три отдельных процесса регулирования проницаемости ионных каналов: активация, десенсибилизация и дезактивация [165].

1.1.2. Структура NMDA-рецепторов

Как отмечено выше, NMDA-рецепторы состоят из трех различных типов субъединиц, называемых GluN1, GluN2 и GluN3. Посттрансляционный процессинг РНК для GluN1 приводит к восьми различным вариантам «сплайсинга», причем GluN2 (A - D) кодирует четыре, а GluN3 (A и B) два разных гена. Функциональные NMDA-рецепторы представляют собой гетеротетрамеры, содержащие две облигатные субъединицы GluN1 и еще две субъединицы GluN2 и/или GluN3 [183].

Сочетание различных GluN1 и GluN2 приводит к формированию функционально различных типов NMDA-рецепторов. Различные «сплайсинги» варианта GluN1 определяют свойства рецептора, такие как модуляция цинком, полиаминами и протеинкиназой C (PKC), так и связывание с внутриклеточными белками (кальмодулин, кальмодулин-зависимая протеинкиназа II, α-актинин-2) [106, 146]. Тип субъединицы GluN2 определяет биофизические характеристики каналов, такие как проводимость канала, среднее время открытия,

чувствительность к вольтаж-зависимой блокаде магнием (Mg^{2+}) [146, 128]. Комбинация GluN1 и GluN2 характеризуется большей проницаемостью для Ca^{2+}, что определяет специфическую роль NMDA-рецепторов, прежде всего в ЦНС, такую как синаптическая пластичность и нейротоксичность [156].

Субъединицы GluN3 связывают глицин и не способны самостоятельно образовывать функциональные ионные каналы. Комбинация субъединиц GluN1 и GluN3 приводит к образованию возбуждающих рецепторов, активируемых глицином, но такие рецепторы на сегодняшний день не обнаружены в нейронах, содержащих субъединицу GluN3 [156, 41]. Если NMDA-рецептор, в дополнение к GluN1 и GluN2, также содержит субъединицу GluN3A, это вызывает уменьшение проводимости канала и проницаемости для Ca^{2+}, о чем свидетельствует регистрация ионных токов, генерируемых при активации NMDA-рецепторов в нейронах, где эти рецепторы не содержат субъединицу GluN3A [117].

До настоящего времени были предложены три модели для сборки рецептора NMDA. Согласно первой модели, создаются стабильные гомодимеры GluN1-GluN1 и GluN2-GluN2, которые затем связываются и образуют тетрамерный рецептор [150]. На основе второй модели сначала образуется стабильный гомодимер GluN1-GluN1, а затем добавляются два мономера GluN2, образуя таким образом тетрамерную структуру [22]. Согласно третьей модели, образуются гетеродимеры GluN1-GluN2, которые затем тетрамеризуются [158]. В настоящее время недостаточно данных в пользу ни одной из предложенных моделей.

Как и другие рецепторы в этой группе, субъединицы рецептора NMDA состоят из четырех доменов: ATD, LBD, TMD и CTD.

Внеклеточный LBD образован двумя внеклеточными массивами аминокислот, которые упоминаются как S1 и S2 [170]. Все LBD имеют форму «раковины», причем полипептидный сегмент S1 связан со спиралью TMD M1, и образует большую часть одной стороны «раковины» (D1), а полипептидный сегмент S2 расположен между спиралями TMD M3 и M4 и образует большую часть другой стороны «раковины» (D2). Таким образом, трещина или «карман»

образуются там, где расположена точка связывания агониста. Соответствующие агонисты глутамат и глицин, в случае с NMDA-рецепторами, содержат группы, которые связываются с α-амино- и α-карбоксильными группами в LBD. LBD-фрагменты, которые образуют атомные связи с лигандом, в целом сходны по всем глутаматным рецепторам и построены в основном из аминокислотных остатков, принадлежащих к D1-фрагменту LBD. Связывание агонистов LBD вызывает конформационные изменения. При изучении структурных изменений LBD субъединиц глутаматных рецепторов которые связывали агониста и тех, которые его не связывали, было обнаружено, что в свободной форме D1 и D2 разделены и принимают более открытую конформацию, тогда как в связанной форме D1 и D2 принимают более замкнутую конформационную форму [177].

Внеклеточный ATD играет роль в регуляции функции рецептора и не является существенным для связывания субъединицы и конструирования рецептора. Было показано, что ATD GluN2 субъединица NMDA-рецептора контролирует фармакологические и кинетические свойства рецепторов, такие как сродство связывания агониста, время дезактивации, вероятность открытия, среднее время открытия и закрытия [196]. ATD также содержит точки связывания для двухвалентных катионов (Zn^{2+}) и отрицательных аллостерических модуляторов (ифенпродил), а также внеклеточных белков (внеклеточный домен рецепторов эфрина) [146]. Внешний вид субъединицы ATD GluN2B, аналогичный LBD, описывается как имеющий форму «раковины» и состоит из двух частей, R1 и R2. Эти две части образуют трещину, содержащую несколько точек: 1) гидрофильную точку связывания снаружи трещины, построенную из полярных аминокислотных остатков, которые образуют точку связывания для Zn^{2+}, 2) гидрофобную точку связывания, созданную из гидрофобных аминокислотных остатков, расположенных глубоко внутри трещины, и связывающих ифенпродил, и 3) точка, которая связывает ионы Na^{+} и Cl^{-}, роль которых полностью не выяснена [88]. N-конец расположен на вершине фрагмента R1, тогда как фрагмент R2 связан с LBD.

Трансмембранный домен (TMD) всех рецепторов глутамата связан с LBD тремя короткими связями. TMD содержит три трансмембранные спирали, обозначенные M1, M3 и M4, и петлю, которая входит в мембрану и обозначается M2. Трансмембранные спирали M1, M3 и M4, каждая из четырех рецепторных субъединиц образуют трансмембранный канал, петли M2 ограничивают внутренний край поры канала, в то время как части спирали M3 ограничивают внешний край поры канала. Части спиралей M3 простираются навстречу друг другу, вероятно, образуя ворота, которые предотвращают поток ионов, когда рецептор неактивен. Спирали M1 и M3 образуют ядро канала, а спираль M4 одной субъединицы соединяется со спиралями M1 и M3 другой субъединицы. Соединительная область, называемая pre-M1, образует короткую спираль, параллельную плоскости мембраны и соединенную с карбокси- и амино-терминальными концами трансмембранных спиралей M3 и M4. Спирали pre-M1 всех четырех субъединиц, которые являются частью рецептора, образуют «манжету» вокруг внешнего отверстия пор канала, что может оказать существенное влияние на регуляцию канала [177].

Карбокси-терминальный домен (CTD) наиболее сильно различается по аминокислотному составу между субъединицами, которые строят разные рецепторы глутамата. Считается, что CTD влияет на стабилизацию рецептора, посттрансляционную модификацию и маркировку рецептора деградации. Если CTD удаляется в субъединицах GluN1 и GluN2A, функция рецептора NMDA не нарушается, но регулирование изменяется, поскольку CTD содержит точки фосфорилирования и точки связывания для внутриклеточных белков, участвующих в регуляции функции [181]. Почти все субъединицы рецептора глутамата связывают некоторые внутриклеточные белки (цитоскелетные, связывающие, структурные, сигнальные и другие) с несколькими субъединицами рецептора NMDA, связывающимися через CTD с Ca^{2+}/кальмодулин-зависимой протеинкиназой II, обеспечивая дальнейшее локальное распространение сигнала, что позволяет создать пространственную и временную специфичность рецепторной регуляции. Более поздние исследования предполагают возможность

передачи сигнала через рецептор NMDA без утечки Ca^{2+} через связь между CTD и соответствующими протеинкиназами [21].

1.1.3. Контроль открытия рецепторов

Многие исследователи изучали механизм, с помощью которого связывание лиганда вызывает открытие пор рецепторов глутамата. Современное понимание того как работает этот механизм, основано на структурных (кристаллографических и ЯМР) и функциональных (УФ и ИК-спектрометрических) исследованиях растворимых в воде LBD и функциональных исследований целых рецепторов. На основании исследований, преимущественно проводимых на AMPA и каинатных рецепторах, были сделаны выводы, что механизм связывания агонистов и контроля рецепторов одинаков для всех подтипов рецепторов глутамата и включает, по меньшей мере, три следующих стадии: 1) начальное связывание агонистов с соответствующей точкой связывания; 2) конформационные изменения в структуре в виде «ракушки» LBD, предотвращающие тем самым высвобождение агониста, и 3) конформационные изменения и открытие ионного канала, вызванные распространением изменений LBD [183, 65, 118, 119, 197].

Как отмечалось ранее, LBD состоит из двух доменов: S1 и S2. Верхняя область одной субъединицы домена S1 тесно связана с другой областью субъединицы S1, образуя димер LBD, что делает область S1 очень устойчивой. В отличие от вышесказанного, нижние S2 домены не участвуют в образовании димеров и поэтому остаются относительно мобильными [166]. Сдвиг нижних доменов S2 вследствие связывания лиганда одновременно влияет на области связывания LBD и TMD. Структурные свойства областей связывания очень важны для формирования механизма управления рецепторами и их специфичность особенно отражается в изменении двойной симметрии доменов LBD в четырехкратную симметрию ионного канала.

Несмотря на многочисленные исследования, связанные с кристаллографическим изучением трансмембранных белков, механизм контроля и открытия ионного канала рецептора NMDA, в настоящее время, не может быть полностью объяснен. Однако структурные сходства между глутаматными рецепторами и калиевыми каналами и имеющиеся данные о структуре калиевых каналов в закрытом и открытом состояниях позволяют предположить, что ионный канал открывается вращением и смещением к части спирали M3, которая практически расположена на центральной оси каналов, которые образуют M2 петли. Роль спиралей до- M1, M1 и M4 также до сих пор не совсем ясна [166].

В процессе управления открытием канала изменения в спирали M3 учитывают проходимость центральной полости канала. Полость центрального канала ограничивает пору, которая является ионоселективной, и определяет основные свойства канала - проницаемость для ионов и общую проводимость канала. В верхней части петли M2 находится точка QRN, который играет ключевую роль в регуляции проницаемости Ca^{2+}. AMPA- и каинатные рецепторы, которые содержат глутамин в этом месте, проницаемы для Ca^{2+}, но во время посттрансляционной обработки мРНК для GluA2 и GluK1/2 глутамин меняется аргинином, что делает эти каналы непроницаемыми для Ca^{2+} [112]. В отличие от вышеупомянутых рецепторов, NMDA-рецепторы на этом месте содержат аспарагин, который является причиной высокой проницаемости для Ca^{2+} в NMDA-рецепторах. В частности, замена аспарагина глутамином в субъединице GluN1 рецептора NMDA значительно снижает проницаемость для Ca^{2+} и слегка уменьшает блокаду магния (Mg^{2+}), тогда как такое же замещение в субъединице GluN2 значительно уменьшает блокаду и увеличивает проницаемость для Mg^{2+}, и оказывает очень незначительное влияние на проницаемость для Ca^{2+} [37].

Кроме того, проницаемость для Ca^{2+} в NMDA-рецепторах зависит от типа субъединиц, которые участвуют в конструировании рецептора. Таким образом, рецепторы, содержащие субъединицы GluN2A/GluN2B, наиболее проницаемы для Ca^{2+}, рецепторы, содержащие субъединицы GluN2C, имеют меньшую

проницаемость, а рецепторы, содержащие GluN3, наименее проницаемы для Ca^{2+} [177].

1.1.4. Аллостерическая регуляция

Аллостерические модуляторы глутаматных рецепторов в последнее время привлекают большое внимание из-за возможности тонкого воздействия на физиологическое функционирование рецептора, а также из-за возможности его использования в терапевтических целях. Положительные и отрицательные аллостерические модуляторы обладают рядом терапевтических преимуществ по сравнению с агонистами и антагонистами глутаматных рецепторов, включая большую селективность в отношении отдельных субъединиц, которые образуют часть рецептора. Считается, что лучшая переносимость аллостерических модуляторов в клинической практике является следствием их действия на существующем уровне, в отличие от антагонистов и агонистов, которые вызывают либо полную блокаду, либо чрезмерную стимуляцию.

Внеклеточные домены субъединиц рецептора NMDA, ATD и LBD, в значительной степени гомологичны бактериальным периплазматическим белкам. ATD, который состоит из первых 380 аминокислот, аналогичен так называемому лейцин-изолейцин-валин-связывающему белку (leucine/isoleucine/valine-binding protein - LIVBP), который в дополнение к своей значительной роли во взаимосвязи и организации субъединиц, также образует регуляторный домен, который связывает аллостерические ингибиторы [127].

Многие двухвалентные катионы влияют на инактивацию глутаматного рецептора, вольтаж-зависимый блок ионных каналов и на скорость диссоциации агониста, тем самым усиливая или ингибируя ответ рецептора.

Цинк (Zn^{2+}) является одним из внеклеточных двухвалентных катионов, который обладает наибольшим потенциалом для инактивации NMDA-рецепторов [189, 176]. В нервных окончаниях гиппокампа, миндалины, стриатума, неокортекса и коры Zn^{2+} упаковывается в синаптические везикулы и

высвобождается во время нервной деятельности в синаптическую щель вместе с глутаматом [145].

Ионы водорода (протоны, H^+) из внеклеточного пространства ингибируют все типы ионотропных рецепторов глутамата по механизму, который не подразумевает конкурентное ингибирование и ионизацию агониста, предполагая, что они не действуют как блокаторы каналов [127, 178]. Чувствительность рецепторов NMDA к внеклеточным протонам зависит от типов субъединиц, составляющих рецептор, причем H^+ действует как на субъединицы GluN1, так и на GluN2.

1.1.5. Агонисты и антагонисты рецептора

NMDA-рецепторы являются уникальными в группе глутаматных рецепторов, поскольку для их активации требуется одновременное связывание глицина с субъединицами GluN1 и глутамата с GluN2 [95].

Агонисты NMDA-рецепторов

В некоторых литературных источниках глицин называют модулятором рецептора NMDA, чтобы отличать его от L-глутамата, который является специфическим агонистом всей группы рецепторов (Рисунок 1). Однако, поскольку их места связывания структурно сходны, они, вероятно, играют похожие роли в активации рецепторов. Однако в физиологических условиях глицин и глутамат по-прежнему играют разные роли в активации рецептора NMDA. В то время как L-глутамат высвобождается из нервных окончаний в синаптическую щель и является «активным» нейротрансмиттером, считается, что и небольшое количество глицина, которое уже находится в синаптической щели, достаточно для активации рецептора [26]. Было показано, что в определенных частях мозга астроциты выделяют D-серин, который связывается с точкой связывания глицина и участвует в активации рецепторов [143].

Как отмечалось выше, кристаллографические исследования субъединицы LBD GluN1 показали, что глицин и соответствующие аналоги связываются внутри трещины, образованной доменами D1 и D2 области связывания (LBD). В пределах области связывания α-карбоксильная группа глицина образует водородные связи с аминокислотами аргинином в положении 522 (Arg522), треонином в положении 518 (Thr518) и серином в положении 688 (Ser688). Аминогруппа глицина реагирует с карбонильной группой пролина в положении 516 (Pro516), гидроксильной группой треонина в положении 518 (Thr518) и кислородом карбоновой группы аспарагиновой кислоты в положении 732 (Asp732) [64, 177].

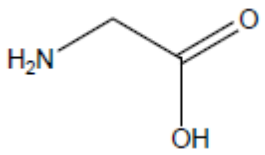

Рисунок 1 - Химическая структура глицина

В дополнение к глицину D- и L-изомеры серина и аланина могут связываться с его точкой связывания и действовать как агонисты субъединицы GluN1 рецептора NMDA [98]. D-серин значительно более эффективен, чем L-серин, и, вероятно, представляет собой основной лиганд для субъединиц GluN1 в определенных частях мозга, таких как супраоптические ядра [144].

Глутамат связывается с субъединицами GluN2 (Рисунок 2). α-карбоксилатная группа глутамата реагирует с аргинином в положении 518 (Arg518), а γ-карбоксильная группа связывается с тирозином в положении 730 (Tyr730) с образованием водородных связей между доменами, образующимися между тирозином в положении 730 (Tyr730) и глутаминовой кислотой в положении 413 (Glu413) [65].

Помимо глутамата, эндогенные субъединицы агониста GluN2 включают D- и L-аспартат, гомоцистеин и сульфат цистеина [1, 135, 198]. Пока не обнаружено агонистов, которые связываются с конкретными подтипами субъединицы GluN2.

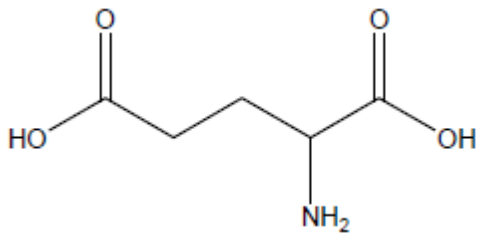

Рисунок 2 - Химическая структура глутамата

Субъединицы GluN3, такие как субъединицы GluN1, связывают глицин, но между ними есть некоторые различия. α-карбоксильная группа глицина в точке связывания субъединицы GluN3 связывается с аргинином в положении 638 (Arg638), серином в положении 633 (Ser633) и серином в положении 801 (Ser801), в то время как α-амино группа глицина ассоциируется с аспарагиновой кислотой в положении 845 (Asp845), серином в положении 631 (Ser631) и серином в положении 633 (Ser633) [194]. Хотя обе эти субъединицы связывают глицин, сходство между ними составляет только 30%, и сродство к изолированному глицину GluN3 примерно в 600 раз больше, чем сродство к субъединице GluN1 [177].

Конкурентные антагонисты рецептора NMDA

Существует ряд конкурентных антагонистов NMDA-рецепторов, специфичных для субъединицы GluN1, таких как 7-хлорхинуроновая кислота и ее аналог 5,7-дихлорхинуроновая кислота (5,7-DCKA) [95]. 5,7-DCKA связывается с субъединицей GluN1, в результате чего связи, которые он устанавливает с аминокислотными остатками в расщелине точки связывания LBD, образуются в основном с доменом D1 [64].

Анестезирующее действие ксенона не обусловлено влиянием на ГАМК-ергического нервную передачу, но зависит от ингибирования NMDA- рецепторов [50]. В исследовании, изучающем эффекты ксенона, было показано, что ингибирование рецептора NMDA ксеноном увеличивается с уменьшением концентрации глицина, что указывает на то, что ксенон связывается с точкой связывания глицина. Изучение мутантных рецепторов с более высоким сродством к глицину показало снижение ингибирующего эффекта ксенона, который снова увеличивается при уменьшении концентрации глицина [52].

Конкурентные антагонисты субъединиц GluN2, такие как (R)-2-амино-5-фосфопентаноат, использовались для отделения эффектов NMDA-рецепторов от других ионотропных глутаматных рецепторов (прежде всего AMPA-рецепторов) [104]. Однако трудно синтезировать соединения, которые бы селективно ингибировали отдельные подтипы субъединиц GluN2, что является следствием высокой степени гомологичности между LBD-субъединицами GluN2. Из 39 аминокислот, окружающих точку связывания, только восемь отличаются по подтипам субъединиц GluN2 (от GluN2A до GluN2D), тогда как 10 аминокислот в самом месте связывания, которые имеют глутаматные связи, полностью идентичны [65].

Неконкурентные антагонисты рецепторов NMDA

В группе неконкурентных антагонистов различают антагонисты, которые блокируют рецепторы, когда они закрыты, и антагонисты, чье действие требует, чтобы канал был открыт, чтобы они могли достичь своего места связывания и блокировать канал.

Считается, что ифенпродил является примером для первой группы, хотя его чаще называют аллостерическим модулятором, и поэтому в данном случае его называют аллостерическим модулятором активности рецептора NMDA. Этанол и динорфины также входят в эту группу антагонистов. Действие этанола зависит от подтипа субъединицы GluN2, поэтому этанол ингибирует рецепторы,

содержащие субъединицу GluN2B [89]. Действие динорфинов также зависит от подтипа субъединицы GluN2 (так они в значительной степени ингибируют рецепторы, содержащие субъединицу GluN2A), а также от длины пептидной цепи динорфина (чем длиннее пептидная цепь динорфина, тем он является более сильным ингибитором рецептора NMDA) [35].

Неконкурентные антагонисты рецептора NMDA, которые действуют, когда канал открыт, могут оставаться внутри канала, когда канал закрыт («захвачены» в канале), например, дисоцилпина малеат (МК-801), а также, когда блокаторы частично «захвачены», например, мемантин (Рисноук 3). Когда канал блокируется антагонистами, которые остаются в канале, агонисты должны связываться с рецептором, чтобы освободить антагонист из канала и реактивировать канал [177, 28].

Предыдущие исследования влияния дизоцилпина (МК-801) и глутамата на нейроны гиппокампа крыс показали, что совместная имплантация этих двух веществ вызывает кратковременное открытие каналов под действием глутамата с последующей блокировкой каналов, вызванной МК-801 [6, 59].

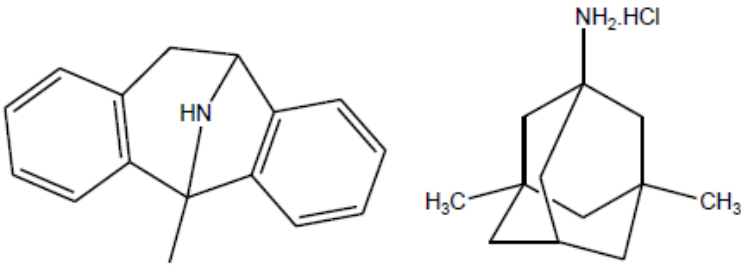

Рисунок 3 - Химическая структура дизоцилпина (МК-801) и мемантина

Блокаторы, которые частично «захвачены», такие как мемантин, также связываются после открытия канала, но быстро высвобождаются рецепторами [122]. Существует несколько потенциальных мест связывания мемантина, один из которых расположен рядом с внеклеточным отверстием пор рецептора GluN1/GluN2A [30]. Связывание мемантина демонстрирует большую зависимость от изменения напряжения на мембране, в результате чего мамантин связывается

намного быстрее, высвобождается медленнее и, таким образом, обеспечивает более эффективную блокировку, если мембрана гиперполяризована. Место связывания для мемантина перекрывается с местом связывания для иона магния (Mg^{2+}), в следствии чего мемантин и Mg^{2+} являются подходящими для связывания в поре рецептора NMDA [85].

Мемантин - это вещество, которое было зарегистрировано в качестве лекарственного средства в Европе, Соединенных Штатах и РФ и используется для лечения болезни Альцгеймера. Бета-амилоид, считающийся основной причиной синаптической дисфункции при болезни Альцгеймера [15], нарушает гомеостаз глутамата, а также существуют доказательства того, что бета-амилоид непосредственно активирует NMDA-рецепторы, содержащие субъединицу GluN2A [174, 55]. Клиническая польза от использования мемантина в лечении болезни Альцгеймера умеренная [12, 13], но она охватывает последствия многочисленных расстройств, возникающих во время болезни [85].

Большинство блокаторов NMDA-рецепторов неселективны или слабо селективны в зависимости от подтипа субъединицы GluN2, поэтому МК-801 ингибирует рецепторы, содержащие субъединицу GluN2A или GluN2B, примерно в 10 раз сильнее, чем рецепторы, содержащие субъединицу GluN2C или GluN2D. Также важно, что потенциал для блокады антагониста рецептора NMDA зависит от значения pH и парадоксальным является тот факт, что кислотные значения pH увеличивают степень связывания МК-801, который связывается внутри самого канала, поскольку кислотные значения pH уменьшают вероятность открытия ионного канала рецептора NMDA. Эта информация указывает на то, что МК-801 связывается со структурными элементами, которые участвуют в создании пор канала [174].

1.1.6. Роль магния в регулировании функции рецептора NMDA

Уникальной особенностью NMDA-рецепторов по сравнению с другими лиганд-зависимыми ионными каналами является двойная регуляция их функции,

связывание двух агонистов и изменение мембранного потенциала. Зависимость функции рецептора NMDA от изменения напряжения клеточной мембраны является прямым следствием блокады поры ионного канала рецептора NMDA ионом магния (Mg^{2+}). В частности, во время мембранного потенциала покоя большинство подтипов NMDA-рецепторов блокируется Mg^{2+} из внеклеточного пространства, что в значительной степени препятствует потоку ионов через канал. Вследствие деполяризации клетки устраняется зависящая от напряжения блокада NMDA-рецептора магнием (Mg^{2+}), позволяя потоку ионов проходить через NMDA-рецептор. Последующее поступление Ca^{2+} запускает серию внутриклеточных сигнальных каскадов, которые изменяют функцию клеток, активируя различные киназы и фосфатазы [55].

1.1.7. NMDA-рецепторы и центральная нервная система

Физиологическая роль NMDA-рецепторов в первую очередь связана с функцией ЦНС. NMDA-рецепторы, в дополнение к другим ионотропным глутаматным рецепторам (AMPA-рецепторы и каинат), играют ключевую роль в быстрой регуляции синаптической пластичности, включая долгосрочное потенцирование и длительную депрессию, которые являются клеточной основой памяти и процессов обучения [6, 131, 116]. Одной из наиболее изученных форм синаптической пластичности является длительная потенциация в гиппокампе, где активация NMDA-рецептора в синапсе индуцирует включение AMPA-рецепторов в синаптическую мембрану с помощью таких механизмов как: поступление Ca^{2+}, Ca^{2+}/кальмодулин-зависимая протеинкиназа II (CaMKII) и внеклеточный сигнал регулируемой киназы (Ras-ERK). Поступление Ca^{2+} через NMDA-рецепторы также активирует сигнальный каскад, опосредуемый митоген-активируемой протеинкиназой (ERK (extracellular signal-regulated kinase - внеклеточная регулируемая киназа) – MAPK (mitogen-activated protein kinase - митоген-активируемая протеинкиназа)). Активация этого сигнального пути вызывает фосфорилирование cAMP-зависимо-связывающего белка (cAMP-responsive

element-binding protein - CREB), который вызывает транскрипцию нескольких «синапс-связанных генов», которые необходимы для консолидации памяти [32, 74].

NMDA-рецепторы, состоящие из разных субъединиц, неравномерно распределены в различных частях мозга, кроме того, их экспрессия меняется с возрастом. Рецепторы субъединиц GluN2B более распространены в головном мозге на ранних стадиях развития, и их количество начинает уменьшаться с подросткового возраста, в то время как количество NMDA-рецепторов, содержащих субъединицу GluN2A, увеличивается в процессе старения [109]. Механизм, с помощью которого состав субъединиц рецептора NMDA меняется во время старения еще не установлен, также как и влияние этих изменений на когнитивные функции [100]. Одним из объяснений является изменение экспрессии отдельных субъединиц NMDA-рецептора, в результате чего экспрессия субъединиц GluN1, GluN2B и GluN3A уменьшается, а экспрессия субъединиц GluN2A и GluN3B увеличивается. Различные авторы приводят доводы в пользу этой точки зрения, основываясь на зарегистрированном снижении мРНК GluN1 в определенных частях мозга, таких как базальный гипоталамус, префронтальная кора, а также в островковой, орбитальной и соматосенсорной коре [48, 71, 114]. Изменения в экспрессии различных субъединиц GluN2 также наблюдались главным образом в гиппокампе, причем изменения в составе GluN2 имеют большое физиологическое значение, поскольку они сильно влияют на свойства рецептора, такие как среднее время открытия рецептора и проводимость рецептора [167, 199].

Альтернативой этому является способность изменять локализацию рецептора с точки зрения включения рецептора в мембрану или перемещения рецептора из внесинаптических частей мембраны в сам синапс. Исследования на мышах показали, что экспрессия субъединицы GluN2B в синаптической мембране, но не в гомогенате мозговой ткани, нарушается в лобной коре, что позволяет предположить, что уменьшение содержания субъединиц GluN2B может быть связано с секвестрацией NMDA-рецепторов, содержащих эту субъединицу,

во внешней мембране [99]. Механизмы, которые также связаны с изменением состава субъединиц рецептора NMDA, также включают трансляционные модификации, окислительный стресс и влияние микроглии [100]. Эти изменения связаны с нарушениями памяти (прежде всего пространственной), которые происходят в процессе старения [62, 147].

Синаптическая пластичность в зрительной коре взрослых обусловлена NMDA-рецепторами [2], а именно NMDA-рецепторами, содержащими субъединицу GluN2A. Подтверждением этой точки зрения является тот факт, что ни селективные блокаторы NMDA-рецепторов, содержащие субъединицу GluN2B, ни стимуляция этих рецепторов, не влияют на длительное потенцирование в зрительной коре [109, 184]. Более быстрая кинетика NMDA-рецепторов, содержащих субъединицу GluN2A, имеет решающее значение для быстрой обработки визуальной информации и адекватного ответа нейронов на сенсорную стимуляцию, что, вероятно, является причиной доминирования этого типа рецепторов в зрительной коре [63].

Как отмечалось выше, NMDA-рецепторы играют ключевую роль в формировании памяти, в первую очередь - кратковременной или рабочей памяти, для которой также важна функция дорсолатеральной префронтальной коры (dlPFC). В отличие от сенсорной коры, dlPFC обеспечивает умственную деятельность независимо от сенсорных раздражителей и является основой для рабочей памяти - памяти, которая активна в течение очень короткого времени, всего несколько секунд, и является основой для более сложных форм памяти [8]. Регистрация нервной активности dlPFC у обезьян показала непрерывную активность нейронов, которая обеспечивает процесс запоминания, и запускается повторной активацией пирамидных нейронов [70, 185]. Эта продолжающаяся нейрональная активность облегчается действием NMDA-рецепторов, прежде всего рецепторов NMDA, содержащих субъединицу GluN2B, поскольку они имеют медленную кинетику и наиболее подходят для функции нейронной сети в dlPFC без сенсорных стимулов [192]. Блок NMDA-рецепторов, в первую очередь содержащий субъединицу GluN2B, значительно снижает активность нейронов в

dlPFC, в то время как блокирование активности AMPA-рецепторов не влияет на нервную деятельность в этой части мозга. Однако в этом случае вопрос состоит в том, как преодолеть блокаду NMDA-рецепторов магнием, и ответом на него, вероятно, является другой тип рецептора, такой как никотиновый α7-рецептор. Никотиновые α7-рецепторы локализуются в постсинаптическом утолщении глутаматных синапсов, и блокирование активности этих рецепторов ингибирует возбуждение NMDA-рецепторов. Поскольку ацетилхолин высвобождается во время бодрствования (но не во время глубокого сна), стимуляция никотиновых α7-рецепторов позволяет осознанно мыслить [63, 186].

Нарушение активности рецептора NMDA связано с рядом неврологических заболеваний. Ключевым расстройством при болезни Альцгеймера является неадекватная регуляция индуцированной амилоидом бета (Aβ) активности NMDA-рецептора. С одной стороны, Aβ индуцирует эндоцитоз и интернализацию синаптических NMDA-рецепторов, а с другой стороны индуцирует гиперактивность экстрасинаптических NMDA-рецепторов, препятствуя переходу глутамата из внеклеточного пространства, вызывая тем самым нейротоксичность [6, 179]. Синаптическая дисфункция, вызванная Aβ, зависит от чрезмерной стимуляции NMDA-рецептора, что приводит к увеличению концентрации Ca^{2+} в цитоплазме нейронов, что дополнительно запускает активацию множественных сигнальных механизмов, конечным результатом которых является нарушение функции митохондрий, дисфункция и потеря синапсов, нарушение долгосрочной потенциации, ухудшение когнитивных функций [164]. Эндоцитоз NMDA-рецептора, индуцированный Aβ, включает никотиновые α7-рецепторы, а также другие факторы (протеинфосфатазу 2B и тирозин фосфатазу STEP), а использование мемантина в качестве некомпетентного антагониста NMDA-рецептора оказывает нейропротективный эффект благодаря множеству механизмов [138, 142].

1.1.8. NMDA-рецепторы и сердечно-сосудистая система

Как отмечалось выше, NMDA-рецепторы играют ключевую роль в функционировании ЦНС, однако несколько десятилетий назад некоторые авторы указали на возможность их существования вне нервных тканей [129, 130]. Имеются данные об их распространенности в большом количестве тканей и органов, а в сердце они впервые были обнаружены в кардиомиоцитах крыс [107].

В экспериментах, основанных на клонировании комплементарной ДНК (кДНК) человеческого GluN2C, было обнаружено 88% сходство с крысиным GluN2C, а также высокая распространенность этой субъединицы как в определенных частях нервной ткани, так и в других тканях, и прежде всего в сердце [136]. Исследование временного и пространственного распределения в тканях радиоактивно меченных антагонистов NMDA-рецепторов ([^{3}H] CGS и [^{3}H]-MK-801) выявило их широкое распределение в ряде органов, таких как сердце, легкие, почки и желудок [105]. Исследование отдельных субъединиц рецептора NMDA выявило высокую представленность субъединицы GluN1 в сердце крыс, тогда как те же авторы не обнаружили субъединиц GluN2, и их заключение было сведено к возможному существованию гомоолигомерных рецепторов NMDA, состоящих из субъединиц GluN1 [159]. Изучая распространенность отдельных субъединиц NMDA-рецепторов в сердце крыс, регистрировали наличие субъединицы GluN2B, обнаруженной в сердечной ткани от ранних стадий развития до десятой недели постнатальной жизни [102]. Однако, в этом исследовании, не наблюдалось наличия субъединицы GluN1 ни на одной стадии развития. Таким образом, результаты этих исследований противоречивы [6].

Также имеются данные о NMDA-рецепторах в эндотелии кровеносных сосудов в разных частях тела. Введение глутамата и D-серина (который связывается с точкой связывания глицина) вызывает активацию рецепторов NMDA, которые активируют эндотелиальную синтазу оксида азота (eNOS), что приводит к увеличению продукции NO и вазодилатации в мозговых артериях [6].

Этот каскад опосредуется астроцитами, которые накапливают глутамат и D-серин и выделяют их в зависимости от нервной активности [42, 133]. Изучение влияния гомоцистеина и механизмов, посредством которых он оказывает негативное влияние на ССС, показало наличие субъединиц GluN1 и GluN2A в сонных артериях крыс, а также экспрессию всех субъединиц рецептора NMDA в эндотелии аорты крысы. В том же исследовании также сообщалось об увеличении экспрессии субъединицы GluN1 под действием гомоцистеина и увеличении пролиферации клеток, а также об уменьшении пролиферации при предыдущем введении МК-801 [6, 20].

Концентрация глутамата в спинномозговой жидкости крыс составляет 11,4 мкмоль/л, тогда как концентрации в плазме значительно выше [103, 120]. На основании этого факта можно сделать вывод, что периферические NMDA-рецепторы находятся под постоянной тонической активацией. Однако действие активаторов на данные рецепторы в периферических тканях повышает их активность [33, 61, 110]. Одним из возможных объяснений является то, что интерстициальные концентрации глутамата не совпадают с концентрациями в плазме. В ЦНС концентрации глутамата в интерстиции поддерживаются в очень узком диапазоне благодаря действию возбуждающих переносчиков аминокислот EAAT (excitatory amino acid transporters), которые удаляют глутамат из синаптической щели, предотвращая чрезмерную стимуляцию нейронов и, как следствие, нейротоксичность [113]. Поскольку различные изоформы этих переносчиков были обнаружены в периферических тканях, в том числе в ССС, возможно, что концентрация глутамата во внеклеточном пространстве этих тканей регулируется EAAT [101, 151]. Возможно это связано с меньшей чувствительностью рецепторов NMDA на периферии, то есть меньшим сродством к глутамату и глицину, по сравнению с рецепторами NMDA в ЦНС. Это открытие подтверждается данными исследований, указывающих, что константа диссоциации (Kd) глутамата, который связывается с рецепторами остеобластов NMDA, во много раз выше, чем у рецепторов NMDA в нервной ткани [34].

Появляется все больше доказательств важности NMDA-рецепторов в регуляции электрической активности сердца [160]. Кроме того, все больше исследований посвящено изучению влияния чрезмерной стимуляции этих рецепторов на сердце и ССС, в результате чего хроническая активация этих рецепторов заставляет некоторых агонистов вызывать значительные электрофизиологические расстройства и увеличивать вероятность желудочковых аритмий [115]. Механизм патофизиологических нарушений, вызванных высокими концентрациями гомоцистеина, связан с активацией рецептора NMDA [6, 47].

Ингибирование NMDA-рецепторов снижает вероятность возникновения аритмий во время реперфузии, а также накопления ионов Ca^{2+} в митохондриях [67, 172]. Увеличение концентрации ионов Ca^{2+} из-за активации рецептора NMDA вызывает увеличение окислительного стресса, и эти цитотоксические эффекты можно предотвратить с помощью блокатора этих рецепторов [180]. В исследованиях, где наблюдалась делеция субъединицы GluN1 в кардиомиоцитах, отмечалось снижение продукции АФК под действием гомоцистеина, а также снижение концентрации NO и матричной металлопротеиназы 9 (MMP-9) в митохондриях сердца [123, 132]. Дополнительные исследования указывают на защитную роль блокады NMDA-рецепторов в сердце. Блокада NMDA-рецепторов мемантином снижает уменьшение количества ядер в кардиомиоцитах левого желудочка животных, подвергшихся воздействию холодового стресса [56].

Вышеуказанные факты указывают на важность NMDA-рецепторов в регуляции физиологической активности, а также в механизмах патологических процессов в ССС.

1.2. Свободные радикалы и окислительно-восстановительное равновесие

Процессы окисления и восстановления происходят непрерывно во всех живых биологических системах [18]. В процессе окисления образуются свободные радикалы, то есть молекулы, атомы или ионы, которые имеют в своей структуре один или несколько неспаренных электронов, так что они находятся

между окисленным и восстановленным состоянием. В физиологических условиях выработка свободных радикалов и их устранение находятся в равновесии друг с другом, обеспечивая тем самым оптимальную среду для метаболических процессов. Свободные радикалы в низких физиологических концентрациях играют важную роль в организме, но их производство в больших количествах может превышать способность антиоксидантной системы организма устранять их, что приводит к повреждению макромолекул и нарушению функции клеток [75]. Нарушение баланса прооксидантов и антиоксидантов в пользу прооксидантов вызывает окислительный стресс [10].

1.2.1. Свободные радикалы

Свободные радикалы - это молекулы, атомы или ионы, которые имеют один или несколько не спаренных электронов на последней орбите, что делает их, как правило, очень реакционно-способными, хотя их реакционная способность значительно варьируется [78]. Самой простой формой свободных радикалов является атом водорода, потому что он имеет только один электрон. В живых системах существует ряд свободных радикалов, некоторые из которых играют положительную роль и участвуют в процессах передачи сигнала, тогда как другие вызывают повреждение макромолекул и разрушение биологических систем, хотя их влияние зависит от их концентрации. Свободные радикалы могут образовываться путем присоединения электронов к нерадикальным формам с образованием анион-радикалов, радикалов, которые заряжены отрицательно (электроны являются носителями отрицательного заряда):

$X + e^- \rightarrow X^{\bullet -}$,

или потерb одного электрона с образованием радикальных катионов, которые имеют избыток положительного заряда:

$X - e^- \rightarrow X^{\bullet +}$

Одним из способов образования свободных радикалов является разрыв ковалентной связи, когда каждый из атомов сохраняет один электрон из общей пары электронов, так называемое гомолитическое деление.

$A : B \rightarrow A^{\bullet} + B^{\bullet}$

Примером гомолитического деления является разрыв связи между двумя молекулами кислорода в перекиси водорода (H_2O_2) ультрафиолетовым (УФ) излучением с образованием гидроксильных радикалов ($OH^{\bullet}$) или расщепление молекул воды с образованием водородного радикала ($H^{\bullet}$) и гидроксила радикал ($OH^{\bullet}$) [58, 173].

В отличие от гомолитического деления, во время гетеролитического деления один из атомов сохраняет оба электрона и становится отрицательно заряженным, а другой становится положительно заряженным:

$A : B \rightarrow A^{+} + B^{-}$

В результате гидролитического деления воды образуются ионы водорода (ион водорода, H^{+}) и гидроксид (или, как его часто называют, гидроксил) ион (OH^{-}).

Эволюция свободных радикалов может быть разделена практически на три фазы: фаза инициации, фаза распространения и фаза терминации.

- фаза инициации включает добавление или вычитание электрона к нерадикальным формам, в результате чего их физические и химические характеристики изменяются и становятся значительно более реактивными;
- фаза распространения включает период, в течение которого полученный свободный радикал реагирует с окружающими молекулами (молекулой-мишенью) и принимает один электрон, в результате чего он достигает стабильного состояния, но молекула-мишень становится свободным радикалом. Получающиеся в результате свободные радикалы далее взаимодействуют с окружающими молекулами, вызывая образование новых свободных радикалов, тем самым увеличивая количество свободных радикалов за короткий период;
- во время фазы терминации свободные радикалы нейтрализуются действием ферментативных и неферментативных компонентов антиоксидантной системы.

Таблица 2 - Виды свободных радикалов

Активные формы кислорода (АФК)	
Радикалы	**Нерадикалы**
Супероксидный анион радикал - $O_2^{\bullet-}$	Перекись водорода - H_2O_2
Гидроксильный радикал - $OH^{\bullet}$	Гипохлорная кислота - HOCl
Пероксидный радикал - $ROO^{\bullet}$	Озон - O_3
Алкоксильный радикал - $RO^{\bullet}$	Синглетный кислород - $^1O_2$
Гидропероксильный радикал - $HOO^{\bullet}$	
Активные виды азота - RNS	
Радикалы	**Нерадикалы**
Азот-моноксидный радикал - $NO^{\bullet}$	Азот-диоксидный анион - NO_2^-
Азот-диоксидный радикал - $NO_2^{\bullet}$	Азот-триоксид - N_2O_3
	Ион нитрония - NO_2^+
	Пероксинитрит - $OONO^-$
	Алкил пероксинитрита - ROONO
	Анион нитроксила - NO^-
	Катион нитрозила - NO^+
	Нитрил хлорид - NO_2Cl
Активные виды углерода - RCS	
Алкильный радикал - $R^{\bullet}$	
Алкоксильный радикал - $RO^{\bullet}$	
Пероксильный радикал - $ROO^{\bullet}$	
Активные виды серы - RSS	
Тиол радикал - $RS^{\bullet}$	
Глутатион радикал - $GS^{\bullet}$	
Диглутатион-дисульфид анион радикал - $GSSG^{\bullet-}$	

В биологических системах имеется много свободных радикалов, но, безусловно, наиболее значительными являются свободные радикалы кислорода

или АФК (R*eactive Oxygen Species* - ROS), а также свободные радикалы азота (виды активного азота - *Reactive Nitrogen Species* - RNS) и активные формы углерода (*Reactive Carbon Species* -RCS) и активные формы серы (*Reactive Sulfur Species* - RSS) (Таблица 2) [162].

1.2.2. Свободные радикалы и сердечно-сосудистая система

Производство и устранение АФК/RNS в сердце зависит от ферментов, участвующих в их синтезе и соответствующих антиоксидантных систем, и происходит главным образом в митохондриях, саркоплазматической сети в сарколемме [187]. Во всех клетках, включая кардиомиоциты, продуцирование свободных радикалов в физиологических условиях происходит преимущественно в митохондриях в процессе окислительного фосфорилирования, то есть во время синтеза АТФ. В миоцитах митохондрии занимают от 30% до 40% объема и синтезируют более 90% АТФ. Из-за большого количества антиоксидантных ферментов в митохондриях (таких как супероксиддисмутаза - СОД) наибольшее количество свободных радикалов превращается в пероксид водорода (H_2O_2), который впоследствии восстанавливается под действием различных пероксидаз до воды [60, 91]. H_2O_2 может диффундировать из митохондрий в цитоплазму, где она участвует в редокс-зависимой сигнальной трансдукции. В условиях повышенной выработки АФК в митохондриях фрагмент H_2O_2 превращается в высокореактивный гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$) в реакции Фентона.

В дополнение к митохондриям в саркоплазматической сети и сарколемме также образуются свободные радикалы. В саркоплазматической сети, помимо АФК, таких как супероксидный анионный радикал ($O_2^{\bullet-}$) и H_2O_2, есть также оксид азота (NO), который принадлежит к RNS. Ферменты, участвующие в синтезе этих молекул, взаимосвязаны, и, таким образом, активность фермента нейрональной синтазы оксида азота (nNOS или NOS1), который катализирует синтез NO, в физиологических условиях снижает активность фермента ксантиноксидоредуктазы (XOR), который катализирует синтез $O_2^{\bullet-}$, сохраняя

концентрацию $O_2^{\bullet-}$ на низком уровне [84, 93]. Основным источником $O_2^{\bullet-}$ в сарколемме является фермент NADPH оксидаза 2 (NOX2), который восстанавливает O_2 до $O_2^{\bullet-}$, который выводится из клетки, где он быстро подвергается дисмутации ферментом СОД, продуцируя H_2O_2 [94, 163, 190].

$O_2^{\bullet-}$ образующийся в сарколемме и саркоплазматической сети может вступать в реакцию с NO с образованием чуть менее реактивного радикала пероксинитрита ($ONOO^-$) или путем дисмутации под действием цитоплазматической формы СОД (Cu/ZnСОД, СОД1) с образованием H_2O_2. $ONOO^-$ дополнительно нейтрализуется реакциями с NO, CO_2, мочевой кислотой или восстановленным глутатионом, в то время как полученный H_2O_2 восстанавливается под действием пероксиредоксина (тиоредоксин пероксидаза, Prx) или пероксидазы, которая участвует в метаболизме глутатиона [97, 187].

В дополнение к nNOS в миокарде есть эндотелиальная синтаза оксида азота (eNOS, NOS3), и оба этих фермента представлены в сердце. Эти ферменты в основном локализуются в сарколемме и мембране саркоплазматического ретикулума, хотя их локализация может менятся при воздействии различных стимулов [149].

В физиологических условиях АФК/RNS участвуют в регуляции сердечной функции. Тип окислительно-восстановительных биомолекул, участвующих в индивидуальных регуляторных процессах, зависит от нескольких факторов, таких как окислительно-восстановительный потенциал биомолекул (имеет один или два неспаренных электрона), период полураспада окислительно-восстановительных биомолекул и окислительно-восстановительный потенциал окружающей среды. Эти факторы влияют на количество молекул-мишеней, на которые могут воздействовать окислительно-восстановительные биомолекулы, расстояние, на котором они могут оказывать свое влияние, и тип модификации, которую может оказывать конкретная биомолекула АФК/RNS [187].

Окисляющие агенты оказывают свое биологическое действие путем обратимой модификации белка, особенно аминокислот, содержащих серу (цистеин или метионин). Обратные модификации цистеина включают в себя β-

нитрозилирование, реакции β-сульфенилирования и образование дисульфидных связей, либо между двумя молекулами цистеина, либо между цистеином и глутатионом (S-глутатионилирование). Эти модификации изменяют функцию пораженного белка, независимо от того, становится ли этот белок функциональным или его функциональность уменьшается или нарушается, а также могут служить для защиты белка от стойкого окислительного повреждения [149, 187]. Окислительно-восстановительные биомолекулы могут участвовать в передаче сигнала от одной части клеток к другой несколькими способами: воздействуя на редокс-чувствительные факторы транскрипции, транснитрозиляцией белков или воздействуя на другие сигнальные молекулы, такие как фосфатазы или киназы [108].

В дополнение к вышеупомянутой физиологической роли биомолекул АФК/RNS, их повышенная продукция, то есть окислительный стресс, связана с рядом расстройств, среди которых значительную долю составляют нарушения ССС. Атеросклероз, как одно из наиболее важных патологических явлений современности, со многими осложнениями, которые он вызывает, напрямую связан с окислительным стрессом [1, 11], то есть с метаболизмом окисленных ЛПНП [57]. Нарушения сердечного ритма, такие как мерцательная аритмия, также связаны с окислительным стрессом [16, 94, 139].

1.3. Ишемическо-реперфузионное повреждение

Термин ишемия впервые был использован в начале девятнадцатого века для описания недостаточного поступления крови в ткань из-за обструкции артериального протока. Таким образом, в течение почти двух столетий интенсивных исследований врачи стремились лучше понять механизмы повреждения тканей во время ишемии, надеясь, что разработать терапевтические методы для улучшения кровотока через ткани и, таким образом, уменьшить ущерб, вызванный ишемией. Опубликованные результаты были впечатляющими и внесли значительный вклад в лучшее понимание молекулярных, клеточных,

тканеспецифических и системных процессов, возникающих во время ишемии [191]. Раннее установление кровотока через ишемические зоны с помощью тромболитической терапии или первичной чрескожной ангиопластики коронарной артерии является немедленной терапевтической стратегией, которая имеет большое значение для уменьшения размера инфаркта миокарда [43]. Тем не менее, хотя создание повторного кровотока (реперфузии) в ткани, пораженной ишемией, необходимо для предотвращения необратимого повреждения клеток, сама реперфузия может парадоксальным образом усугубить повреждение ткани, вызванное гипоксическим стрессом [155]. Это явление называется ишемически-реперфузионным повреждением (И/Р повреждение) и в настоящее время исследуется многими учеными.

1.3.1. Патофизиологические аспекты ишемически-реперфузионного повреждения

Чтобы смягчить эффекты чрезмерного накопления ионов водорода, насос Na^+/H^+ имеет тенденцию выбрасывать как можно больше ионов H^+, что приводит к увеличению количества ионов Na^+, попадающих в клетку [51]. Из-за сниженного клеточного окислительного фосфорилирования, возникающего в период ишемии, ингибируется активность Na^+/K^+-АТФ-азы, тем самым блокируя синтез богатых энергией фосфатов, аденозин-5'-трифосфата (АТФ) и фосфокреатина. Кроме того, катаболизм аденина во время ишемии приводит к внутриклеточному накоплению гипоксантинов, которые затем превращаются в токсичные АФК [155]. В дополнение к влиянию на активность Na+/K+ АТФ-азы, ишемия уменьшает выход ионов Ca^{2+} из клетки, ингибирует его обратный захват эндоплазматическим ретикулумом, что приводит к чрезмерному накоплению ионов Ca^{2+} в клетке. В сердце эти клеточные изменения сопровождаются активацией внутриклеточных протеаз, которые повреждают миофибриллы. Эти изменения и, следовательно, степень повреждения тканей варьируются в зависимости от степени снижения кровотока и продолжительности ишемического

периода. Таким образом, снижение выработки и усиление деградации АТФ, нарушение ионного гомеостаза, образование АФК и высвобождение проапоптотических белков являются ключевыми факторами формирования необратимого повреждения при ишемии [39, 51].

Внутри эндотелия ишемия вызывает повышенную экспрессию провоспалительных генных (молекулы адгезии лейкоцитов и цитокинов) и биоактивных (эндотелин и тромбоксан А2) медиаторов. С другой стороны, снижается производство «защитных» генных медиаторов, таких как тромбомодулин, простациклины и оксид азота. Соответственно, ишемия вызывает провоспалительное состояние, которое повышает чувствительность тканей во время реперфузии, вызывая еще большее повреждение, чем то, которое было до нее [86, 155].

Хотя экстренная реперфузия, с одной стороны, восстанавливает снабжение кислородом и субстратами, необходимыми для синтеза АТФ, и нормализует внеклеточный pH путем выброса накопленных ионов H^+, реперфузия, с другой стороны, оказывает вредное воздействие на ткани. Однако установление реперфузии уменьшает размер инфаркта на 50%, и считается, что неблагоприятные последствия этого явления можно объяснить ее стадиями [195]. Механизмы, объясняющие реперфузионное повреждение тканей, являются сложными и многофакторными и включают в себя:

1. генерацию АФК;
2. накопление ионов Ca^{2+};
3. открытие митохондриальных переходных пор;
4. эндотелиальную дисфункцию;
5. образование протромбогенного фенотипа;
6. выраженный воспалительный ответ [195].

1.3.2. Роль АФК в возникновении ишемически-реперфузионного повреждения

Реперфузия ишемической ткани приводит к образованию токсичных видов кислорода, которые включают гипохлорную кислоту (HOCl), , гидроксильный радикал ($OH^{\bullet}$), супероксидный анионный радикал ($O2^{\bullet-}$), перекись водорода (H_2O_2) и пероксинитрит из оксида азота [3], которые являются сильными окислителями, которые вызывают повреждение клеточной мембраны в процессе перекисного окисления липидов [175]. Кроме того, АФК стимулирует активацию лейкоцитов и хемотаксис, активируя образование фосфолипазы арахидоновой кислоты А2, важного предшественника для синтеза эйкозаноидов (тромбоксан А2 и лейкотриен В4), что приводит к воспалению. Воспалительному процессу также способствует экспрессия генов цитокинов путем активации фактора транскрипции, такого как ядерный фактор kβ [45, 87].

1.3.3. Накопление ионов Ca^{2+}

Одно из объяснений гибели клеток вследствие летального повышения уровня этого иона является его поглощение в клетке митохондриальным носителем, белковой структурой, которая благодаря положительному заряду Ca^{2+} переносит эти ионы в клеточном матриксе. Кроме того, И/Р повреждение способствует повышению уровня цитоплазматического Ca^{2+}, что вызывает патологическую активацию Ca^{2+}/кальмодулин-зависимой протеинкиназы, что также способствует гибели клеток и последующей дисфункции органов [3, 86]. Повышенные уровни ионов Ca^{2+} также активируют семейство цистеиновых протеаз, известных как кальпаины, которые, в свою очередь, уменьшают объем внутриклеточных белков, включая цитоскелетные, эндоплазматические и митохондриальные белки. Фармакологические ингибиторы кальпаина, известные как кальпастатин, играют защитную роль в мозге, сердце и почках. Разрушение

кальпастатина происходит во время И/Р повреждения, в результате чего активируются кальпаины и происходит гибель клеток [24].

1.3.4. Открытие митохондриальных переходных пор

Открытие пор митохондрий во внутренней мембране митохондрий является критическим событием в развитии сердечной смерти в ответ на И/Р повреждение. Вследствие ингибирования, при низких значениях pH, митохондриальные поры остаются в покое во время ишемии. Однако после реперфузии внезапно повышается уровень Ca^{2+} в митохондриях вместе с АФК и происходит открытие пор. При пропускании ионов H^{+} внутрь клеточного матрикса происходит ингибирование синтеза АТФ, в то время как вода через осмотический градиент проходит через митохондрии, заставляя их набухать и взрываться [25, 79].

1.3.5. Факторы риска и клинические проявления ишемическо-реперфузионного повреждения

Большинство ишемических эпизодов, наблюдаемых в клинической практике, связаны с тромбоэмболической или артериотромботической окклюзионной болезнью. К некоторым из факторов риска относятся мужской возраст и наследственные факторы. Тем не менее, другие важные факторы риска могут быть изменены или контролироваться, включая курение, гиперлипидемию, гипертонию, отсутствие физической активности, ожирение, метаболический синдром и сахарный диабет. Считается также, что потребление алкоголя увеличивает риск инфаркта миокарда [86]. Клинические проявления И/Р повреждения различны и варьируют от преходящей реперфузионной аритмии до развития мультисистемной дисфункции органов с летальным исходом. Хотя реакция на И/Р повреждение значительно различается у разных людей, присутствие таких факторов риска, как гиперхолестеринемия, гипертония или

диабет, еще больше повышает уязвимость микроциркуляторного русла к неблагоприятным воздействиям И/Р повреждения [195].

Хотя многие терапевтические стратегии, применяемые в клинических, экспериментальных моделях, успешно уменьшают или ограничивают повреждение тканей во время И/Р повреждения, неоднозначные результаты были получены в клинических испытаниях на людях. Своевременная реперфузия ишемической области все еще считается краеугольным камнем в предотвращении повреждения тканей из-за этого явления. Адаптация и реализация этих стратегий в клинической практике станет важным достижением в области кардиологии с целью снижения частоты возникновения острого инфаркта миокарда и предотвращения его возникновения во время операции на сердце.

1.4. Феномен прекондиционирования

Учитывая высокую заболеваемость ишемической болезнью сердца как в развитых, так и в развивающихся странах, все больше и больше усилий прилагается к стратегиям и механизмам, направленным на уменьшение повреждения сердечной ткани, которое возникает в результате ишемии и/или реперфузии, и, следовательно, для увеличения шансов на выживание и снижение инвалидности. Несмотря на интенсивные исследования и определенные положительные достижения, до сих пор нет удовлетворительного механизма или фармакологического агента, который удовлетворительно сохранял бы миокард во время ишемии, а также предотвращал бы реперфузионное повреждение. Патофизиологические исследования подтвердили взаимосвязь между эндотелиальной дисфункцией и ишемией тканей. В частности, известно, что эндотелиальная дисфункция играет ключевую роль в прогрессировании и обострении коронарного атеросклероза, но также и тот факт, что эндотелий чрезвычайно чувствителен к ишемии и реперфузии.

Отдаленное ишемическое кондиционирование (Remote Ischemic Conditioning) – представляет собой один из способов с помощью которого

достигается кардиопротекция с помощью нескольких защитных механизмов [79]. Периферические сигналы, которые опосредуют кардиопротекцию или защиту какой-либо другой ткани или органа, могут быть гуморальными или нервными, а протекция может быть осуществлена даже между видами, например, путем инъекции плазменного диализата [79]. Гуморальными факторами, обеспечивающими защиту, являются оксид азота (NO), SDF-1 (Stromal Derived Factor-1α), микроРНК-144 (microribonucleic acid-144), а также ряд других медиаторов, которые еще не были обнаружены и описаны [79]. Чрескожная транслюминальная коронарная ангиопластика стала методом выбора при лечении острого инфаркта миокарда, что привело к снижению ишемии и повторной проходимости кровеносного сосуда, но реперфузионное повреждение остается неразрешимой проблемой. В исследовании, проведенном Rentoukas et al., было показано, что введение удаленного ишемического кондиционирования значительно снижает реперфузионное повреждение после перенесенных коронарных вмешательств [150]. Аналогичные эффекты отдаленного ишемического прекондиционирования были продемонстрированы в аналогичном исследовании, где наблюдались значения тропонина I и частоты инфаркта миокарда через 16 часов после чрескожной коронарной ангиопластики [109]. В исследование были включены 205 пациентов с нормальными значениями тропонина I. Пациенты были разделены на две группы: группу пациентов, у которых перед установкой стента проводилось отдаленное ишемическое прекондиционирование, а также контрольную группу пациентов, которым был имплантирован стент, но без предварительного перекондинирования. В группе, где было выполнено отдаленное ишемическое прекондиционирование значений тропонина I, были значительно ниже, как и частота инфаркта миокарда через 16 часов после вмешательства [109].

Механизмы защиты, участвующие в прекондиционировании, до сих пор недостаточно известны, и серия исследований направлена на дальнейшее освещение и разъяснение фактов, которые позволили бы полностью понять это явление. Принимая во внимание, что целью этого исследования является

изучение защитных эффектов фармакологических агентов на сердце, мы дополнительно проясним известные до сих пор способы прекондиционирования и механизмов, с помощью которых достигается защитный эффект.

1.4.1. Прекондиционирование миокарда ишемией

Ишемическое кондиционирование миокарда включает инициирование протективных механизмов через множественные краткосрочные периоды ишемии и реперфузии, предшествующие длительной ишемии и последующей реперфузии, или в самом начале реперфузии. Результаты ряда экспериментальных исследований показали значительный потенциал защиты от ишемического кондиционирования и множественные молекулярные механизмы, с помощью которых достигается желаемый защитный эффект.

Один из сигнальных путей включает PI3 – киназу (PI3-фосфатидилинозитол 3). Было показано, что ишемическое прекондиционирование предотвращает индуцированную антрациклином кардиотоксичность именно посредством PI3-киназы [132]. А именно, введение специфического ингибитора PI3-киназы (LY294002) предотвращало защитное действие ишемического прекондиционирования, тогда как введение ингибитора MAPK/ERK1/2 (MAPK – митоген – активируемая протеинкиназа; ERK-киназа, регулируемая внеклеточным сигналом) не оказывало влияния на протекание, достигаемое ишемическим прекондиционированием, как и введение антиоксидантов [132].

Swiprosin-1 представляет собой одну из новых молекул, которые вошли в сферу научного интереса в отношении опосредования изменений, вызванных ишемией и реперфузией. Экспрессия молекулы swiprosin-1 ранее была продемонстрирована на лимфоцитах, B-клетках, тучных клетках, T-клетках, подоцитах, а также на кардиомиоцитах [64]. Swiprosin-1 в кардиомиоцитах играет роль в формировании отростков, подобных псевдоподиям, в качестве адаптивного ответа и приспособления кардиомиоцитов к росту в клеточной культуре. На экспериментальной модели инфаркта сердца мыши было показано, что

экспрессия иРНК для swiprosin-1 значительно увеличивается через 7 дней после ишемии и реперфузии [64]. Однако экспрессия иРНК для swiprosin-1 в сердцах, предварительно подвергшихся ишемическому прекондиционированию или посткондиционированию, была значительно ниже. Экспрессия иРНК для swiprosin-1 напрямую коррелирует с повреждением миокарда и индукцией репаративных процессов, и поскольку ишемическое кондиционирование уменьшает повреждение миокарда, следовательно, экспрессия иРНК для swiprosin-1 снижается [64].

Активные формы кислорода (АФК) и азота (АФА) составляют ключевой патофизиологический фактор, определяющий тяжесть ишемически-реперфузионного повреждения миокарда [52]. АФК и АФА вызывают как прямое повреждение клеток, так и нарушение функции различных киназ и сигнальных путей, которые регулируют обмен кальция, воспаление и ремоделирование миокарда. Наибольшее количество АФК генерируется в начале реперфузии, тогда как относительно небольшое количество образуется во время ишемии. Основным признаком ишемии является дефицит O_2, а также других метаболических субстратов, что приводит к метаболическим нарушениям, изменениям проницаемости клеточной мембраны и ионных каналов и истощению АТФ. С другой стороны, в начале реперфузии возникает оксидативный стресс , резкое увеличение продукции АФК и АФА как в митохондриях, так и в активности ксантин оксидазы и НАДФН оксидаз [52]. Сердце может быть защищено от летальной ишемии и реперфузии кратковременными эпизодами ишемии и реперфузии, либо до начала длительной ишемии – ишемического прекондиционирования, либо после длительной ишемии – ишемического посткондиционирования. Результаты предыдущих исследований указывают на ключевую роль АФК в активации протективных механизмов во время ишемического кондиционирования. А именно, АФК, высвобождаемые из митохондрий во время ишемического кондиционирования, вызывают активацию цитопротективных протеинкиназ, таких как Akt (серин/треонин-специфическая протеинкиназа или протеинкиназа B) и ERK1/2, тиоловые регуляторные

механизмы или активация антиоксидантных ферментов, при этом снижается летальный эффект внезапного увеличения продукции АФК при реперфузии [52].

Важно отметить, что ишемический стимул во время кондиционирования длится достаточно долго для достижения желаемого защитного эффекта. Было подсчитано, что продолжительность ишемии при прекондиционировании на модели сердца грызунов составляет от 2 до 5 минут, а на каридомиоцитах человека-около 1,5 минут.

1.4.2. Механизм ишемического прекондиционирования

Как отмечалось ранее, роль ряда молекулярных механизмов, опосредующих протективные эффекты ишемического кондиционирования были подтверждены, и, по-видимому, ключевую роль играют свободнорадикальные процессы [52]. Анализ предыдущих исследований показал, что существует сложная сеть молекул, которые взаимодействуют друг с другом при реализации кардиопротекции при ишемическом кондиционировании.

В дополнение к ранее упомянутым [52], одним из механизмов, которые считаются очень важными для реализации кардиозащиты при ишемическом кондиционировании, является STAT3 (англ. Signal Transducer and Activator of Transcription 3) [78]. Защитные эффекты STAT3 подразумевают его геномный эффект в качестве транскрипционного фактора, который увеличивает экспрессию антиоксидантных, антиапоптотических и проангиогенных генов. Важность STAT3 в кардиопротекции была подтверждена в экспериментальной модели на мышах с кардиоспецифической делецией(eng . knock out - KO). У STAT3 KO мышей кардиозащитные эффекты, вызванные ишемическим прекондиционированием, исчезалы [34]. У этих мышей отсутствовало увеличение экспрессии антиапоптотических (Bcl-xL, c-FLIPL, Mcl-1 и c-FLIPS) и кардиозащитных (HO-1 и COX-2) белков [34].

Окись азота (NO) как ключевой регулятор сердечно-сосудистой системы и клеточного дыхания, несомненно, играет очень важную роль в процессе

кондиционирования миокарда. Увеличение продукции NO представляет собой один из ключевых защитных механизмов ишемического посткондиционирования [186]. Важным медиатором, способствующим кардиопротекции в диабетических сердцах, является адипонектин, белок, синтезируемый адипоцитами, который проявляет антидиабетогенные и противовоспалительные свойства. Адипонектин в диабетических сердцах увеличивает выработку NO и обеспечивает лучший кардиозащитный эффект ишемического посткондиционирования. Также было показано, что прекондиционирование человеческих кардиомиоцитов нитритом, как донором NO, значительно увеличивает выживаемость кардиомиоцитов в условиях гипоксии и реоксигенации [88].

Важность NO также подтверждается тем фактом, что острый инфаркт миокарда сопровождается эндотелиальной дисфунцией коронарных сосудов и, следовательно, нарушенным синтезом сосудорасширяющих молекул, среди которых находится и NO [78]. Уменьшению доступного NO также способствует усиленный синтез супероксид-анионного радикала ($O2^{\bullet}$–), который реагирует с NO, при этом образуется пероксинитрит (ONOO–) . Пероксинитрит - один из наиболее реактивных видов, который дополнительно способствует повреждению сердечной ткани [78]. ONOO-вызывает разделение субъединиц синтазы оксида азота (NO synthase - NOS), в результате чего синтез $O2^{\bullet}$–дополнительно увеличивается. Все вместе это вызывает увеличение адгезии лейкоцитов и способствует индукции воспаления [78].

1.4.3. Фармакологическая подготовка

В дополнение к различным методикам ишемического кондиционирования большое научное внимание было уделено эффективности различных фармакологических агентов и защиты сердца во время ишемии и реперфузии. Нацеливание на различные сигнальные пути обеспечивает кардиопротекцию посредством активации различных протеинкиназ, снижения продукции АФК или их более успешного устранения или других механизмов.

Было показано, что повышенная активация блуждающего нерва достигает аналогичного защитного эффекта по сравнению с ишемическим кондиционированием. Также было показано, что кардиомиоциты могут синтезировать ацетилхолин. Таким образом, активация рецепторов ацетилхолина, которые могут быть мускариновыми или никотиновыми, уменьшает повреждение миокарда во время ишемии и реперфузии [81]. Активация мускариновых рецепторов ацетилхолина приводит к ингибированию аденилатциклазы, снижению продукции циклического аденозинмонофосфата (цАМФ) и снижению апоптоза, вызванного стрессом эндоплазматического ретикулума [150]. С другой стороны, активация мускариновых ацетилхолиновых рецепторов приводит к увеличению активности NOS, увеличению биодоступности NO и увеличению синтеза циклического гуанозинмонофосфата (цГМФ). Увеличение концентрации цГМФ вызывает сохранение миокарда опосредованное цГМР-зависимой протеинкиназы типа I и митохондриальных каналов BK. Активация никотиновых рецепторов в сердце также способствует кардиопротекции, прежде всего, проявляя противовоспалительный эффект.

Агонист рецептора фосфата сфингозина-1, финголимод, проявляет кардиозащитные свойства на модели острого инфаркта миокарда, индуцированного in vivo у свиней [151]. Введение финголимода перед индукцией миокарда с использованием баллонной окклюзии левой десцедентной коронарной артерии значительно уменьшило размер инфаркта, улучшило функцию левого желудочка, уменьшило ремоделирование и фиброз миокарда. Кроме того, введение финголимода снижало хроническую активацию Akt и ERK1/2 в ткани, не пораженной инфарктом.

Важность ранее упомянутых митохондриальных BK-каналов в реализации ишемического кондиционирования была подтверждена на кардиомиоцитах, в которых отсутствуют BK-каналы [159]. В таких кардиомиоцитах наблюдается нарушение регуляции Ca^{2+} и повышенная продукция АФК.

Относительно новая цель в фармакологическом кондиционировании сердца являются EphrinA2 рецепторы. Было показано, что посткондиционирование

сердца доксазозином, агонистом рецептора EphrinA2, вызывает кардиопротекцию на модели ишемии и реперфузии в сердце крысы, ретроградно перфузированной методом Лангендорфа [84]. Напротив, прекондиционирование литохолевой кислотой в качестве антагониста рецептора EphrinA2 отменяет кардиозащитные эффекты посткондиционирования [84].

Учитывая все вышеперечисленное, факторы внутриклеточных взаимодействий представляют собой мощный механизм кардиопротекции [123]. Весь спектр молекул и сигнальных путей играет роль в реализации защитных эффектов в сердце. Не изученность всех действующих молекул в сигнальных путях, а также отсутствие полного представления роли некоторых молекул в метаболических путях в сердце может быть причиной отсутствия желаемого и ожидаемого кардиозащитного эффекта некоторых молекул-мишени.

ГЛАВА 2. МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1. Экспериментальная модель исследования

В экспериментах, выполненных в этом исследовании, была использована модель ретроградной перфузии изолированного сердца млекопитающего по Лангендорфу при постоянном перфузионном давлении, созданная немецким физиологом Оскаром Лангендорфом (*Oskar Langendorff*, 1853-1908).

2.1.1. Модели ретроградной перфузии: перфузия с постоянным давлением и перфузия с постоянным потоком

Существует две модели ретроградной перфузии сердца: перфузия с постоянным давлением и перфузия с постоянным потоком. В обоих случаях второе значение является переменным, то есть при постоянном давлении отслеживается изменение потока, а при постоянном потоке контролируется изменение давления. Изменение потока при данном постоянном перфузионном давлении регистрируется либо с помощью флоуметра, либо путем сбора жидкости из венозных сосудов сердца через определенные промежутки времени, в то время как изменения давления при данном постоянном перфузионном давлении регистрируются на принтере с помощью соответствующих преобразователей. В обеих экспериментальных моделях перфузии сердца оцениваются средние уровни переменной величины [3].

В ходе экспериментов в данном исследовании использовался метод изолированного сердца по Лангендорфу при постоянном давлении (70 см H_2O). Постоянное перфузионное давление достигается путем поддержания гидростатического давления, при котором перфузионный раствор поступает в коронарные кровеносные сосуды на соответствующем уровне. Более новые методы включают использование перфузионных насосов, которые обеспечивают переход от одной модели перфузии к другой.

Все контролируемые параметры принимаются как среднее значение, учитывая, что абсолютные значения нельзя считать полностью надежными так как они постоянно меняются в небольшом диапазоне. Причина такой изменчивости заключается в самой природе работы сердца (различная продолжительность систолы и диастолы и постоянная вариабельность сердечного ритма), а также в условиях окружающей среды (минимальные изменения температуры перфузионного раствора).

Отношение давления и потока в экспериментальной модели, использованной в данном исследовании, определялась как:

$$p = const/поток = l/radius$$

Преимущества перфузионной модели постоянного давления, использованной в данном исследовании, по сравнению с моделью постоянного потока, прежде всего, заключаются в простоте используемой модели, а также в более физиологичном подходе, при котором перфузионная жидкость поступает в коронарные артерии при постоянном давлении. Также этот метод позволяет исследовать сосудистую ауторегуляцию тонуса коронарных сосудов и патогенез изменений, возникающих в результате индукции глобальной или региональной ишемии и реперфузии [26, 53].

2.1.2. Langendorff аппарат LF-01 F-P

Эксперименты в этом исследовании проводились на аппарате Лангендорфа марки LF-01 F-P производства Experimetria Ltd, Будапешт, Венгрия.

Указанный аппарат состоит из следующих компонентов [3]:

1. Две вертикальные стеклянные трубки одинаковой высоты и разного диаметра, при это труба меньшего диаметра находится в трубе большего диаметра. Между этими трубками течет вода, которая нагревается до нужной температуры в водяной бане. В просвете трубки меньшего размера методом отрицательного давления впрыска находится сложный солевой раствор (раствор Крепса-Хенселейта). Вода, циркулирующая между двумя трубами, нагревает раствор в

просвете трубки меньшего размера, так что температура раствора на выходе из системы труб составляет 37°C, то есть до оптимальной температуры тела. Внутри трубки меньшего диаметра находится тонкая стеклянная трубка, вертикальное смещение которой регулирует гидростатическое давление, при котором раствор попадает в коронарные сосуды. Эта тонкая стеклянная трубка соединена с резервуаром, в который через нее возвращается избыток перфузионного раствора. Трубка меньшего диаметра заканчивается выходом, в который помещается препарат изолированного сердца;

2. резервуара, содержащего сложный раствор Крепса-Хенселейта (КХ) и соединенного с насосом, который непрерывно переносит раствор в трубку меньшего радиуса и в небольшую стеклянную трубку, через которую избыточный раствор из трубки меньшего диаметра возвращается в резервуар. Резервуар также соединен с бутылкой, содержащей смесь O_2 и CO_2.

3. бутылки, содержащие смесь O_2 и CO_2 в отношении 95%: 5%, и соединенные с резервуаром, содержащим раствор КХ. Газификация раствора КХ обеспечивает парциальное давление O_2 и CO_2 в растворе, которое эквивалентно парциальному давлению O_2 и CO_2 в артериальной крови;

4. канюли, через которую соединяется выходящая трубка с восходящей аортой изолированного сердца крысы;

5. водяной бани, которая нагревает воду, протекающую между трубой большего и меньшего диаметра, что позволяет постоянно поддерживать температуру раствора КХ на оптимальном уровне (37°C; изотермическое);

6. инфузионных насосов, в которых исследуемое вещество наносится на стык канюли и восходящей аорты с соответствующей скоростью (зависит от базального КП);

7. датчика-преобразователя, подключенного с одной стороны к разным структурам изолированного сердца, а с другой - к компьютеру. Роль сенсора заключается в непрерывной регистрации функции миокарда левого желудочка. На модели аппарата Лангендорфа установлены три датчика:

- датчик (преобразователь BS4 73-0184), соединенный с арочной металлической трубкой, заполненной дистиллированной водой, в верхней части которой находится баллон (диаметр 5 мм, латексная/нейлоновая фольга), также заполненный дистиллированной водой. После разрушения митральных клапанов этот баллон вставляется в левый желудочек, что позволяет датчику напрямую регистрировать давление и ЧСС в этой полости сердца.
- датчик, который непрерывно регистрирует давление, при котором перфузионный раствор поступает в аорту (датчик перфузионного давления). В исследовании с помощью этого датчика контролировали среднее перфузионное давление в аорте - MBP (мм рт. ст.).
- датчик, который регистрирует температуру раствора, поступающего в аорту (датчик температуры).

Последние два датчика имеют фиксированную локализацию и не меняют положение во время экспериментов;

8. компьютера с соответствующим программным обеспечением (*Spel Advanced HaemoSys v3.24*)), с помощью которого постоянно отслеживались и записывались кардиодинамические параметры сердечного выброса. Компьютер подключен к датчикам, через которые он получал данные о ЧСС.

Такая экспериментальная модель с использованием датчика, размещенного в левом желудочке, позволяет регистрировать и анализировать следующие кардиодинамические параметры:

1. дп/дт макс, выраженная в мм рт.ст./сек, параметр, отражающий инотропную емкость миокарда;
2. дп/дт мин, выраженная в мм рт.ст./сек, параметр, отражающий изотоническую способность миокарда;
3. СЛВП, выраженное в мм рт.ст.
4. ДЛВП, выраженное в мм рт.ст.
5. ЧСС, выраженная как ЧСС в минуту (уд / мин).

2.2. Экспериментальный протокол

Животных умерщвляют шейной дислокацией (удар затылка о твердую основу) после применения анестезии внутрибрюшинной инъекцией комбинацией кетамина и ксилазина. Сразу после умерщвления выполняется быстрая лапаротомия и предоставляется доступ к диафрагме. Затем диафрагма дугообразно разрезается и открывается доступ к грудной полости и сердцу. При разрезании диафрагмы режутся реберные дуги справа и слева, чтобы обеспечить беспрепятственный доступ к сердцу. Сердце постоянно поливается холодным физиологическим раствором.

Когда доступ к сердцу осуществлен, перикард разрезается, сердце слегка поднимается вверх, и кровеносные сосуды основания сердца пересекаются. Сразу после разрезания крупных кровеносных сосудов и освобождения сердца он погружается в ледяной физиологический раствор (-4°C -10°C). Желаемый эффект погружения сердца в ледяной физиологический раствор заключается в снижении метаболических потребностей сердечной ткани и, следовательно, минимизации повреждения миокарда. Погружение сердца в ледяной физиологический раствор увеличивает временное окно жизнеспособности сердца и дает достаточно времени для подготовки кровеносных сосудов. Все кровеносные сосуды, за исключением асцендентной аорты, удаляются, как и возможный избыток окружающих тканей. Асцендентная аорта прикрепляется к канюле, через которую перфузионный раствор достигает изолированного сердца. Вся процедура, от умерщвления животного до прикрепления аорты к аппарату Лангендорфа и начала ретроградной перфузии, не должна длиться более двух минут.

После размещения сердца на аппарате Лангендорфа и начала ретроградной перфузии левая аурикула удаляется, что позволяет получить доступ к левому предсердию. После этого используя пинцет разрываются митральные клапаны, и, как следствие, давление в левом желудочке падает до нуля и, следовательно, не оказывает никакого влияния на коронарные кровеносные сосуды и на проток через коронарную циркуляцию, а также позволяет разместить датчик в левом

желудочке, который регистрирует кардиодинамические параметры, которые отображают функцию сердца и, прежде всего, левого желудочка.

Датчик, помещенный в левый желудочек, позволяет отслеживать изменения кардиодинамических параметров на протяжении всего эксперимента. Датчик подключен к программному обеспечению, которое позволяет записывать кардиодинамические параметры на протяжении всего эксперимента. Кроме того, программное обеспечение позволяет отмечать отдельные моменты, представляющие интерес в самом эксперименте, или отмечать определенные периоды на протяжении всего эксперимента (Рисунок 4).

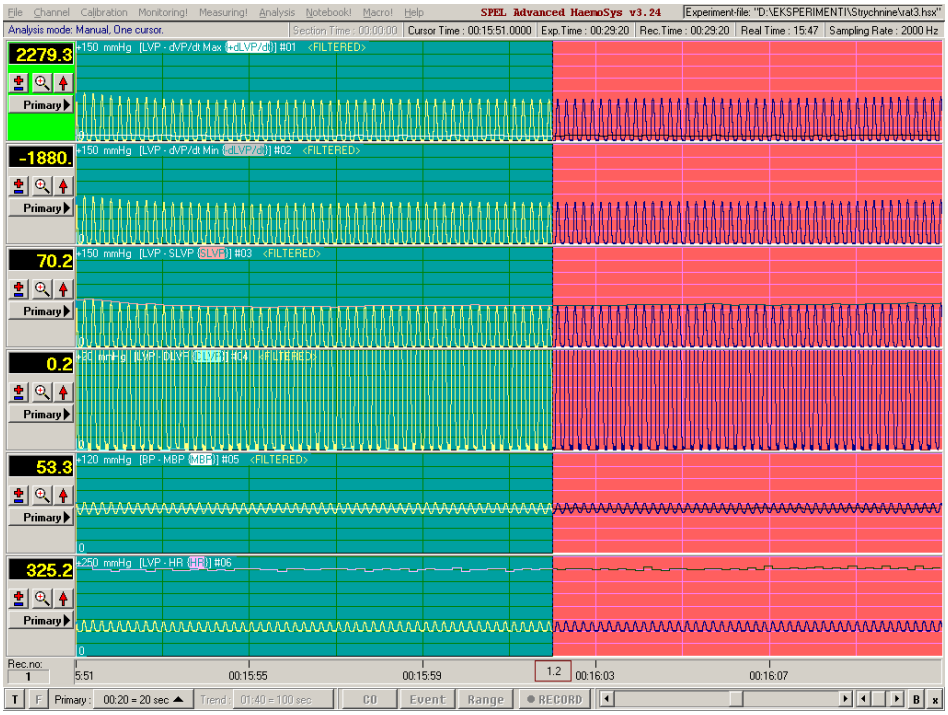

Рисунок 4 - Схема записи программного обеспечения кардиодинамического параметра

После периода стабилизации была индуцирована глобальная ишемия сердца в течение 20 минут с последующей реперфузией в течение 30 минут. В экспериментах с прекондиционированием упомянутые параметры сердечной функции измерялись в определенных интервалах времени: в последнюю минуту стабилизации, в последнюю минуту введения испытуемого вещества, в первую, третью, пятую, десятую, пятнадцатую, двадцатую и тридцатую минуту

реперфузии. В экспериментах с посткондиционированием, представляющие интерес временные отрезки были почти идентичны, при этом отсутствовала только последняя минута введения вещества в прекондиционировании. Образцы перфузата из коронарных сосудов отбирались в одно и то же время для анализа биомаркеров окислительного стресса. Как в экспериментах с прекондиционированием, так и в экспериментах с посткондиционированием экспериментальные вещества, эффекты которых были испытаны, вводили в течение 5 минут.

В исследовании было 9 экспериментальных групп:

1. тестирование эффектов ишемии и реперфузии - контрольная группа;
2. исследование эффектов введения глутамата в прекондиционировании в дозе 100 мкмоль/л;
3. исследование эффектов введения глутамата в посткондиционировании в дозе 100 мкмоль/л;
4. исследование эффектов введения (RS)-(Tetrazol-5-yl)глицина (активатора NMDA-рецепторов) в прекондиционировании в дозе 5 мкмоль/л;
5. исследование эффектов введения (RS)-(Tetrazol-5-yl)глицина (активатора NMDA-рецепторов) в посткондиционировании в дозе 5 мкмоль/л;
6. исследование эффектов введения МК-801 (блокатора NMDA-рецепторов) в прекондиционировании в дозе 20 мкмоль/л;
7. исследование эффектов введения МК-801 (блокатора NMDA-рецепторов) в посткондиционировании в дозе 20 мкмоль/л;
8. исследование эффектов введения мемантина (блокатора NMDA-рецепторов) в прекондиционировании в дозе 100 мкмоль/л;
9. исследование эффектов введения мемантина (блокатора NMDA-рецепторов) в посткондиционировании в дозе 100 мкмоль/л.

2.3. Биохимический анализ

Биохимические анализы проводили, используя перфузат из коронарных сосудов изолированных сердец крыс, собранном в конце контрольного периода, в последнюю минуту применения испытуемого вещества, в первую, третью, пятую, десятую, пятнадцатую, двадцатую и тридцатую минуты реперфузии в экспериментах с прекондиционированием [3, 4]. В экспериментах с посткондиционированием пробы с перфузатом из коронарных сосудов изолированных сердец крыс отбирались практически на одинаковых временных отрезках, исключая последнюю минуту применения вещества в прекондиционировании. Все реактивные молекулы, представляющие интерес для нашего исследования, были измерены спектрофотометрическим методом на спектрофотометре Shimadzu UV-1800, Северная Америка.

2.3.1. Определение индекса перекисного окисления липидов (ИПОЛ-TBARS)

Индекс перекисного окисления липидов определяли косвенно, измеряя продукты реакции перекисного окисления липидов тиобарбитуровой кислотой (TBARS-Thiobarbituric Acid Reactive Substances). Значения TBARS были определены спектрофотометрически в соответствии с ранее опубликованными работами [138].

В пробирку добавляли 800 мкл коронарного венозного перфузата или плазмы (в зависимости от образца) и 200 мкл 1% ТБК, растворенной в 0,05 М NaOH. После этого образцы инкубировали в водяной бане в течение 15 минут при 100°С и при комнатной температуре. Поглотитель определяли на длине волны λ = 530 Нм. В качестве контроля использовали тот же объем раствора КХ (вместо коронарного венозного перфузата).

Концентрация TBARSрассчитывали на основе следующего уравнения:

$$nmol\ TBARS/ml\ образца = \Delta A\ (Au\text{-}Asp)/1.56 \times 1.25,$$

где Au - абсорбент образца, Asp - абсорбент контроля, 1,56 и 1,25 - поправочные коэффициенты.

В отличие от других биомаркеров окислительного стресса, которые были определены в этом исследовании и экспрессируются в nmol, TBARS выражается в мкмоль.

2.3.2. Определение содержания оксида азота

Определение значений нитритов в коронарном венозном оттоке является косвенным методом оценки активности L-аргинин-NO эндотелиальной системы коронарного кровообращения. Учитывая, что освобожденный NO реагирует с O_2 с образованием нитритов (NO2−), в реакции:

NO + ½O2 → NO2-

полученные значения нитритов коррелируют с генерируемым NO.

Спектрофотометрическое определение значений нитритов основано на использовании реактива Грисса [4, 70].

В 1000 мкл коронарного венозного оттока добавляли 250 мкл реагента Грисса, изготовленного ex tempore, и 125 мкл аммиачного буфера (pH=9,0). Реактив Гриссат получают путем смешивания равных объемов 1% сульфанильной кислоты, растворенной в 5% орто-фосфорной кислоты, и 0,1% водного раствора дигидрохлорида N-(1-нафтил)-этилендиамина (NEDA). Аммиачный буфер производится из хлорида аммония (NH4Cl) и тетрабората натрия (Na2B4O7). Для контроля вместо коронарного венозного оттока используется 1000 мкл раствора КХ [4].

Нитриты в образце коронарного венозного оттока определяли по калибровочной кривой, построенной на основе образцов, содержащих известную концентрацию нитритов ($NaNO_2$ в различных концентрациях), которые реагировали с реагентом Грисса в присутствии буфера. После стабилизации красителя в течение 10 минут при комнатной температуре нитриты определяли спектрофотометрически на длине волны λ=550 нм. Нитриты в коронарном

венозном оттоке были получены на основе определения стандартного фактора (F).

2.3.3. Определение содержания супероксидного анион радикала (O_2-)

Измерение количества высвобождаемого супероксид-анионного радикала (O_2^-) в коронарном венозном оттоке основано на реакции O_2^- с нитросиним тетразолий - синоним (Nitro Blue Tetrazolium-NBT) с образованием нитроформазанового синего [21]. Ex tempore, непосредственно перед измерением, создается смесь эссе, содержащая: 50 ммоль TRIS-HCl буфера (pH=8,6), 0,1 ммоль EDTA, 0,1 мг/мл желатина и 0,1 ммоль NBT. 50 мкл коронарного венозного оттока добавляется к 950 мкл смеси эссе. Измерение выполняется на длине волны λ = 550 Нм. В качестве контроля используется соответствующий объем раствора КХ. Абсорбент измеряется три раза при перемешивании пластиковой палочкой. Первое измерение E1, а последнее-E2.

Включение измеренных значений в уравнение дает количество высвобождаемого супероксидного анионного радикала.

2.3.4. Определение перекиси водорода (H_2O_2)

Измерение количества перекиси водорода (H_2O_2) в образцах коронарного венозного оттока было основано на окислении фенольного красного пероскидом водорода в реакции, катализируемой перокисдазой из редиса лошади (HorseRadish PerOxidase - HRPO). В 200 мкл коронарного венозного оттока добавляют 800 мкл раствора фенольного красного (Phenol Red Solution - PRS). Затем в образец добавляли 10 мкл HRPO и образцы инкубировали при комнатной температуре в течение 10 минут. Поглотитель измеряется на длине волны λ=610 Нм [146]. В качестве контроля используется соответствующее количество раствора КХ.

С помощью кривой стендрарда определяется коэффициент поглощения (F) на один нмоль перекиси водорода.

2.4. Статистическая обработка данных

При описании параметров использовали такие показатели как частота, проценты, среднее значение выборки, медиана выборки, стандартное отклонение выборки, ранжирование и доверительные интервалы, равные 95%.

Тесты Колмогорова, Смирнова и Шапиро Вилька использовали для оценки нормальности распределения.

t-критерий Стьюдента, парный t-критерий, критерий Манна-Уитни, точный тест Фишера, однофакторный или двухфакторный дисперсионный анализ использовали с целью выявления различий между параметрами. Поправку Бонферрони использовали при проведении тестирования достоверности разницы между параметрами в случае нескольких подгрупп.

Статистическую обработку полученных данных проводили с использованием статистического пакета SPSS 20.0 для Windows.

При представлении результатов и статистической значимости показана не вся статистическая значимость, но только для определенных сечений, представляющих интерес. Графическое представление результатов экспериментов по прекондиционированию показывает статистическую значимость сравнения значений тестируемых параметров в последнюю минуту стабилизации, в последнюю минуту применения тестируемого вещества и через тридцать минут реперфузии. Графики экспериментов посткондиционирования показывают статистическую значимость сравнения значений тестируемых параметров в последнюю минуту стабилизации, в третью минуту реперфузии (которая также является последней минутой применения тестируемого вещества) и в тридцать минут реперфузии.

ГЛАВА 3. РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

3.1. Значения кардиодинамических параметров изолированного сердца крыс после ишемии и во время репефузии без кондиционирования

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (в уд/мин) и КППР (мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования представлены в Таблице 3.

Таблица 3 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo (контроль)

Контрольная группа без кондиционирования						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2003,8 ± 235,2	-1401,9 ± 99,3	53,4 ± 8,8	5,5 ± 0,6	290,5 ± 8,9	8,5 ± 0,5
Ишемия						
1	2115,8 ± 123,5	-1445,3 ± 73,3	58,1 ± 7,7	5,3 ± 0,4	250,5 ± 25,8*	7,2 ± 0,4*
30	1805,6 ± 78,5	-1140,3 ± 96,5*	40,3 ± 6,3*	4,7 ± 0,2*	225,6 ± 15,4	6,0 ± 0,5

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем

У животных контрольной группы через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: ДЛВП, однако $p>0,05$, ЧСС в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 8), КППР в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 10).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались: дп/дт макс, однако $p>0,05$ (Рисунок 5), дп/дт мин в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 6), СЛВП в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 7), ДЛВП в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 8), ЧСС в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 9) и КППР в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 10).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, которые подвергались двадцатиминутной ишемии без

кондиционирования, не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям во время тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит адекватного их восстановления.

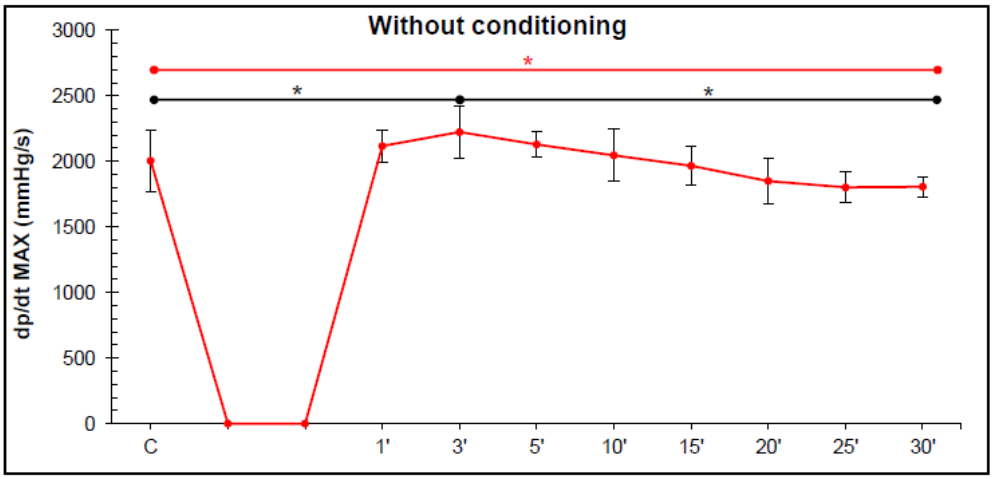

Рисунок 5 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования

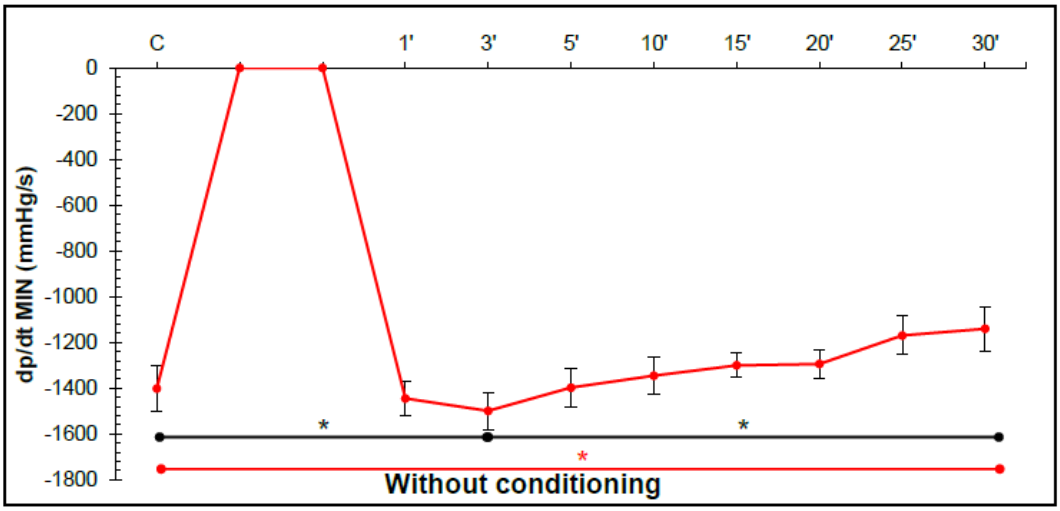

Рисунок 6 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин , в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования

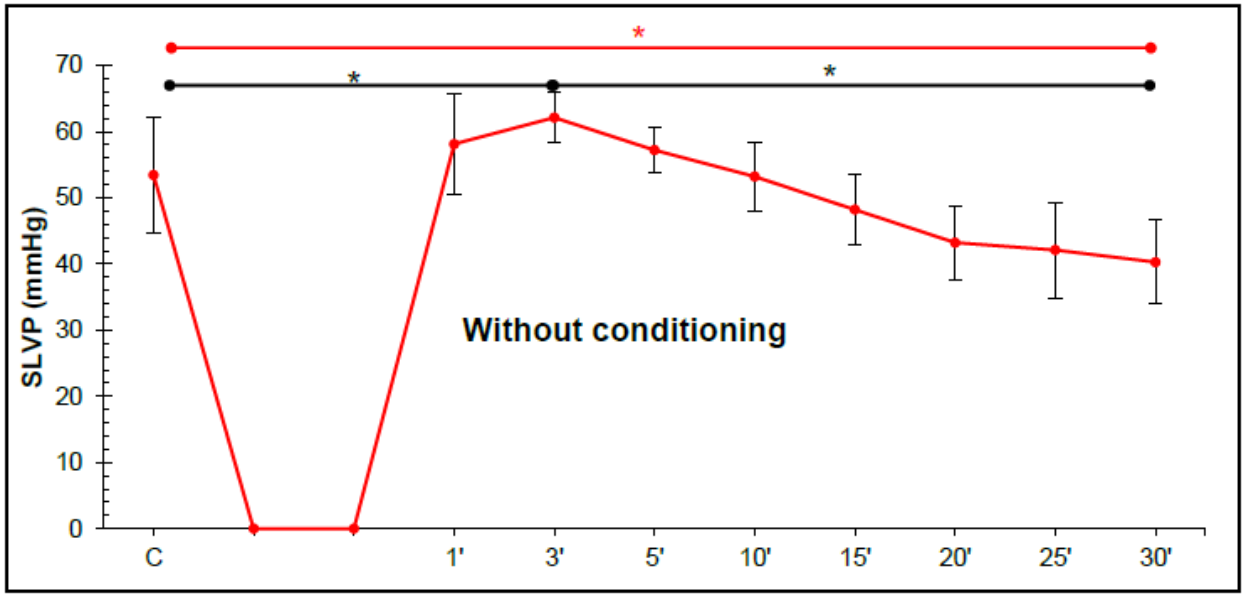

Рисунок 7 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования

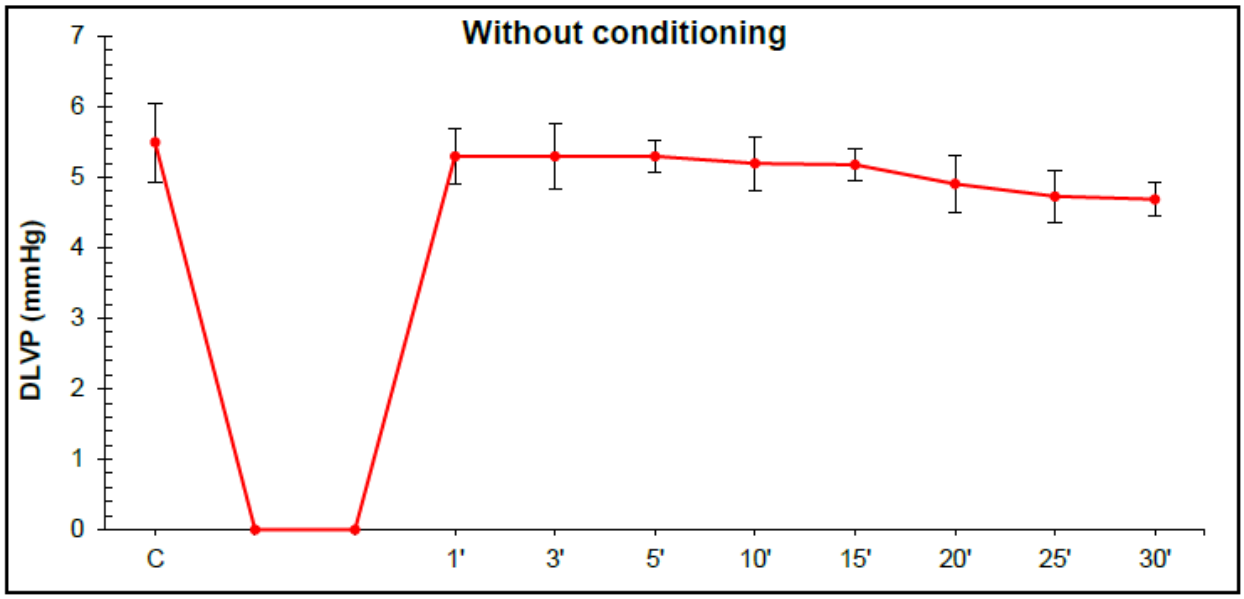

Рисунок 8 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования

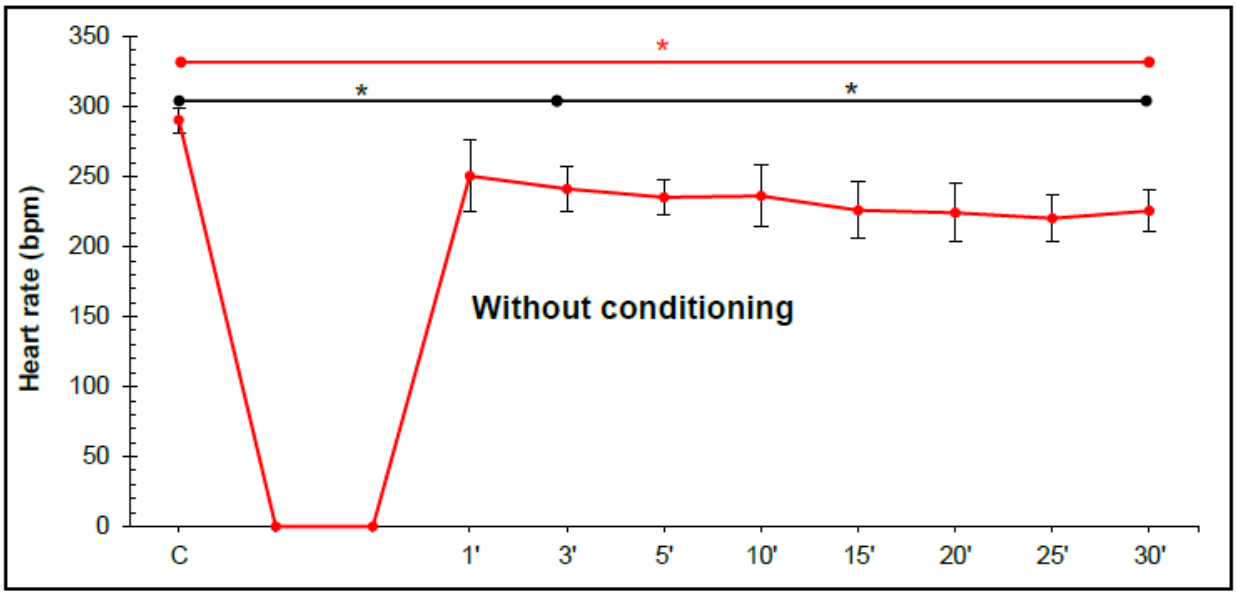

Рисунок 9 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования

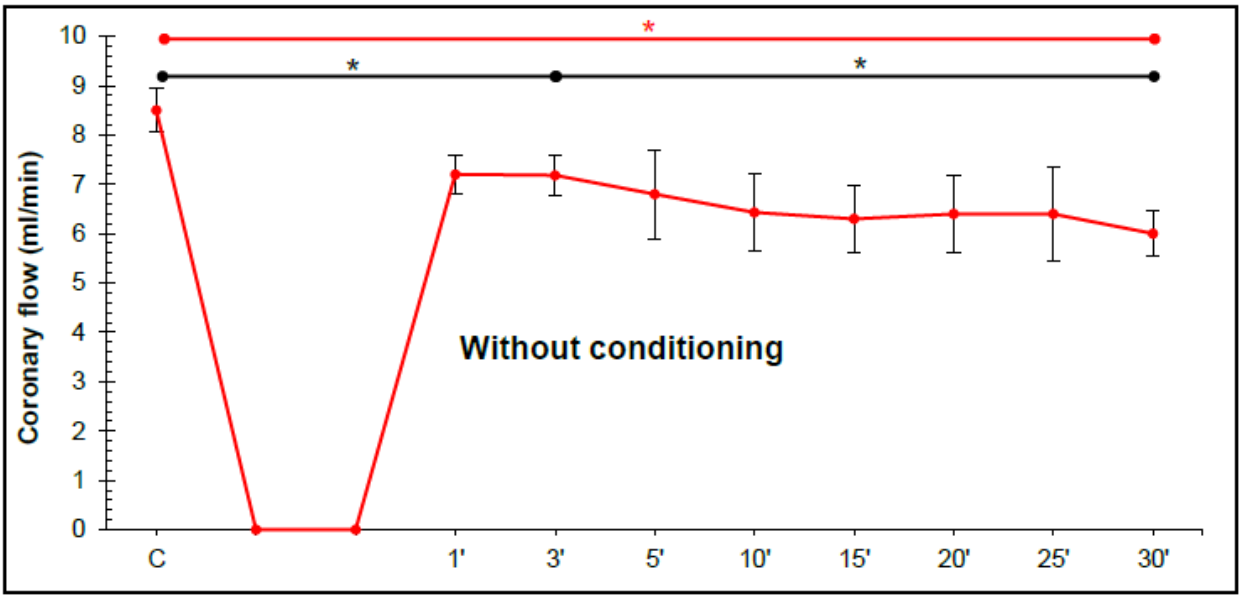

Рисунок 10 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования

3.2. Влияние применения глутамата при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (уд/мин) и КППР (мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом представлены в Таблице 4.

У животных с прекондиционированием глутаматом через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: дп/дт мин, однако $p>0,05$; Рисунок 12) и ЧСС в 2,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 15).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались: дп/дт макс в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 11), дп/дт мин в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 12), СЛВП, однако $p>0,05$; Рисунок 13), ДЛВП, однако $p>0,05$; Рисунок 14), ЧСС в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 15) и КППР в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 16).

Таблица 4 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования глутаматом

Прекондиционирование глутаматом						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2243,9 ± 48,5	-1967,5 ± 137,4	83,1 ± 1,8	3,0 ± 1,0	325,0 ± 9,6	10,2 ± 0,4
Глутамат	2394,1 ± 43,5	-2097,6 ± 32,1	85,2 ± 0,8	3,2 ± 1,0	318,1± 11,0	10,0 ± 0,4
Ишемия						
1	2364,2 ± 111,8	-1827,9 ± 82,9	132,6±4,6	5,3 ± 0,3	148,1 ± 4,9*	10,1 ± 0,3
30	1903,0 ± 43,6*	-1536,7 ± 122,0*	79,4 ± 5,9	2,9 ± 0,2	269,2 ± 6,1*	8,8 ± 0,5*

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после прекондиционирования глутаматом и подвергающиеся

двадцатиминутной ишемии, не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям после тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит адекватного их восстановления.

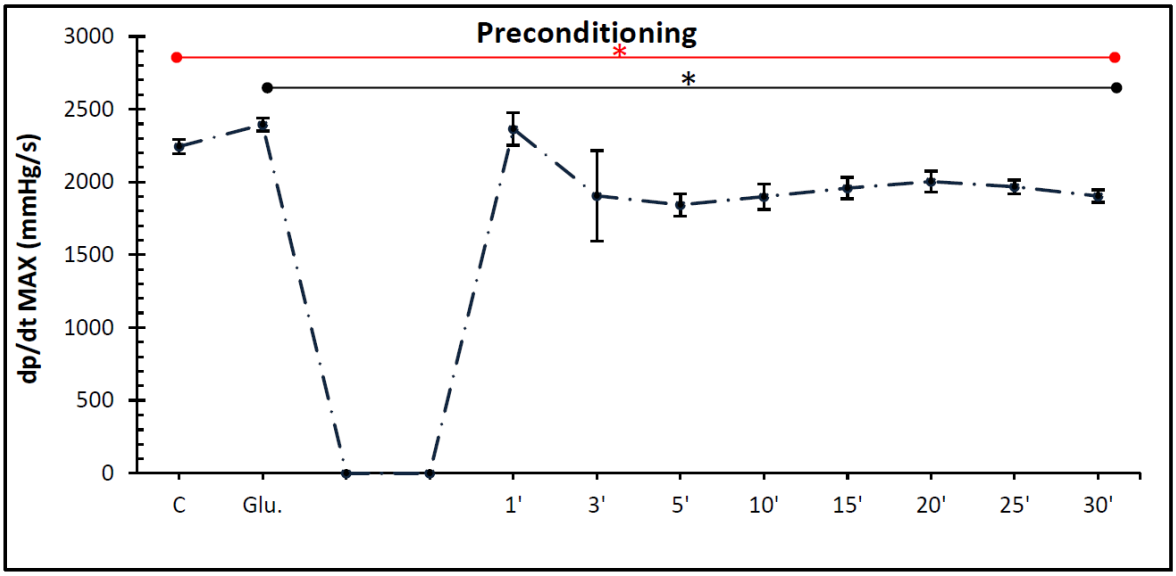

Рисунок 11 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

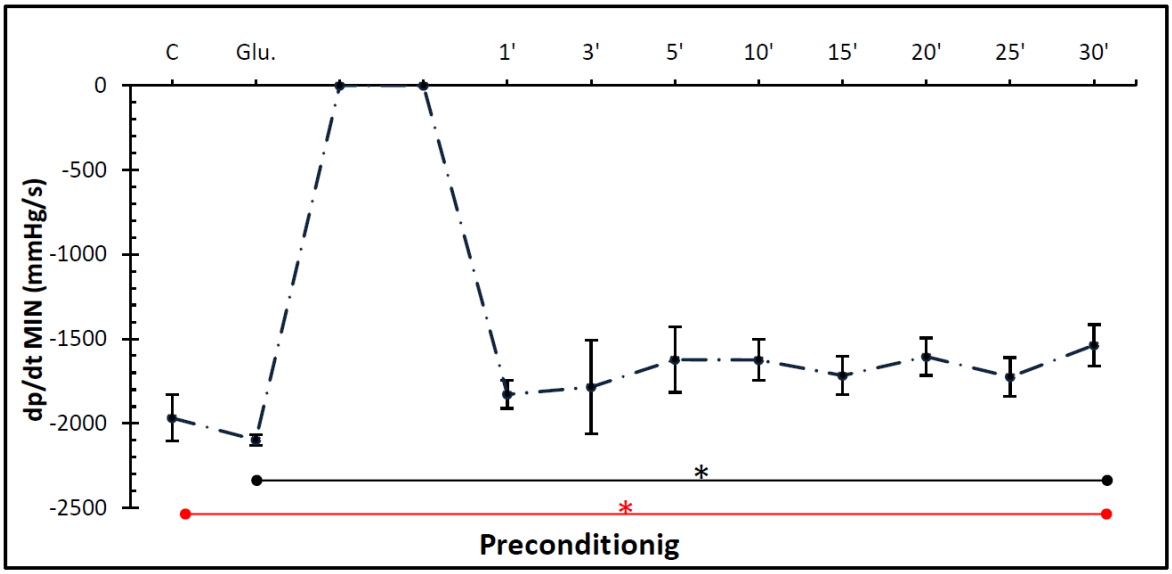

Рисунок 12 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин, в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

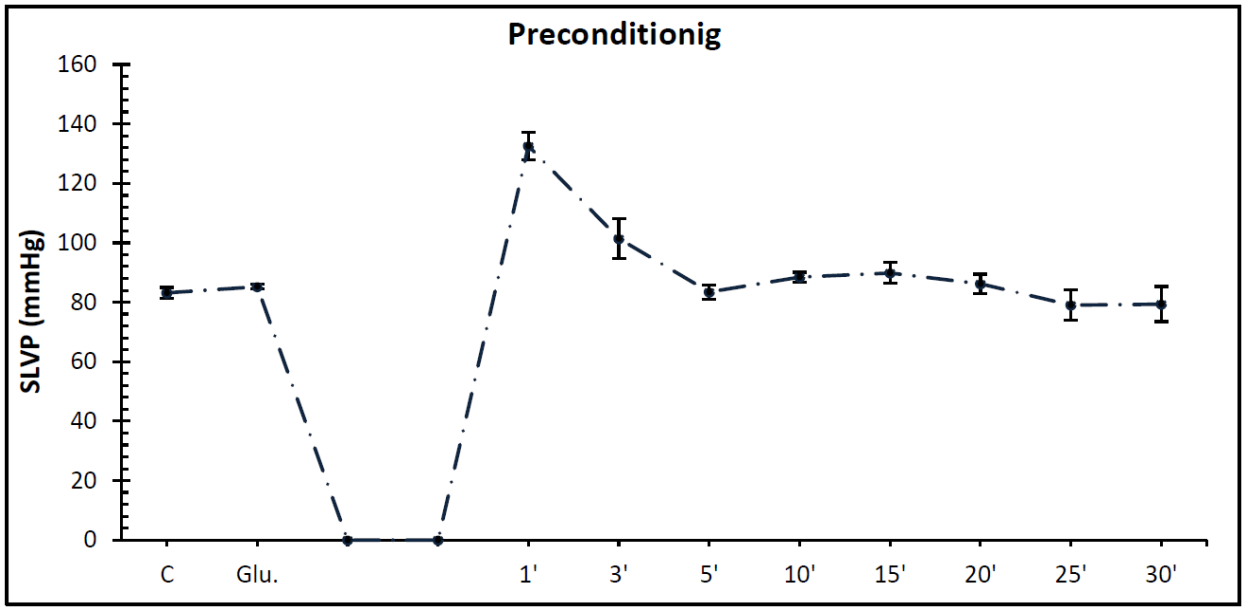

Рисунок 13 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

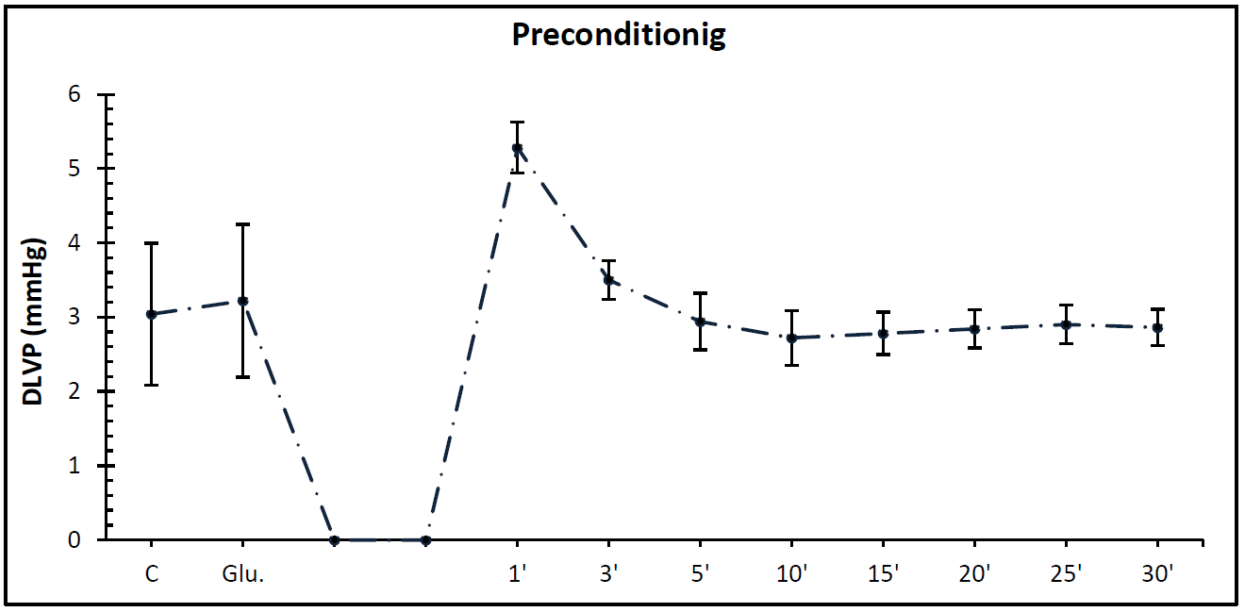

Рисунок 14 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

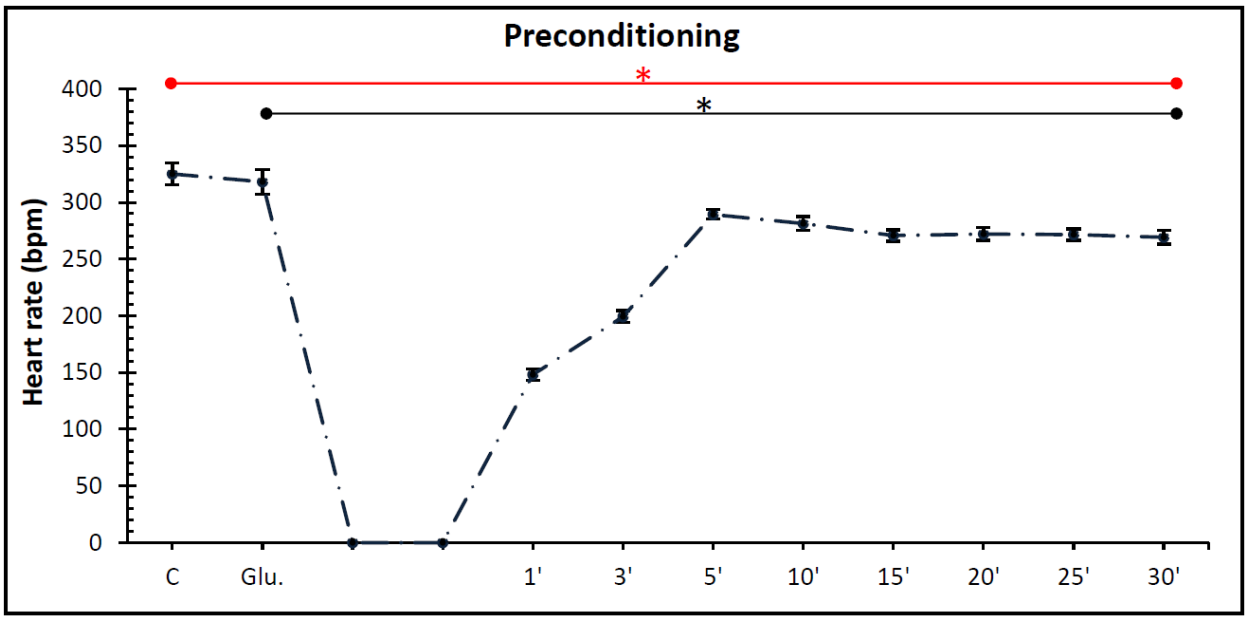

Рисунок 15 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

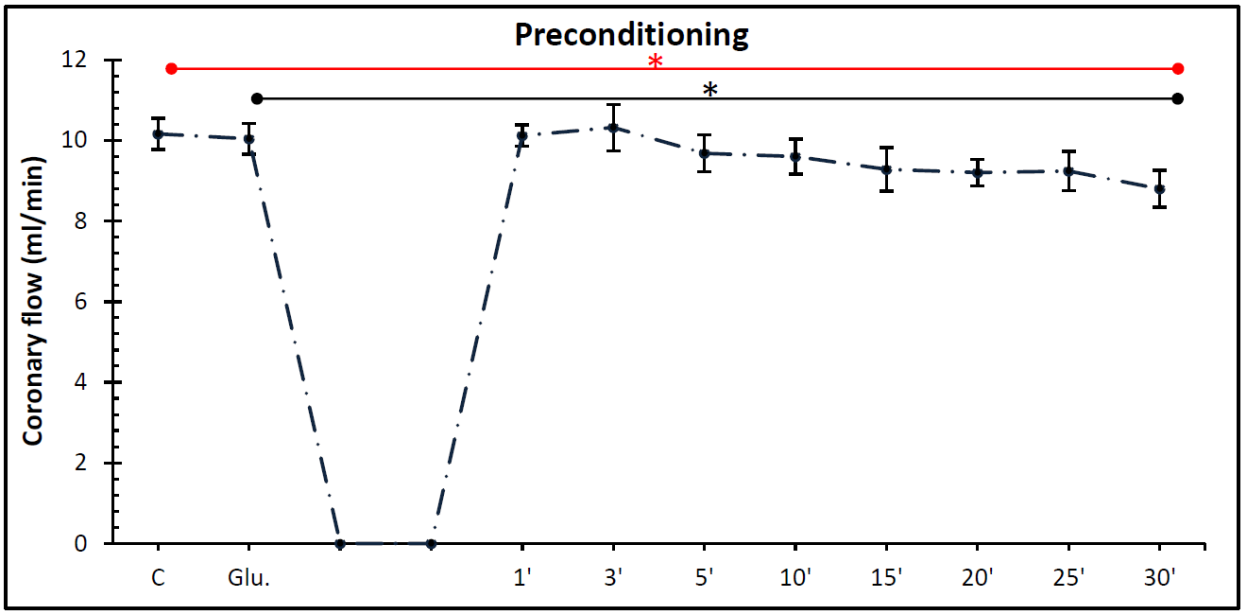

Рисунок 16 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

3.3. Влияние применения глутамата при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (в уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом представлены в Таблице 5.

У животных с посткондиционированием глутаматом через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс), однако p>0,05 (Рисунок 17), дп/дт мин, однако p>0,05 (Рисунок 18), ЧСС в 1,3 раза (p<0,05; Рисунок 21) и КППР, однако p>0,05 (Рисунок 22).

Таблица 5 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования глутаматом

Посткондиционирование глутаматом						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2905,5 ± 179,1	-2226,3 ± 159,4	100,7±4,9	2,3 ± 0,1	280,0± 16,1	11,5 ± 0,4
Ишемия						
1	2704,4 ± 43,7	-2117,1 ± 35,7	108,8±7,1	2,5 ± 0,3	215,1± 30,9*	10,8 ± 0,4
30	2425,3 ± 159,4*	-1923,4 ± 228,3	89,1 ± 3,6*	1,9 ± 0,3*	244,8 ± 8,0*	8,8 ± 0,3*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс) в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 17), дп/дт мин, однако p>0,05 (Рисунок 18), СЛВП в 1,1 раз (p<0,05; Рисунок 19), ДЛВП в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 20), ЧСС в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 21) и КППР в 1,3 раза (p<0,05; Рисунок 22).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после посткондиционирования глутаматом и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям после тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит адекватного их восстановления.

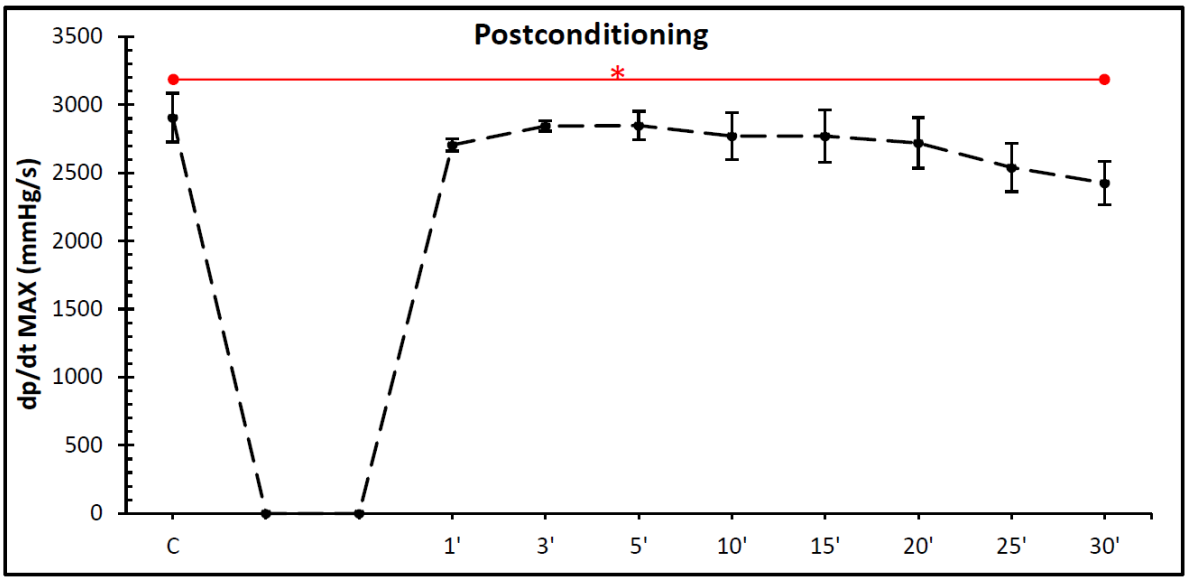

Рисунок 17 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

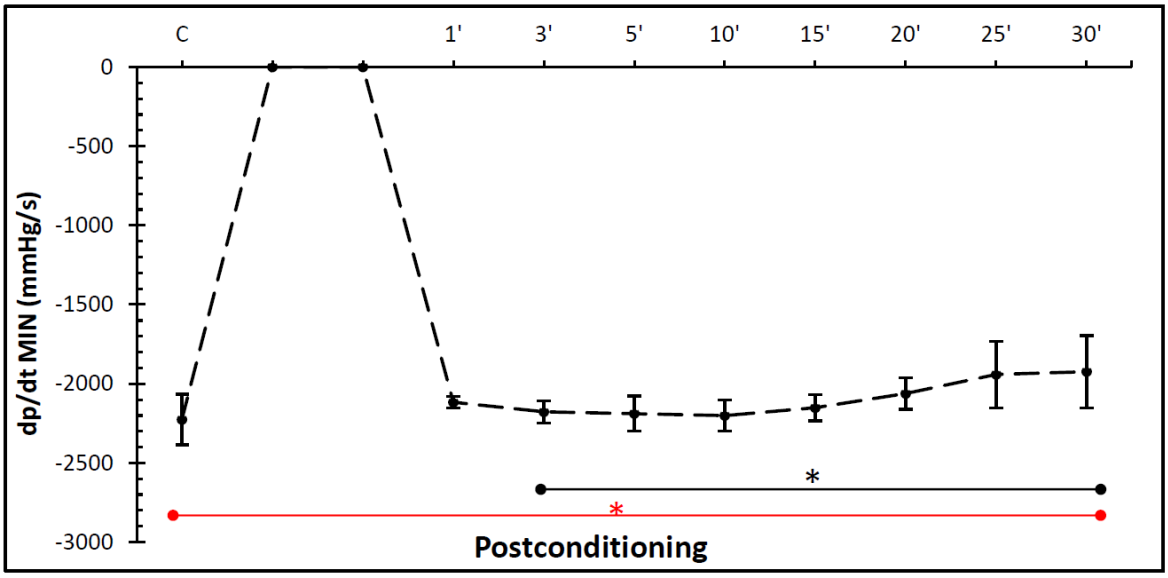

Рисунок 18 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин , в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

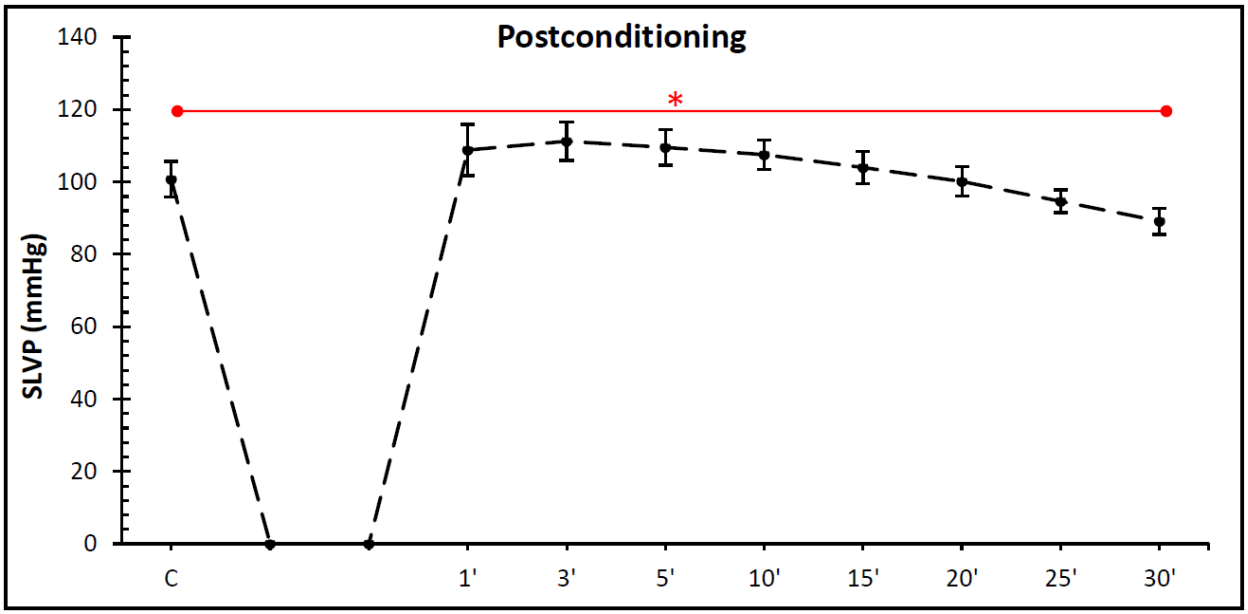

Рисунок 19 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

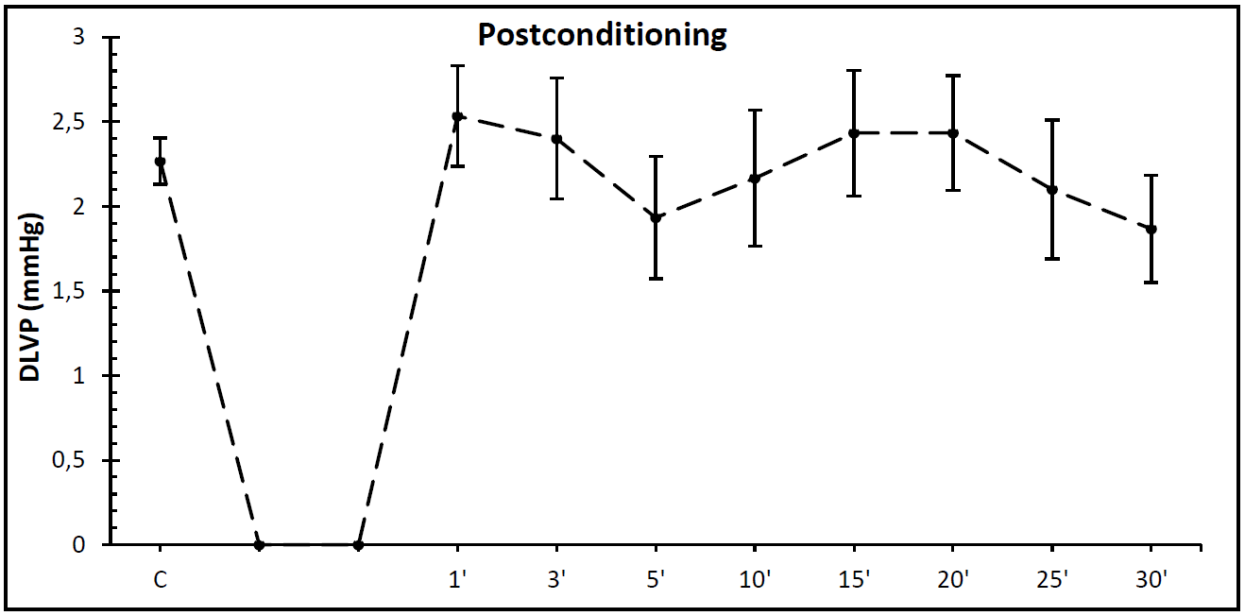

Рисунок 20 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

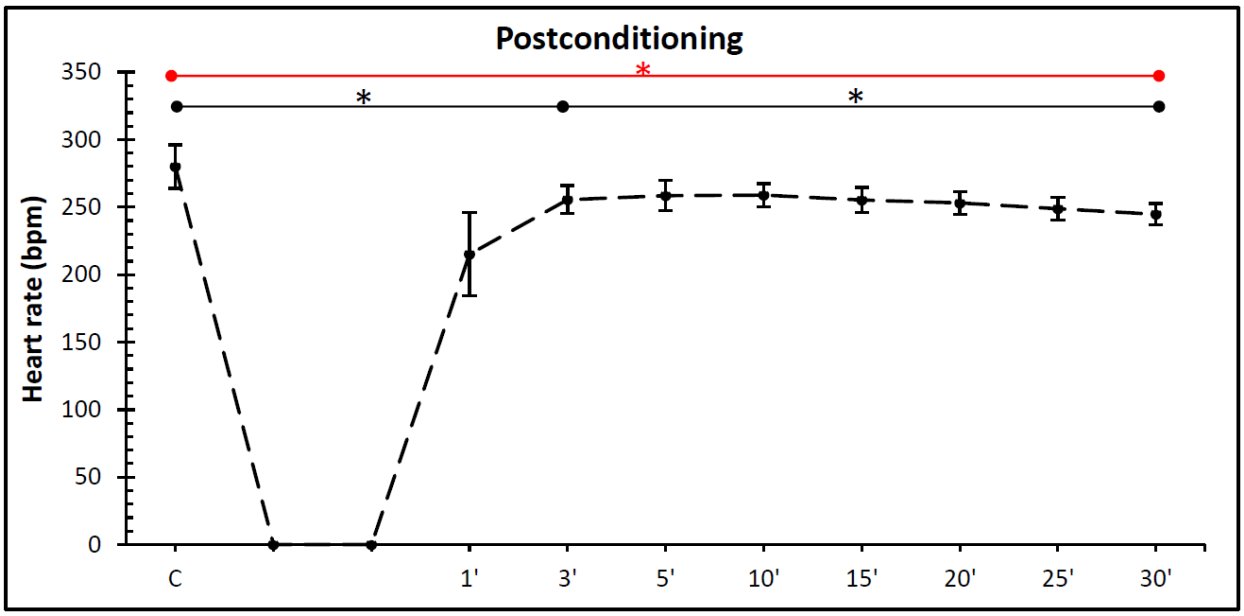

Рисунок 21 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд /мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

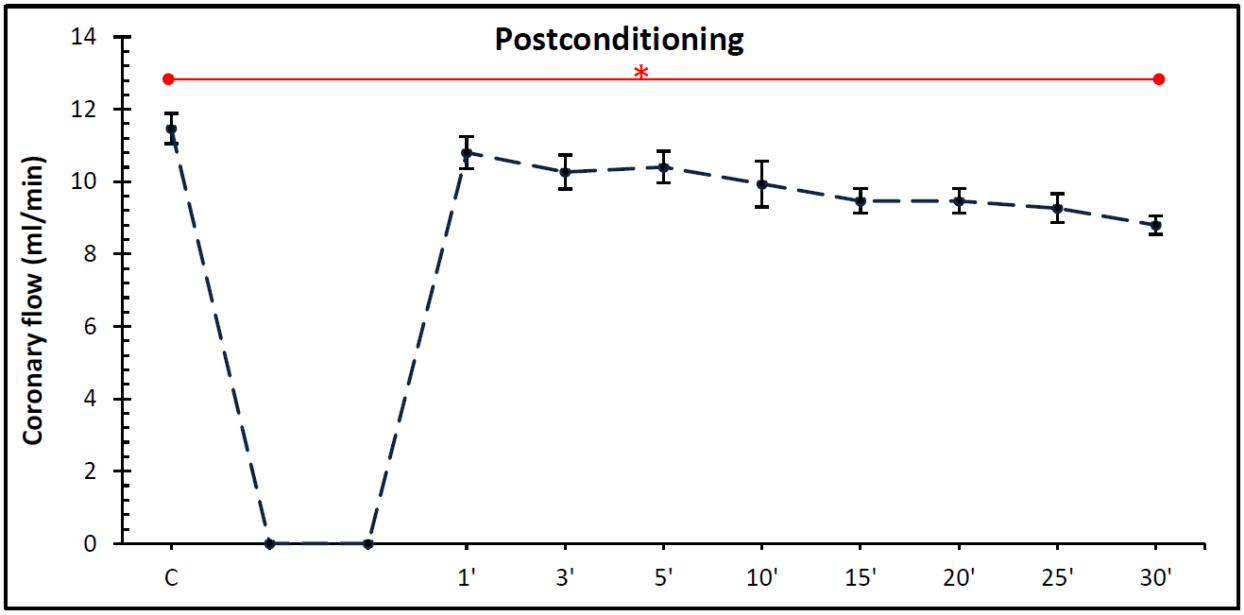

Рисунок 22 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

3.4. Влияние применения глицина при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (в уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином представлены в Таблице 6.

Таблица 6 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования глицином

Прекондиционирование глицином						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	1872,7 ± 100,4	-1551,9 ± 83,5	54,5 ± 2,4	2,4 ± 0,3	308,7± 12,2	9,1 ± 0,6
Глицин	1484,0 ± 158,6	-1297,4 ± 116,4	61,1 ± 3,8	2,7 ± 0,2	256,6± 14,9	8,2 ± 0,8
Ишемия						
1	1789,8 ± 136,5	-1521,6 ± 96,4	71,2 ± 2,8	3,4 ± 0,4	233,8± 30,3*	8,5 ± 0,7
30	1695,4 ± 135,8*	-1482,6 ± 76,1	54,8 ± 2,9	2,3 ± 0,3	258,4 ± 3,4*	7,7 ± 0,8*

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем

У животных с прекондиционированием глицином через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: ЧСС в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 27) и КППР, однако $p>0,05$ (Рисунок 28).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс) в 1,1 раз ($p<0,05$; Рисунок 23), дп/дт мин, однако $p>0,05$ (Рисунок 24), ДЛВП, однако $p>0,05$ (Рисунок 26), ЧСС в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 27), КППР в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 28).

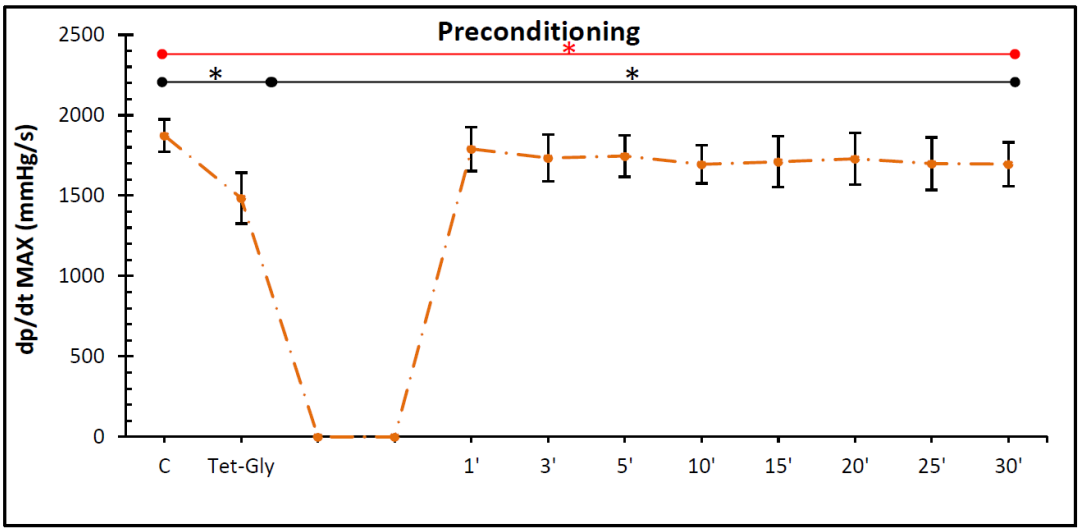

Рисунок 23 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

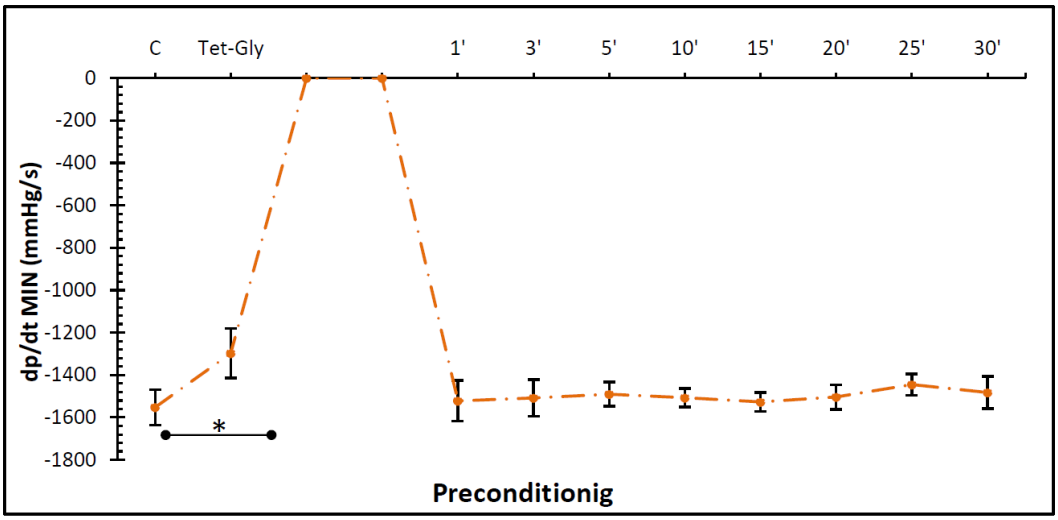

Рисунок 24 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин , в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после прекондиционирования глицином и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям после тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит адекватного их восстановления.

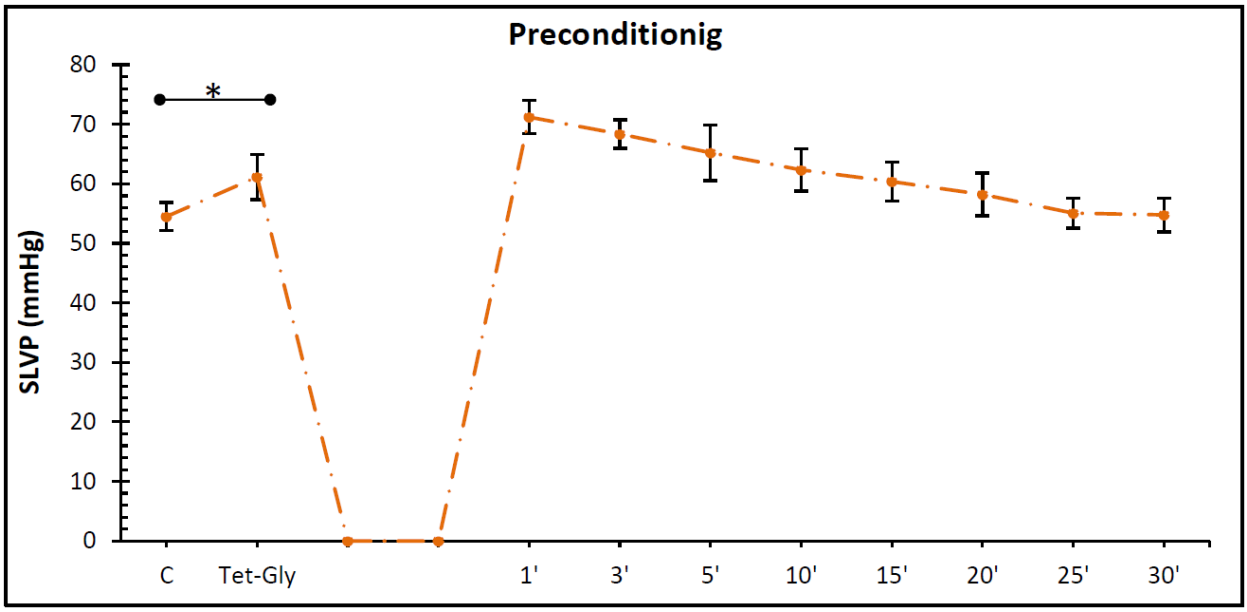

Рисунок 25 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

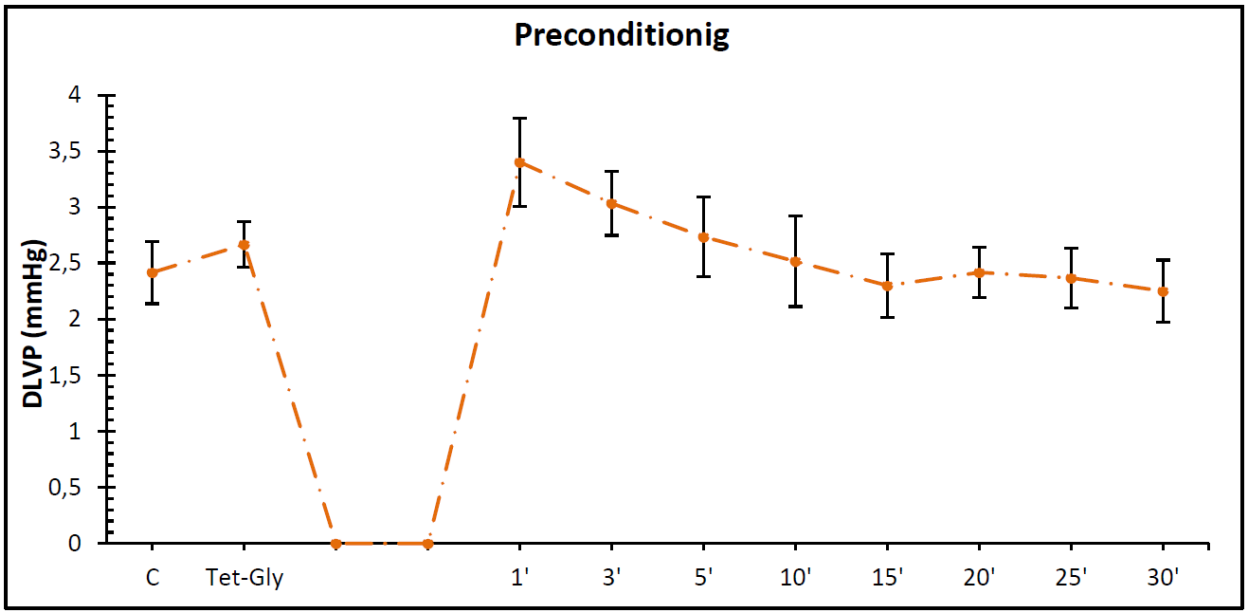

Рисунок 26 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

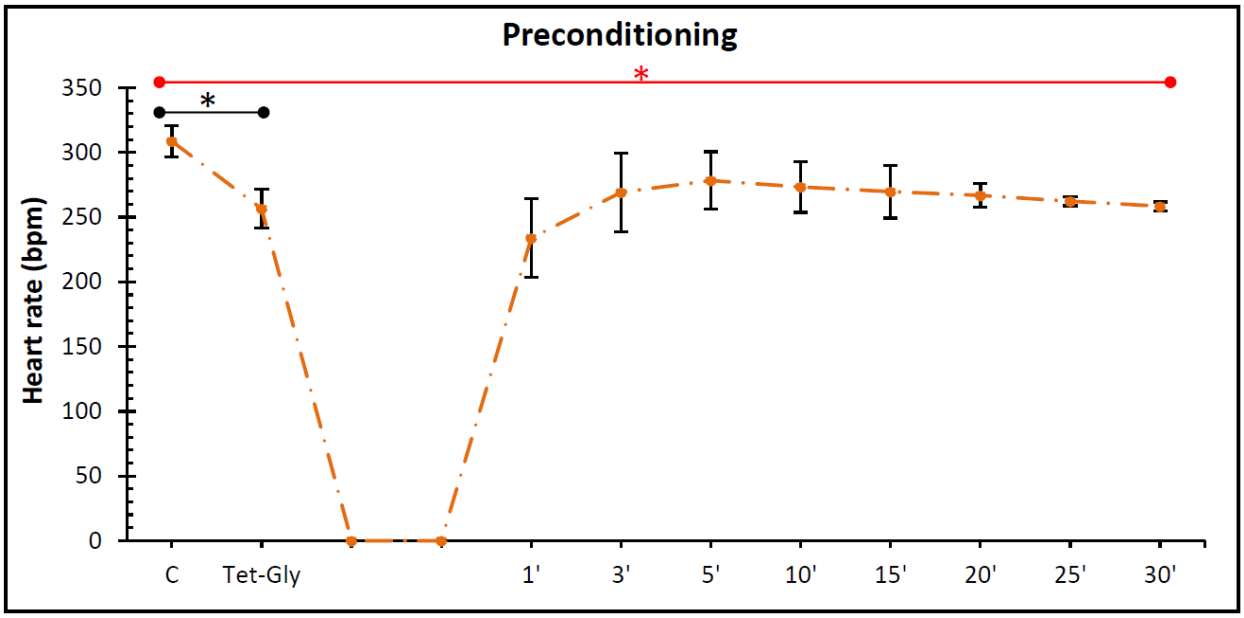

Рисунок 27 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд /мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

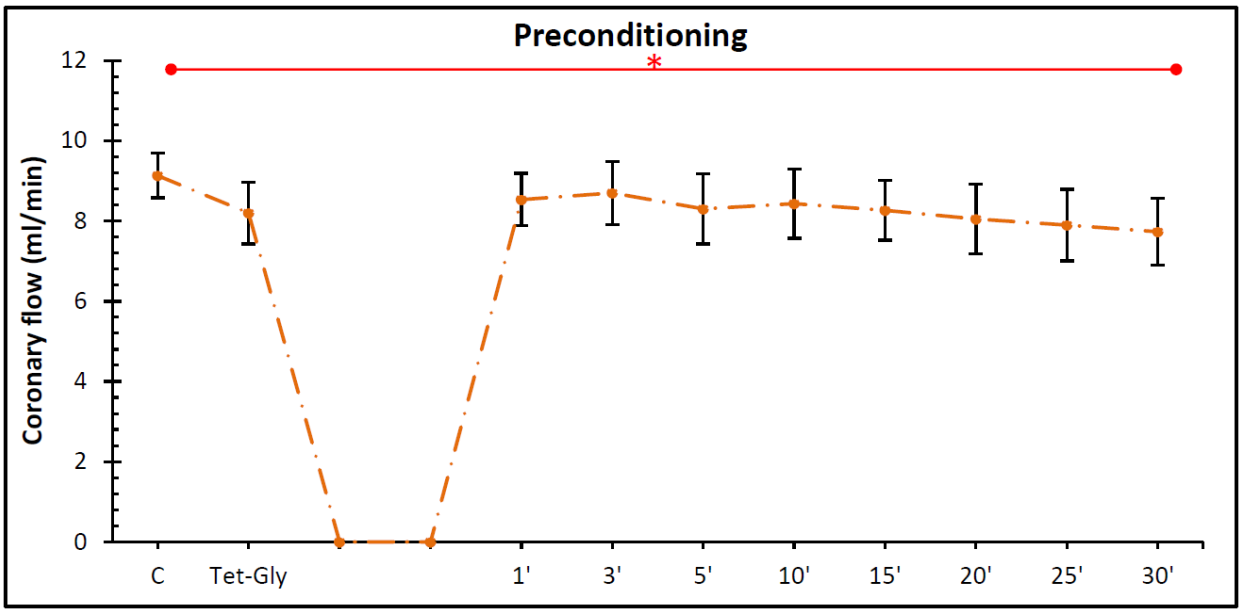

Рисунок 28 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

3.5. Влияние применения глицина при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (в уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином представлены в Таблице 7.

Таблица 7 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования глицином

Посткондиционирование глицином						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2089,7 ± 86,7	-1538,9 ± 110,6	57,7 ± 3,3	1,4 ± 0,5	320,0± 13,1	10,4 ± 0,6
Ишемия						
1	2410,8 ± 126,2	-1763,4 ± 85,4	91,2 ± 4,2	2,6 ± 0,4	183,8± 14,9*	9,8 ± 0,3
30	1666,7 ± 155,6*	-1340,0 ± 189,4	55,3 ± 5,0	2,3 ± 0,5	262,1± 20,7	8,3 ± 0,4

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем

У животных с посткондиционированием глицином через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: ЧСС в 1,7 раза ($p<0,05$; Рисунок 33) и КППР, однако $p>0,05$ (Рисунок 34).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс) в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 29), дп/дт мин, однако $p>0,05$ (Рисунок 30), систолическое давление в левом желудочке, однако $p>0,05$ (Рисунок 31), ЧСС в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 33) и КППР в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 34).

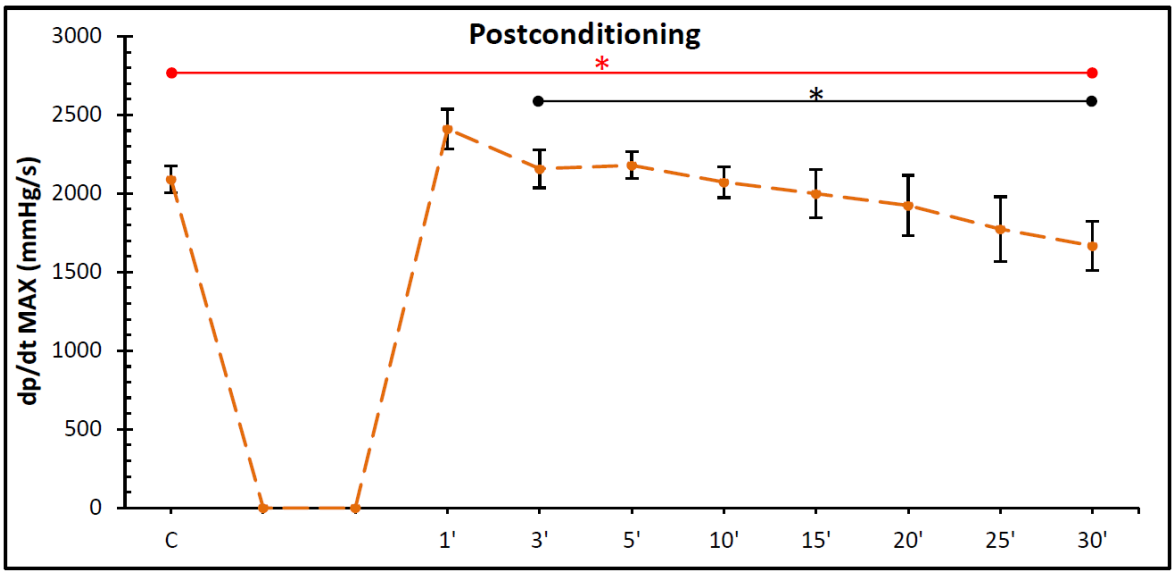

Рисунок 29 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

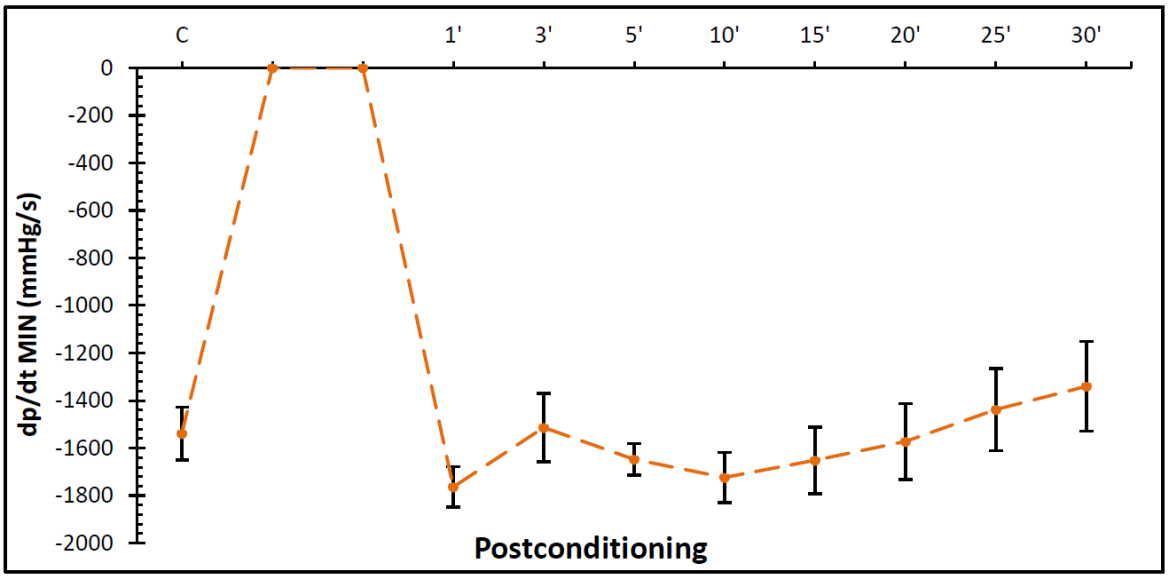

Рисунок 30 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин, в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после посткондиционирования глицином и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям после тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит адекватного их восстановления.

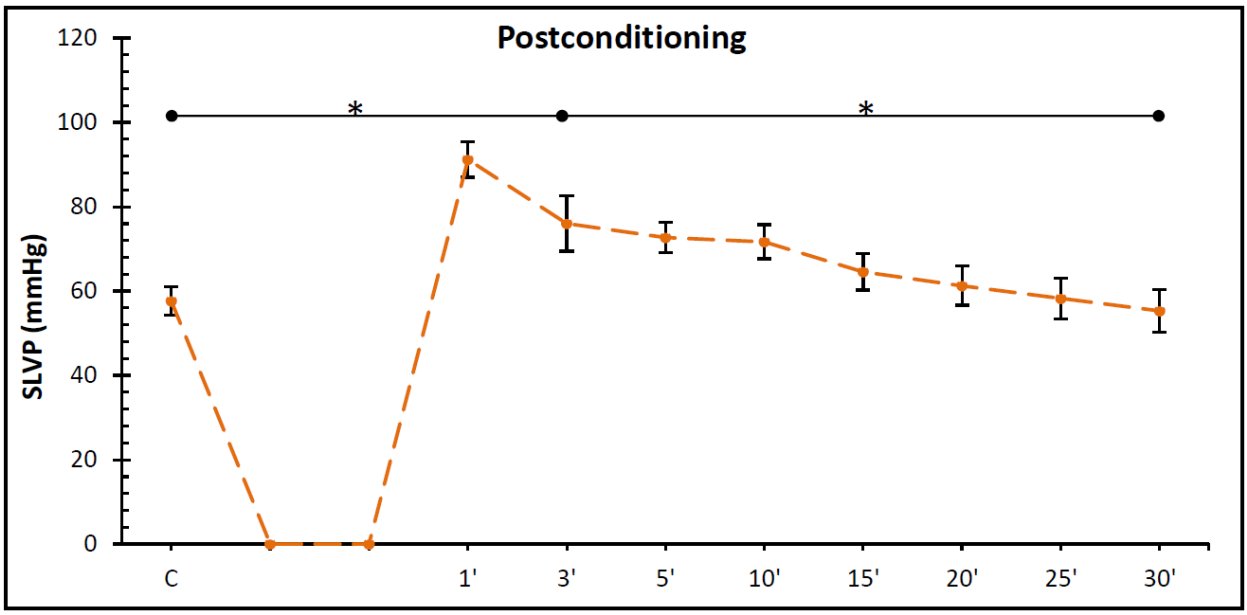

Рисунок 31 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

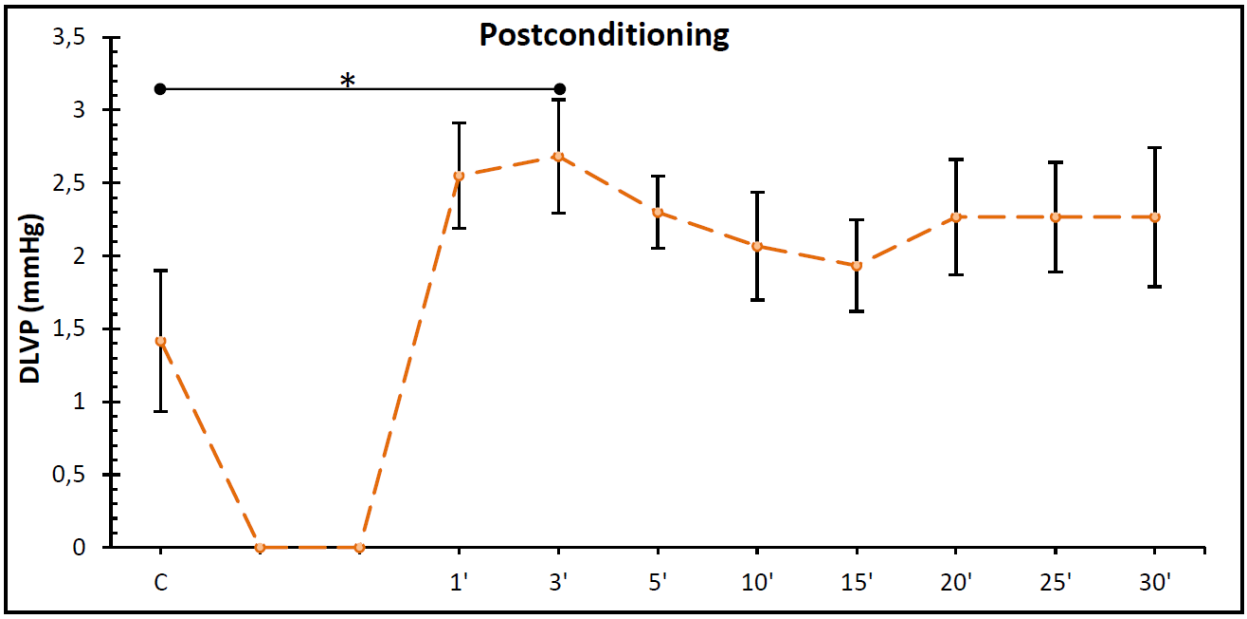

Рисунок 32 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

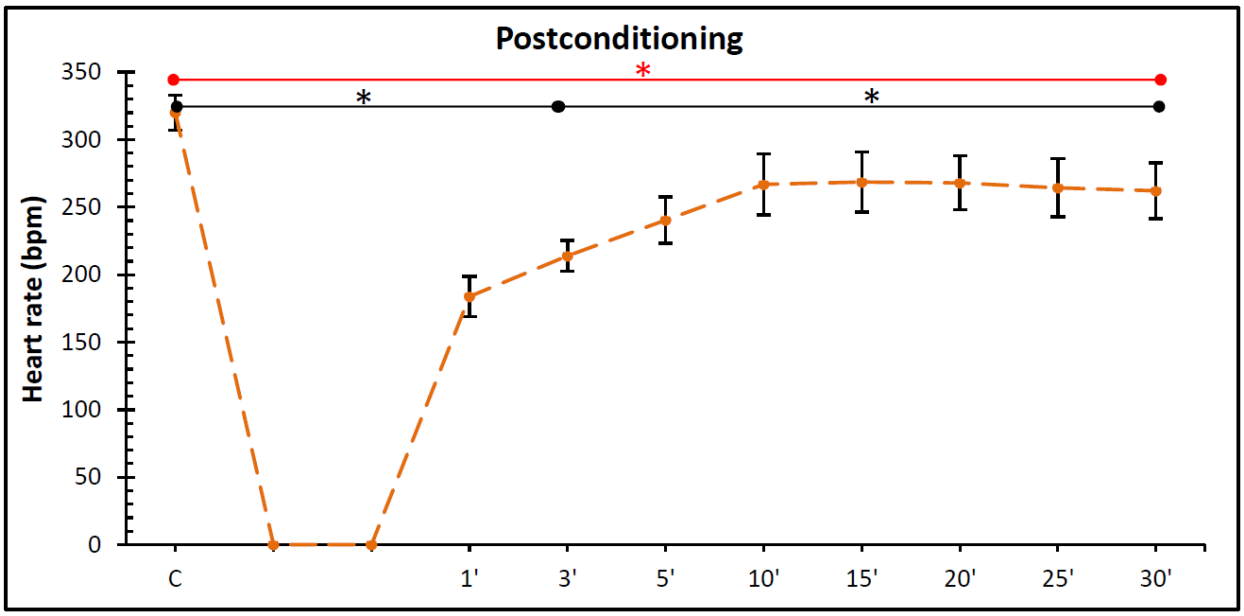

Рисунок 33 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд /мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

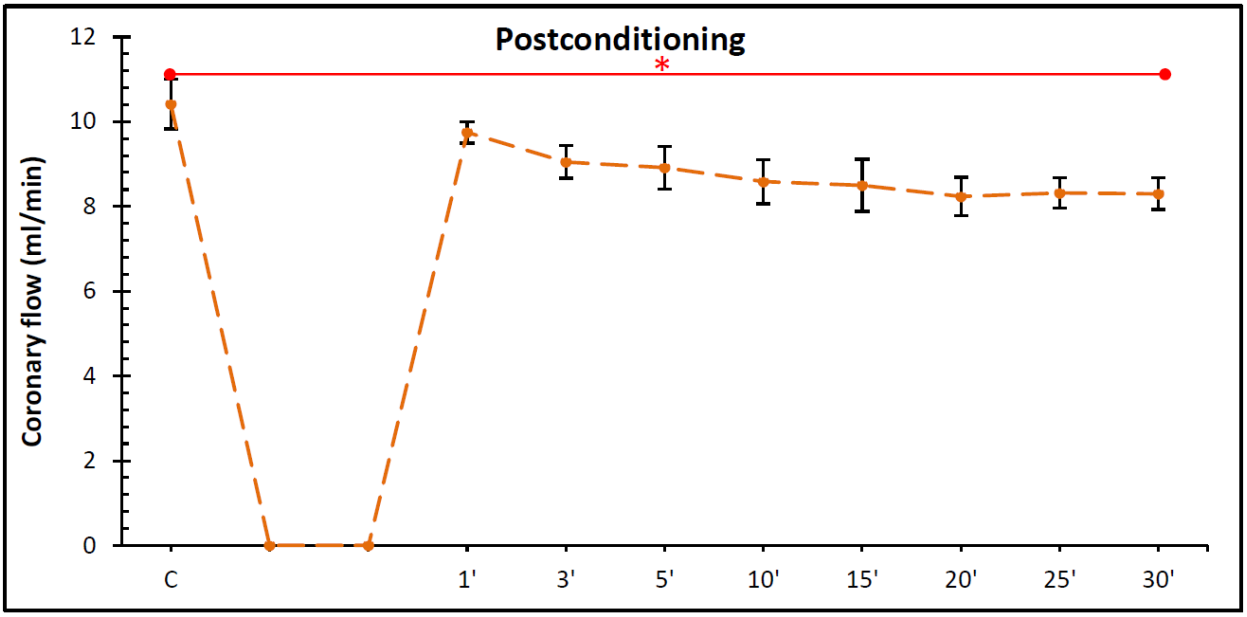

Рисунок 34 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

3.6. Влияние применения МК-801 при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (в уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801 представлены в Таблице 8.

Таблица 8 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования МК-801

Прекондиционирование МК-801						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2035,0 ± 104,5	-1393,6 ± 41,6	59,6 ± 2,4	5,3 ± 0,1	311,7 ± 7,0	10,2 ± 0,8
МК-801	1537,8 ± 77,6	-948,7 ± 57,5	42,2 ± 2,5	3,9 ± 0,1	254,9± 15,3	7,3 ± 0,4
Ишемия						
1	2363,6 ± 182,1*	-1573,7 ± 63,1*	84,1 ± 3,4*	8,2 ± 0,6*	256,7± 18,6	10,7 ± 0,3
30	2021,0 ± 110,9**	-1317,5 ± 40,0**	59,1 ± 2,0**	5,2 ± 0,2**	302,4 ± 8,4	9,4 ± 0,7

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с прекондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс) в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 35), дп/дт мин в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 36), СЛВП в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 37), ДЛВП в 1,6 раза ($p<0,05$; Рисунок 38) и КППР, однако $p>0,05$ (Рисунок 40).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались и достигали контрольных значений:

- максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс) в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 35), дп/дт мин в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 36), СЛВП в

1,4 раза (p<0,05; Рисунок 37), ДЛВП в 1,6 раза (p<0,05; Рисунок 38) и КППР, однако p>0,05 (Рисунок 40).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после прекондиционирования МК-801 и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, после тридцатиминутной реперфузии возвращаются к значениям, близким к начальным значениям то есть происходит адекватное их восстановление.

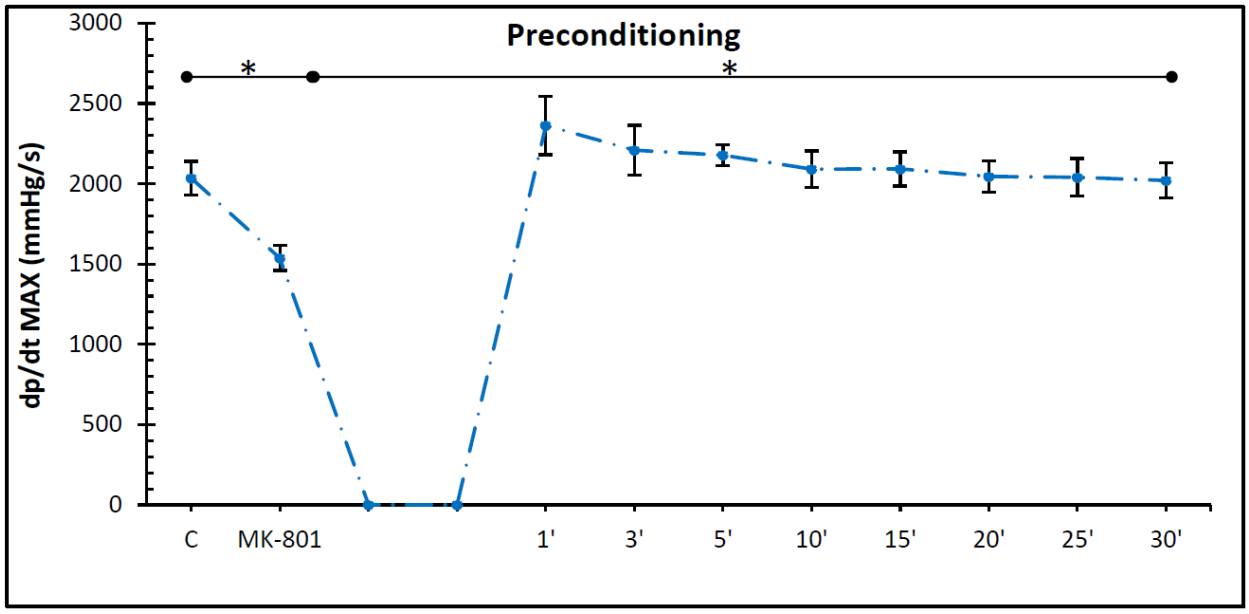

Рисунок 35 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

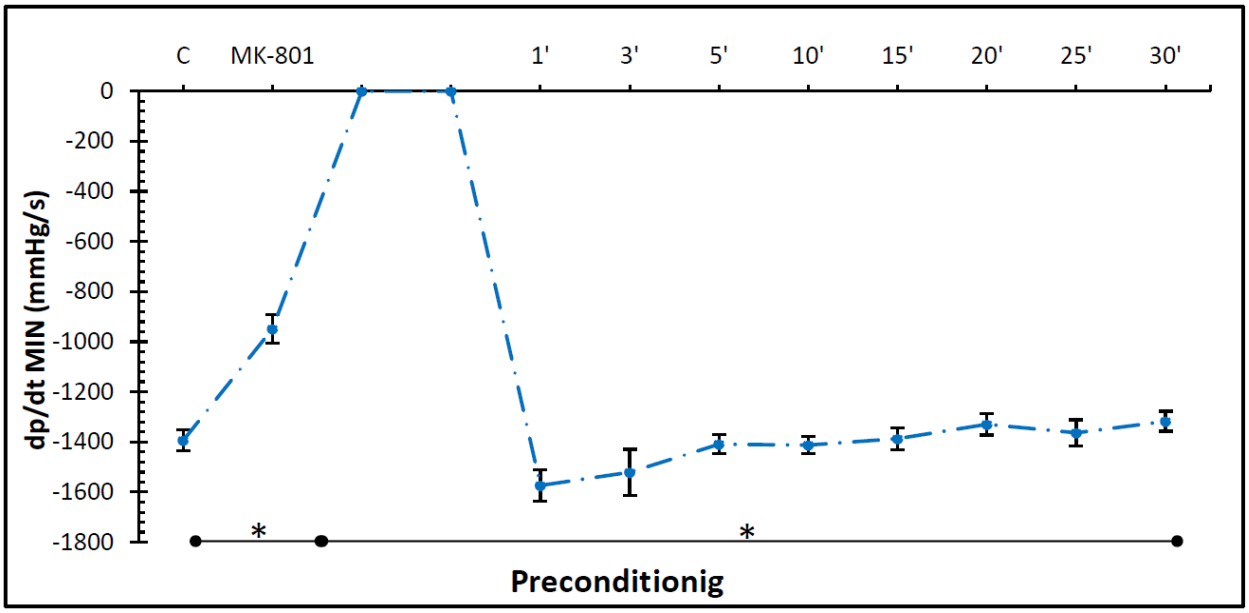

Рисунок 36 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин, в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

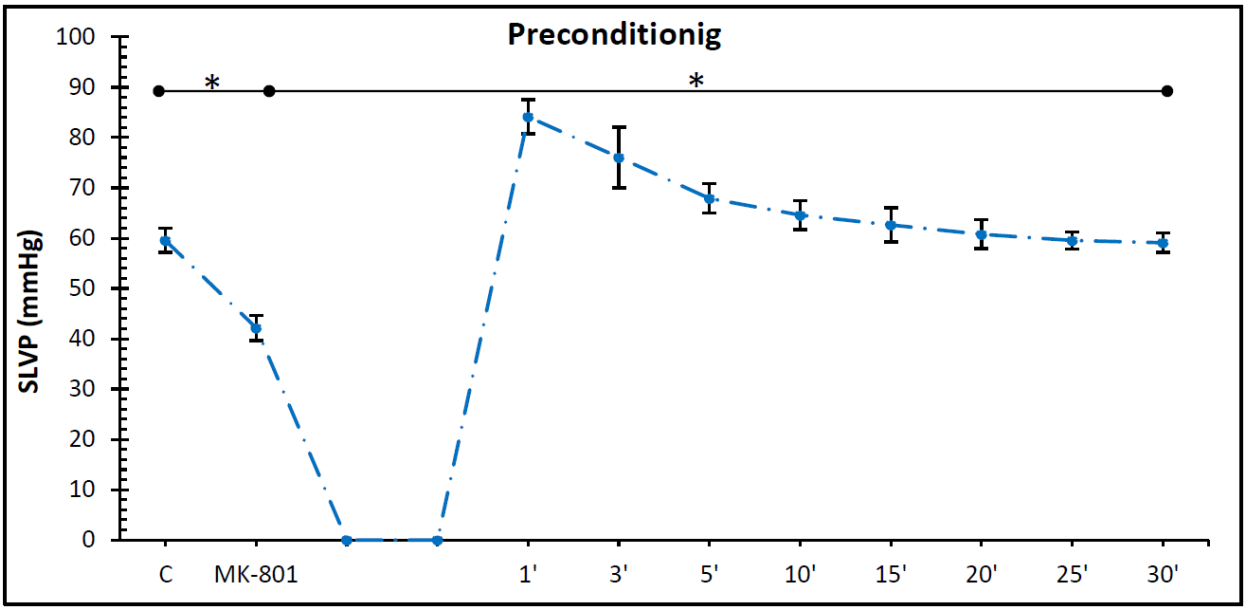

Рисунок 37 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

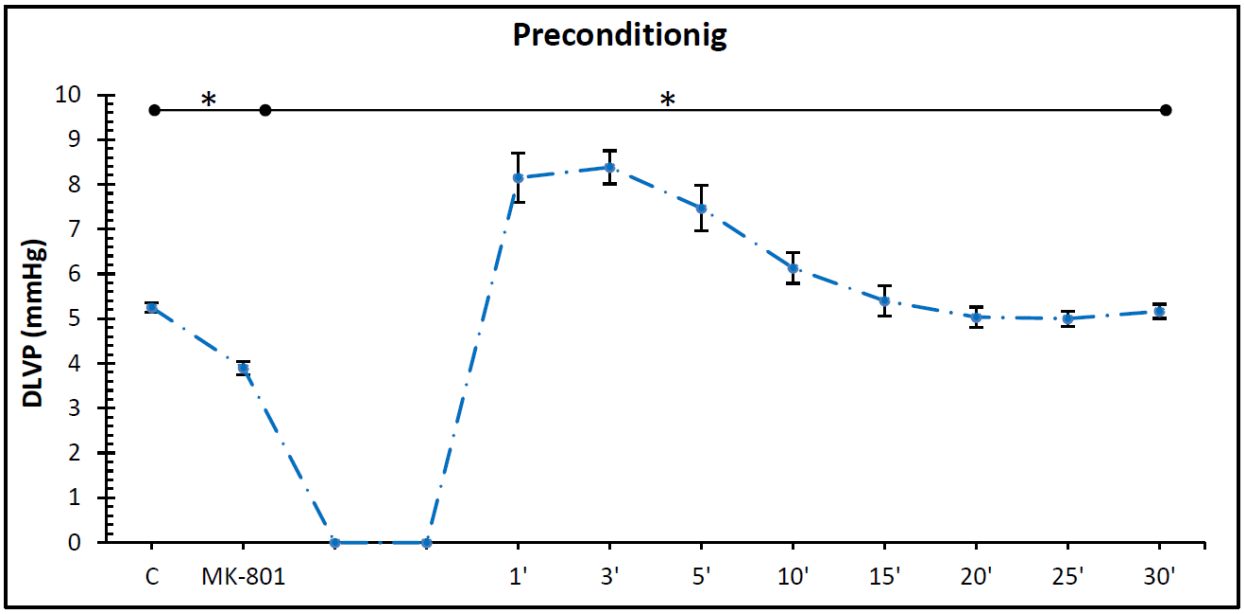

Рисунок 38 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

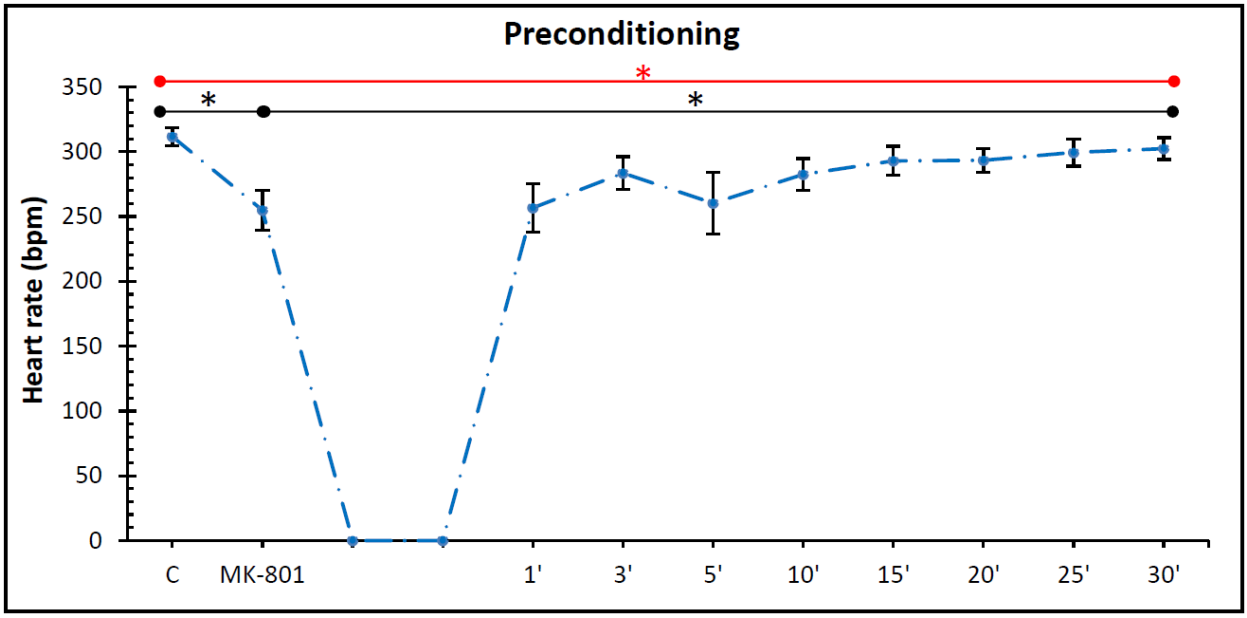

Рисунок 39 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

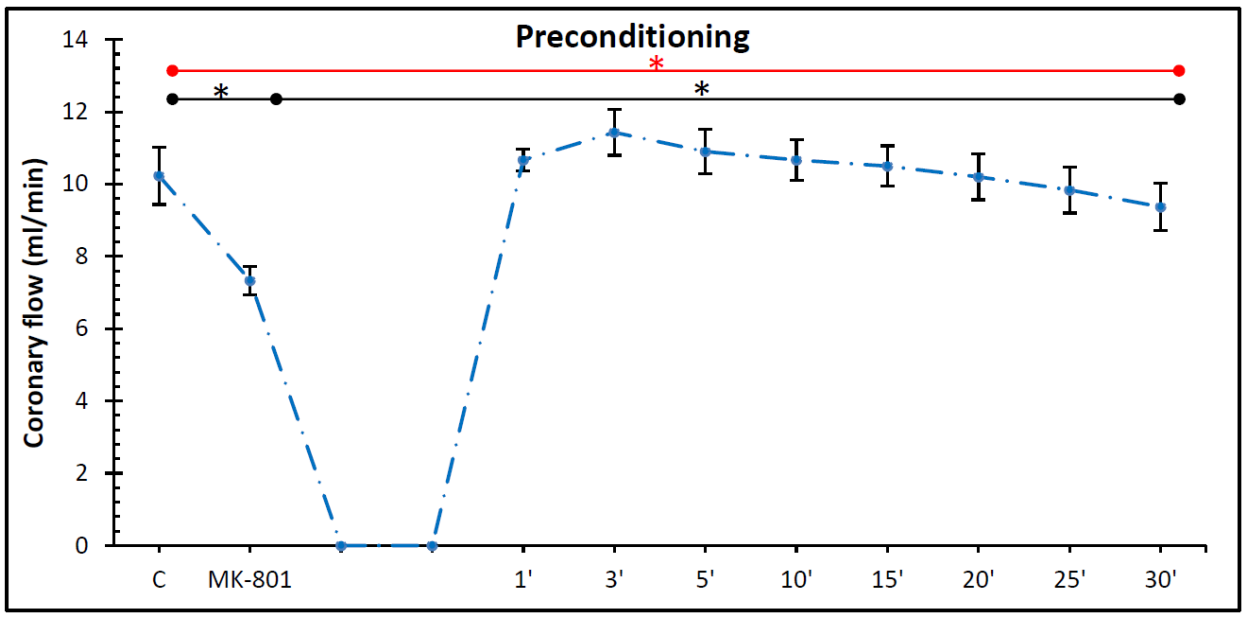

Рисунок 40 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

3.7. Влияние применения МК-801 при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (в уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801 представлены в Таблице 9.

У животных с посткондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались: СЛВП в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 43), ДЛВП, однако $p>0,05$ (Рисунок 44), КППР, однако $p>0,05$ (Рисунок 46).

У животных с посткондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс),однако $p>0,05$ (Рисунок 41), дп/дт мин в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 42) и ЧСС в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 45).

Таблица 9 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования МК-801

Посткондиционирование МК-801						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	1956,9 ± 81,1	-1226,2 ± 65,4	48,1 ± 2,1	5,1 ± 0,1	306,9 ± 4,7	10,5 ± 0,3
Ишемия						
1	1898,8 ± 82,4	-888,4 ± 36,1*	56,5 ± 1,4*	5,3 ± 0,2	265,5 ± 8,3*	10,7 ± 0,4
30	2001,4 ± 95,4	-1262,4 ± 61,7**	47,4 ± 2,1**	4,9 ± 0,1**	301,1 ± 2,8**	10,3 ± 0,3

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались и достигали контрольных значений: СЛВП в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 43), ДЛВП в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 44) и КППР, однако $p>0,05$ (Рисунок 46).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда увеличивались и достигали контрольных значений: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс), однако $p>0,05$ (Рисунок 41), дп/дт мин в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 42) и ЧСС в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 45).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после посткондиционирования МК-801 и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, после тридцатиминутной реперфузии возвращаются к значениям, близким к начальным значениям, то есть происходит адекватное их восстановление.

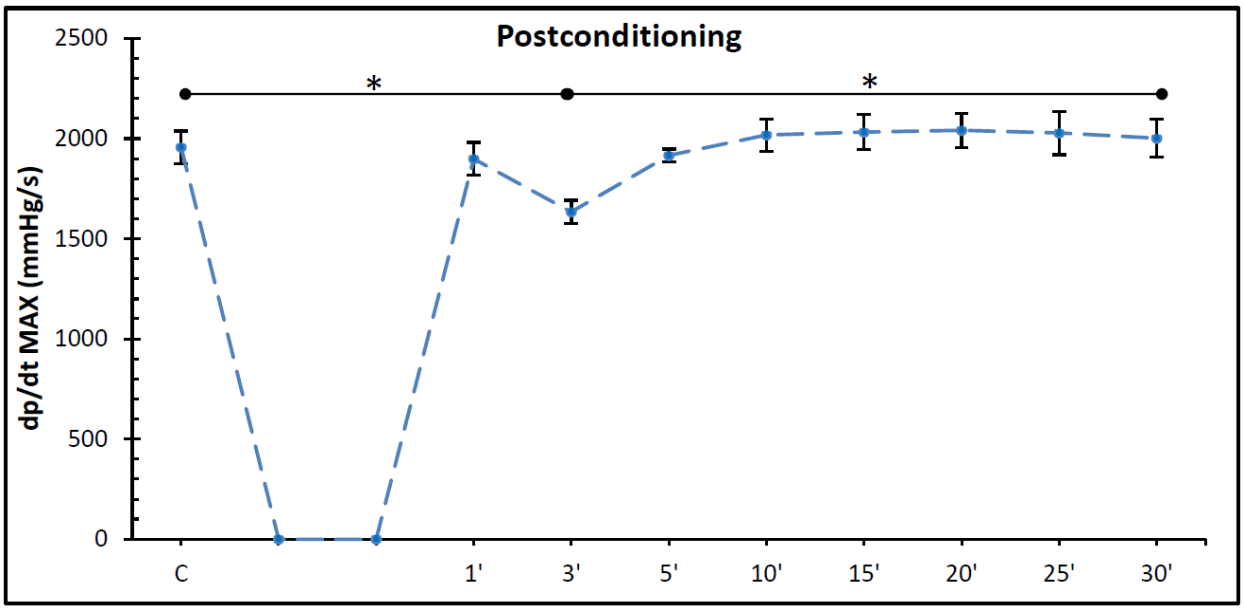

Рисунок 41 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

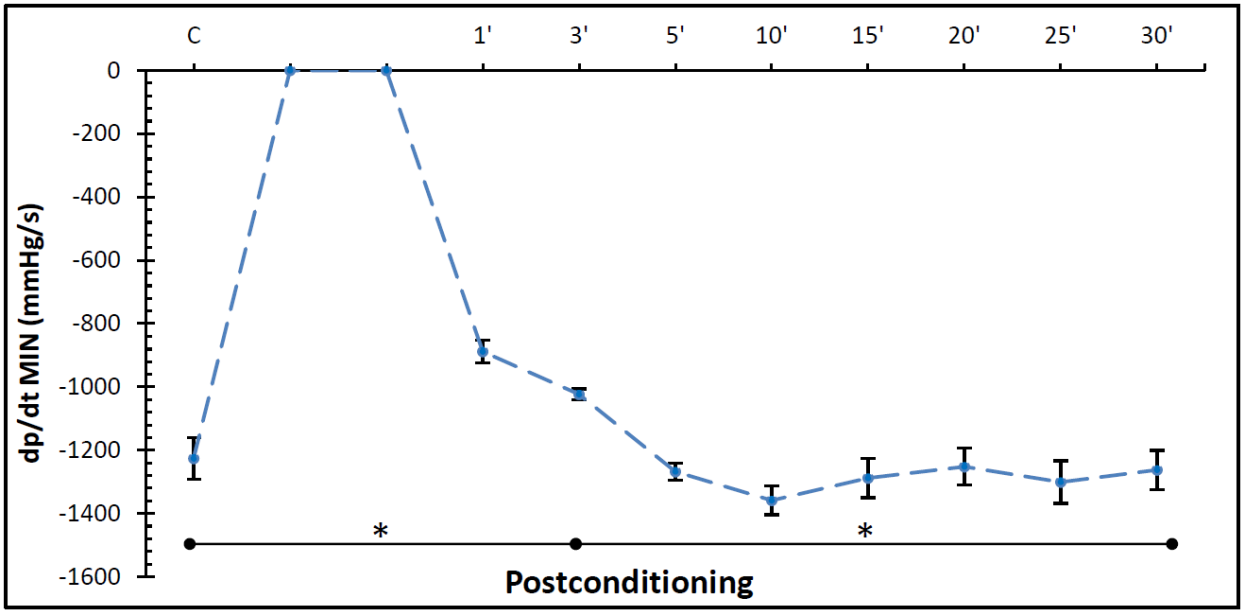

Рисунок 42 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин , в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и время реперфузии при посткондиционировании МК-801

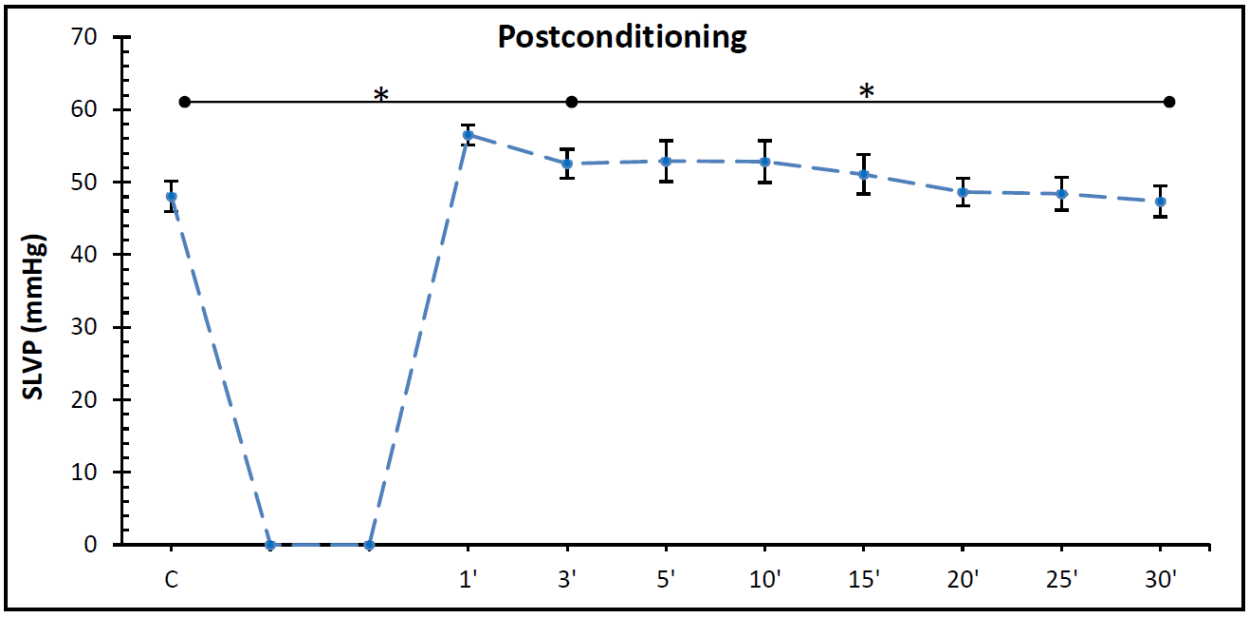

Рисунок 43 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

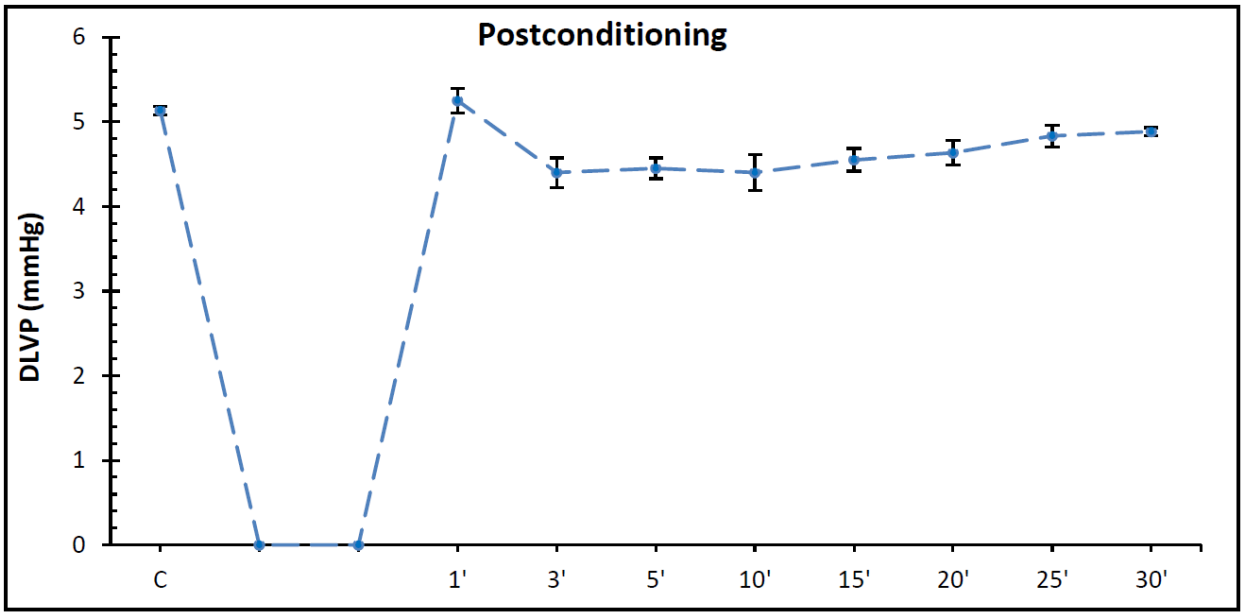

Рисунок 44 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

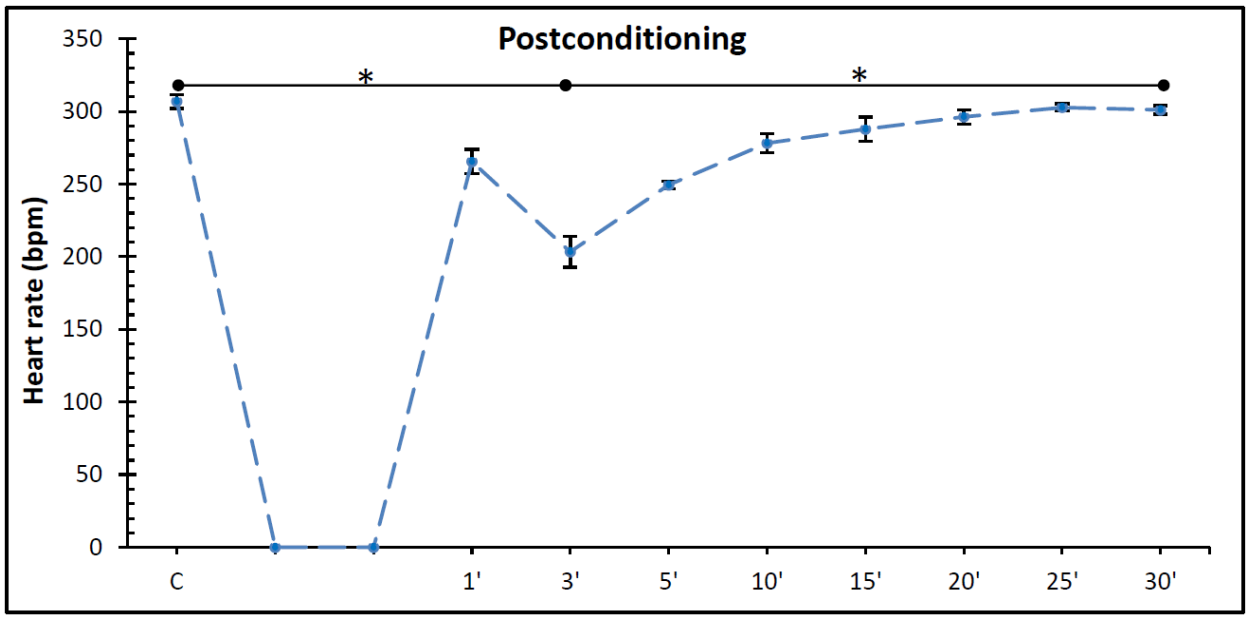

Рисунок 45 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд /мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

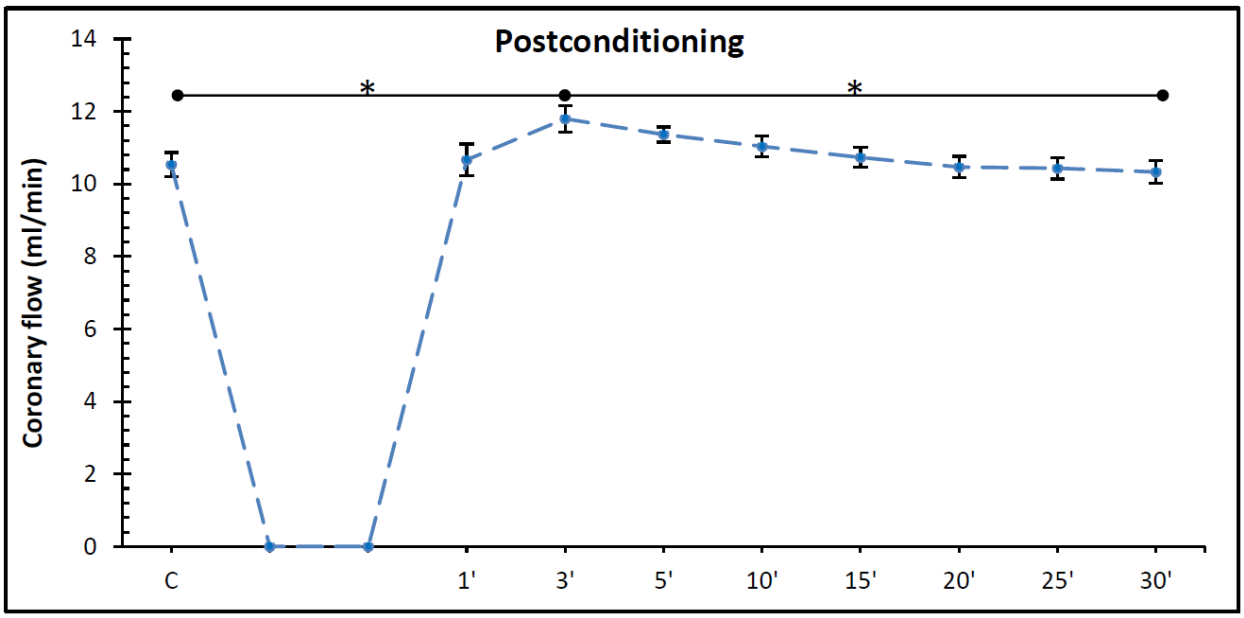

Рисунок 46 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

3.8. Влияние применения мемантина при прекондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином представлены в Таблице 10.

Таблица 10 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования мемантином

Прекондиционирование мемантином						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2021,9 ± 138,7	-1476,6 ± 126,2	62,7 ± 5,4	4,5 ± 0,6	303,8 ± 9,6	12,7 ± 0,6
мемантин	1661,9 ± 96,8	-1088,9 ± 131,2	49,6 ± 7,4	3,7 ± 0,2	263,2± 11,0	10,8 ± 0,8
Ишемия						
1	2021,7 ± 102,6	-1460,6 ± 103,0	79,3 ± 3,0*	6,1 ± 0,9*	271,8 ± 4,9*	11,5 ± 0,4*
30	1782,6 ± 100,6	-1302,6 ± 90,6	61,8 ± 5,2**	4,3 ± 0,6**	261,5 ± 6,1	9,4 ± 0,3

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с прекондиционированием мемантином через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались: СЛВП в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 49) и ДЛВП в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 50).

У животных с прекондиционированием мемантином через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: ЧСС в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 51) и КППР в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 52).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались и достигали контрольных значений: СЛВП в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 49) и ДЛВП в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 50).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались и не достигали контрольных значений: ЧСС, однако p>0,05 (Рисунок 51) и КППР, однако p>0,05 (Рисунок 52).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после прекондиционирования мемантином и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, после тридцатиминутной реперфузии возвращаются к значениям, близким к начальным значениям то есть происходит адекватное их восстановление.

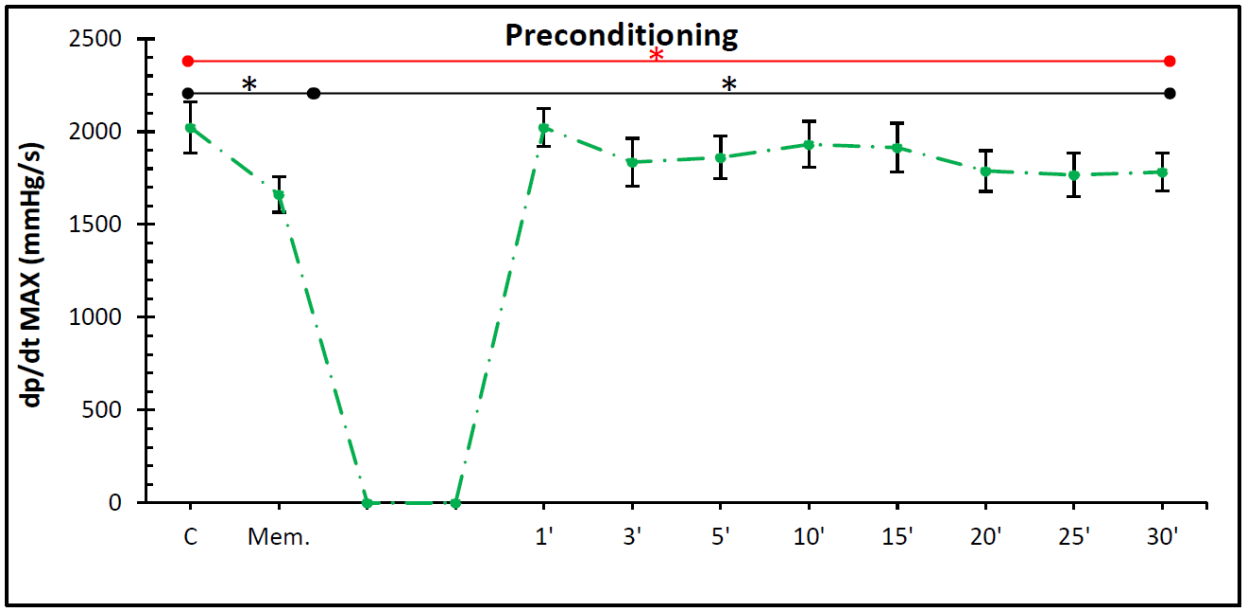

Рисунок 47 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

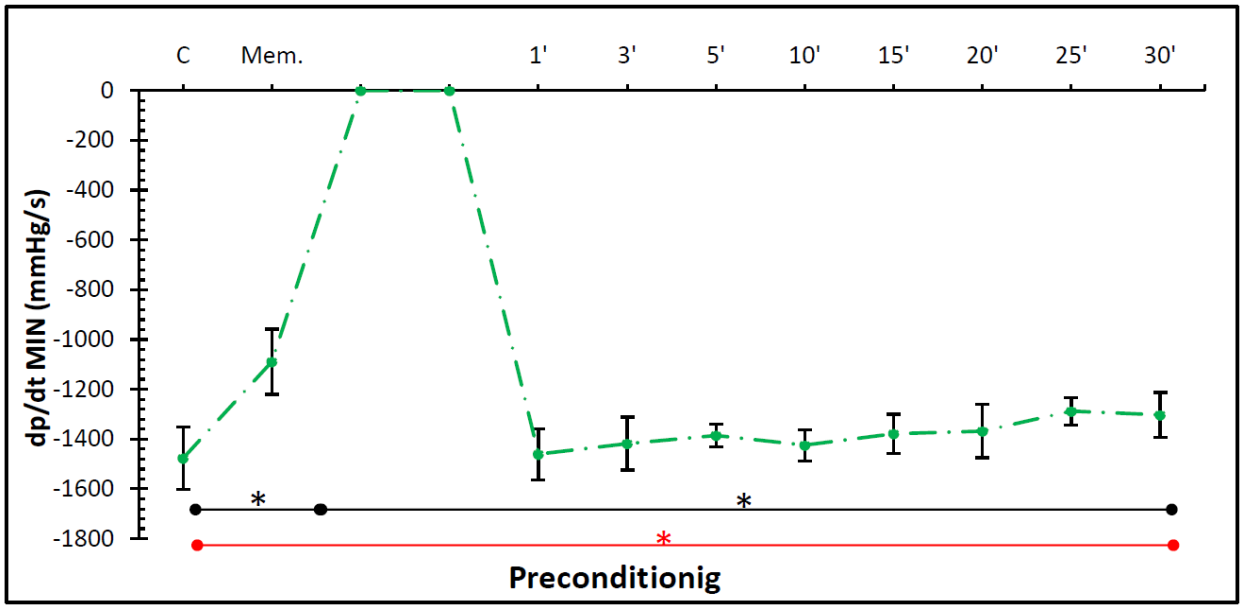

Рисунок 48 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин, в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

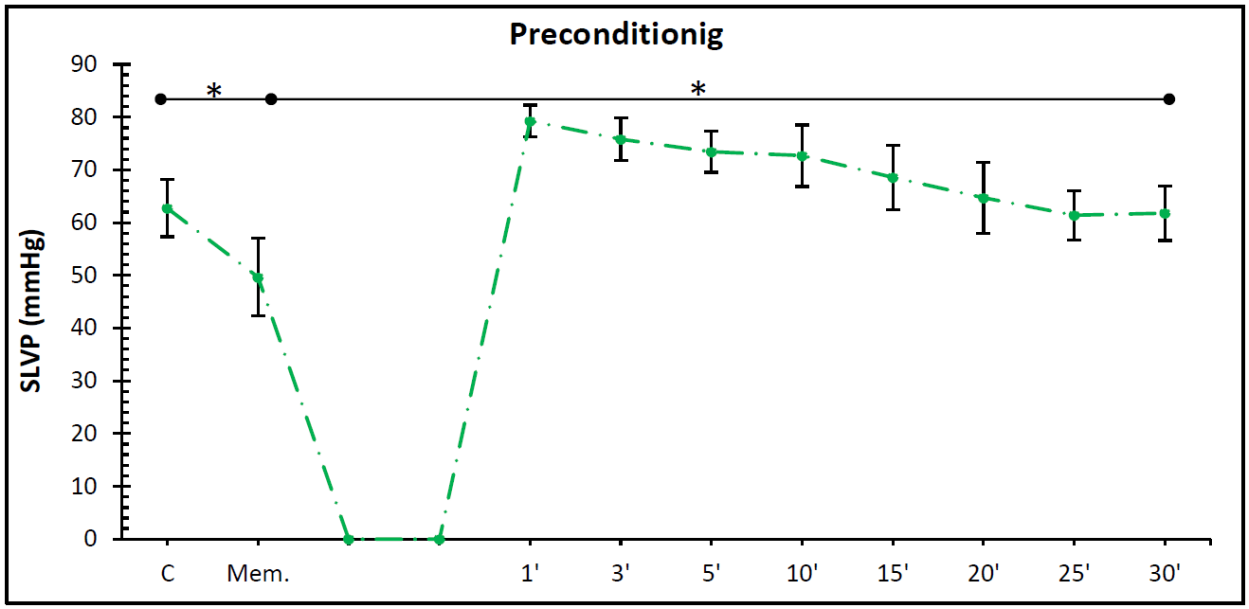

Рисунок 49 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

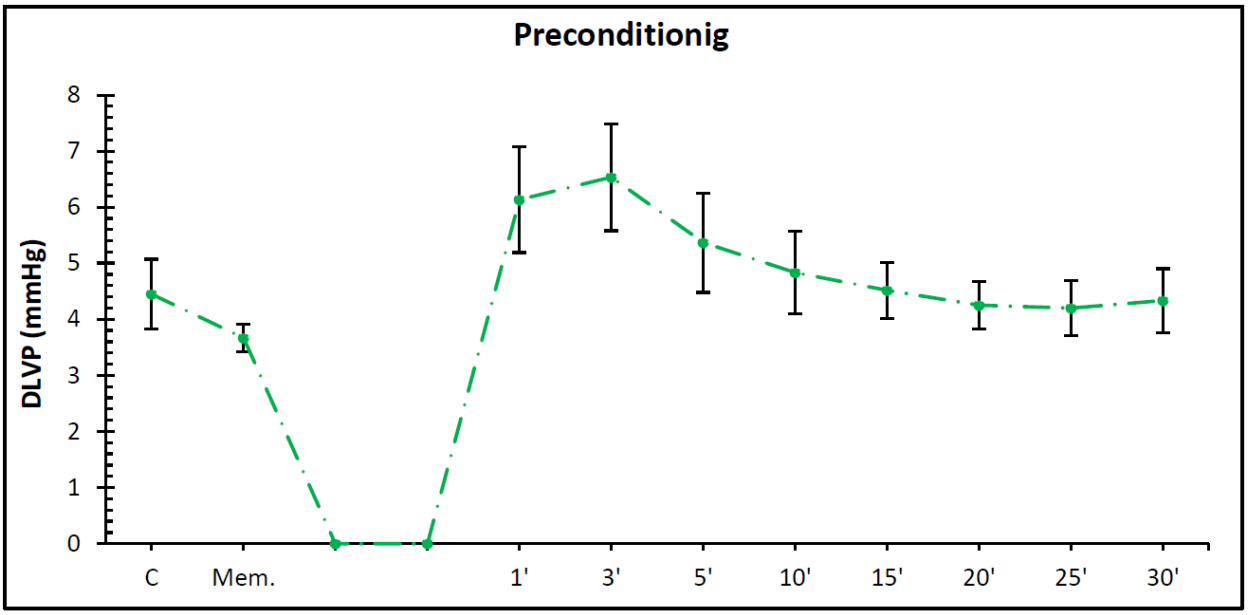

Рисунок 50 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

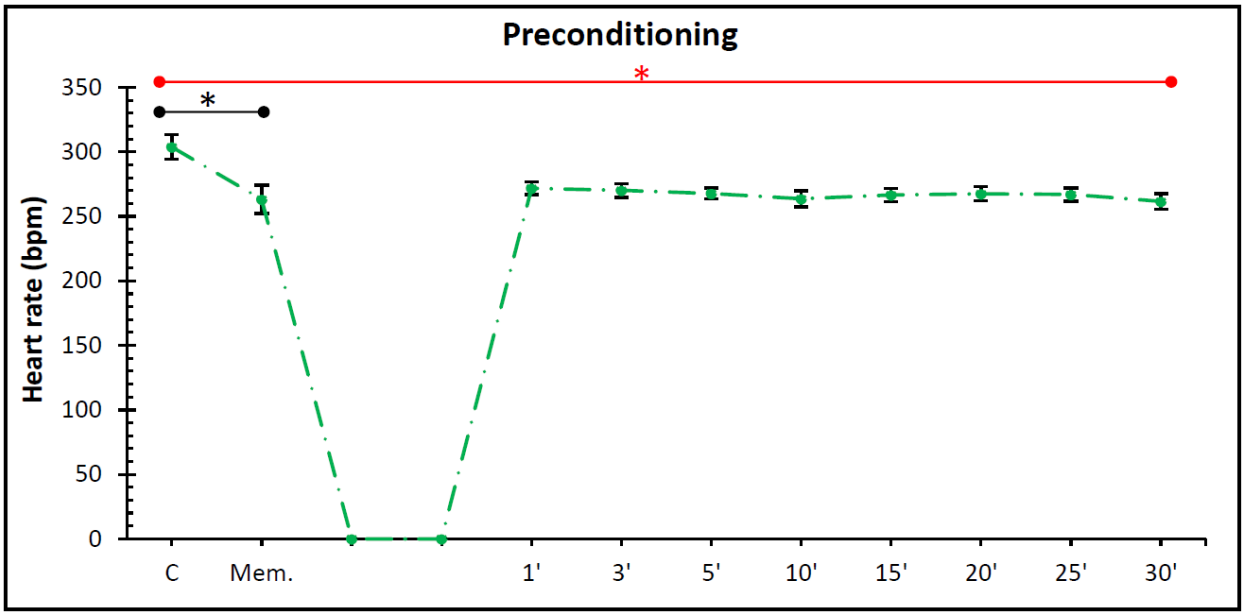

Рисунок 51 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд /мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

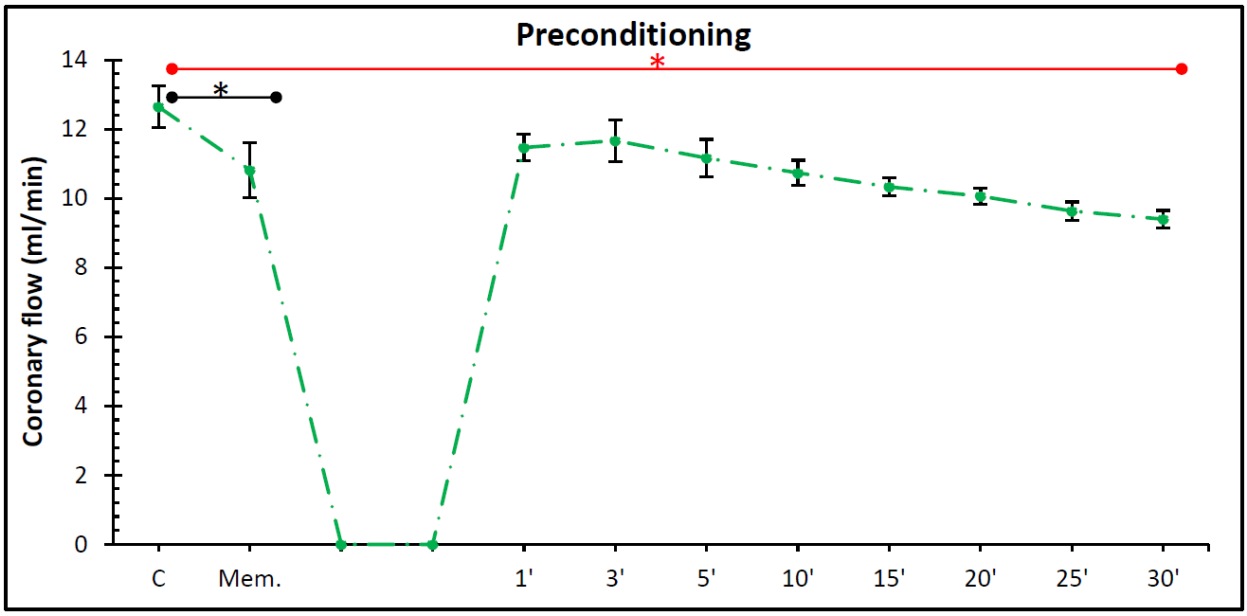

Рисунок 52 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

3.9. Влияние применения мемантина при посткондиционировании на кардиодинамические параметры изолированного сердца крыс

Значения дп/дт макс и дп/дт мин (мм рт.ст./сек), СЛВП и ДЛВП (мм рт.ст.), ЧСС (уд/мин) и КППР (КП, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином представлены в Таблице 11.

У животных с прекондиционированием мемантином через минуту от начала реперфузии миокарда после периода его 20-минутной ишемии увеличивались: СЛВП, однако $p>0,05$ (Рисунок 55) и ДЛВП, однако $p>0,05$ (Рисунок 56).

У животных с посткондиционированием мемантином через минуту от начала реперфузии миокарда снижались: максимальная скорость изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс), однако $p>0,05$ (Рисунок 53), дп/дт мин, однако $p>0,05$, ЧСС в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 54) и КППР, однако $p>0,05$ (Рисунок 58).

Таблица 11 - Показатели функции левого желудочка сердца при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования мемантином

Посткондиционирование мемантином						
Минуты	дп/дт макс (мм рт.ст/сек)	дп/дт мин (мм рт.ст./сек)	СЛВП (мм рт.ст)	ДЛВП (мм рт.ст.)	ЧСС (уд./мин)	КП (мл/мин)
Контроль	2448,3 ± 208,0	-2072,1 ± 155,8	77,3 ± 6,4	2,5 ± 0,3	307,2 ± 9,9	10,4 ± 0,3
Ишемия						
1	2259,4 ± 158,3	-1927,0 ± 115,3	82,7 ± 4,6	2,8 ± 0,1	275,7 ± 7,7*	10,0 ± 0,4
30	2344,0 ± 212,1	-1864,9 ± 139,6	77,3 ± 6,8	2,6 ± 0,2	278,0 ± 3,3	9,6 ± 0,3

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с 1-й минутой реперфузии

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижались и достигали контрольных значений: СЛВП, однако p>0,05 (Рисунок 55) и ДЛВП, однако p>0,05 (Рисунок 56).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что кардиодинамические параметры сердца, после посткондиционирования мемантином и подвергающиеся двадцатиминутной ишемии, после тридцатиминутной реперфузии возвращаются к значениям, близким к начальным значениям то есть происходит адекватное их восстановление.

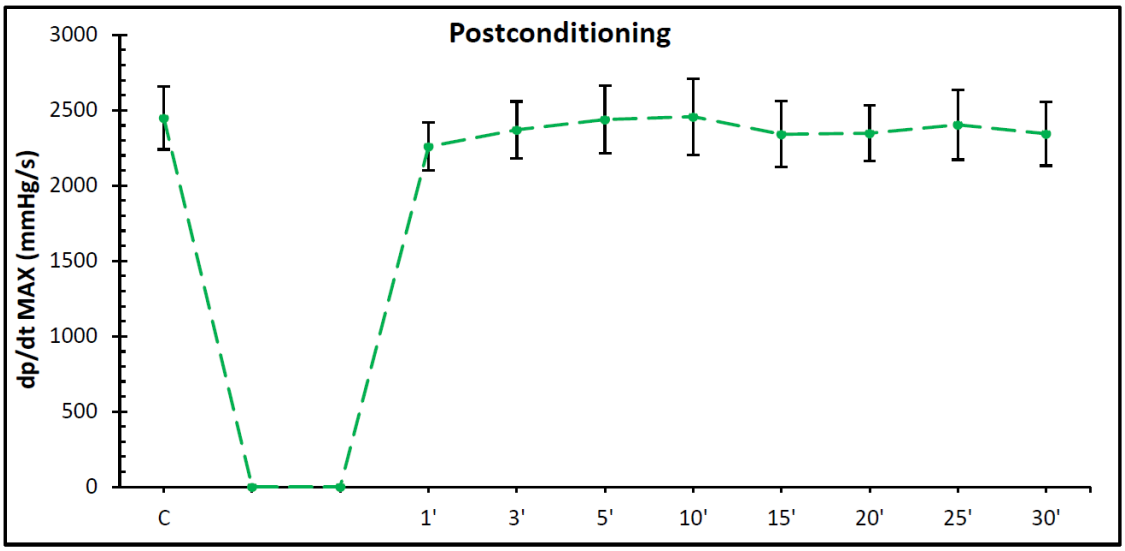

Рисунок 53 - Показатели максимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт макс, в мм рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

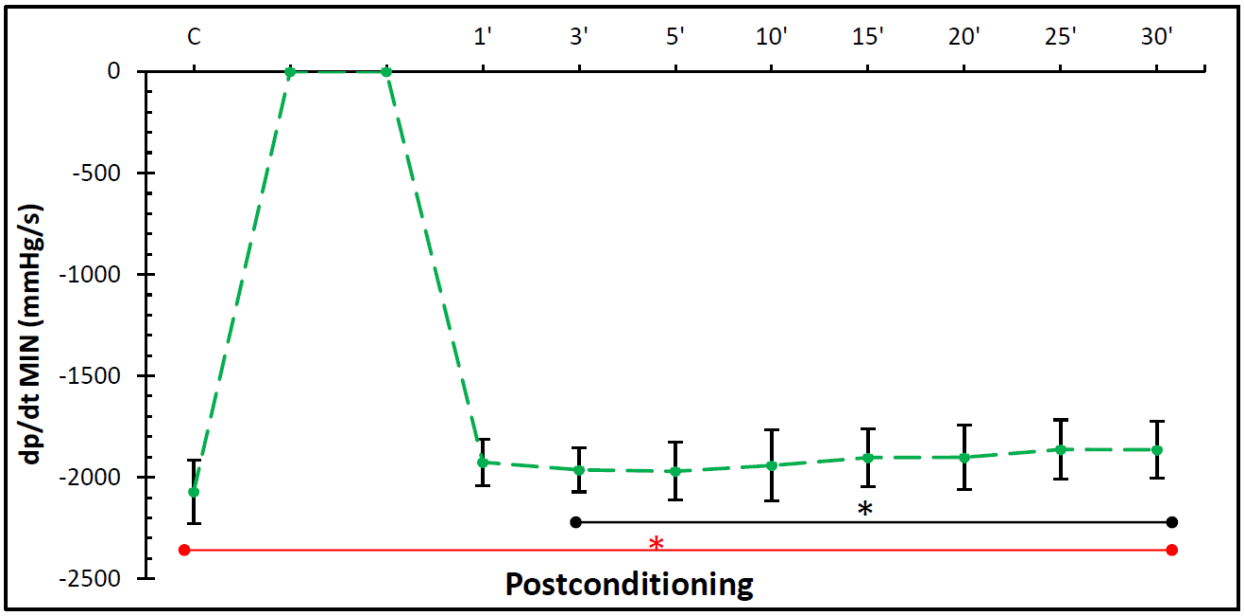

Рисунок 54 - Показатели минимальной скорости изменения давления в левом желудочке (дп/дт мин, в рт.ст./сек) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

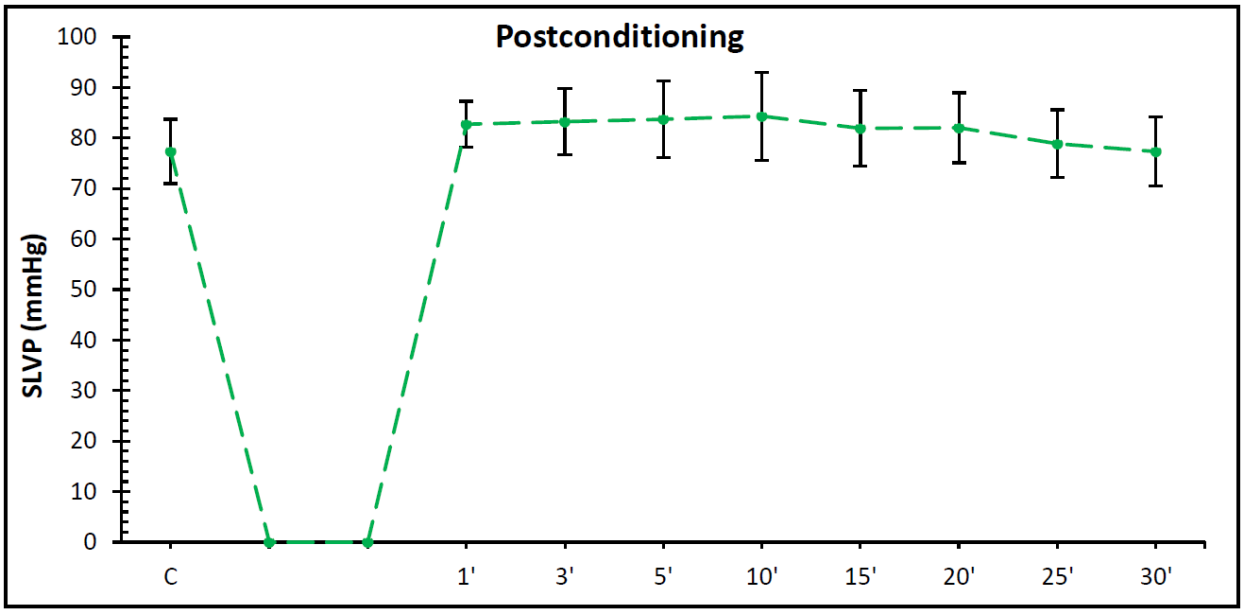

Рисунок 55 - Показатели систолического давления в левом желудочке (СЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

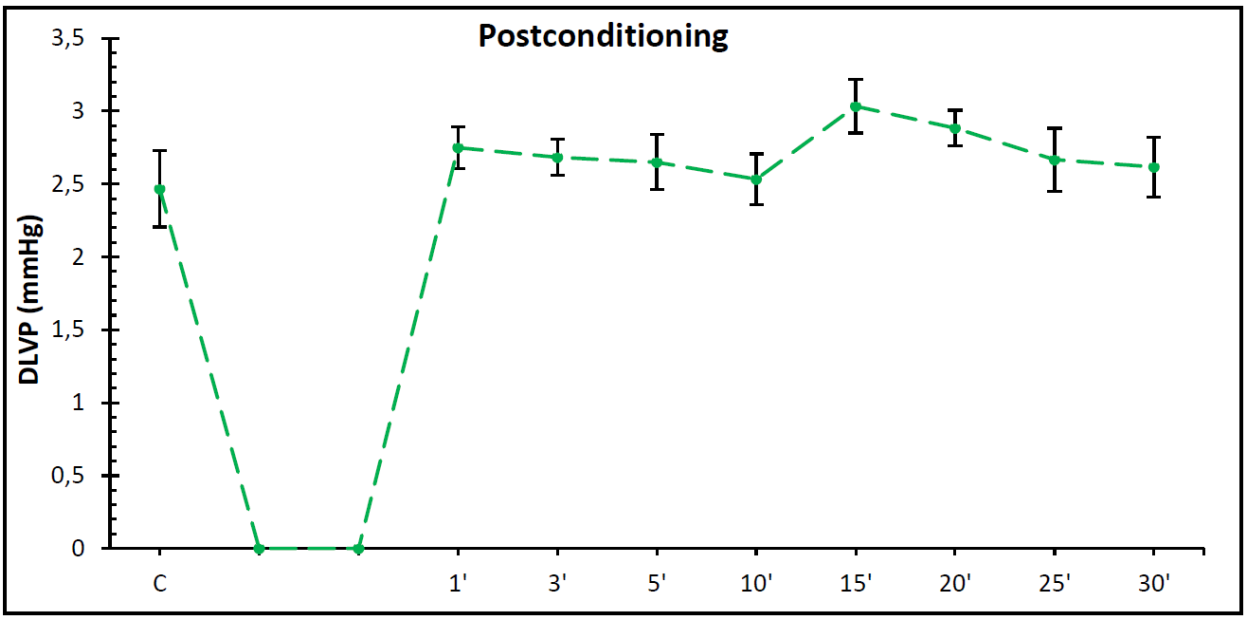

Рисунок 56 - Показатели диастолического давления в левом желудочке (ДЛВП, в мм рт.ст.) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

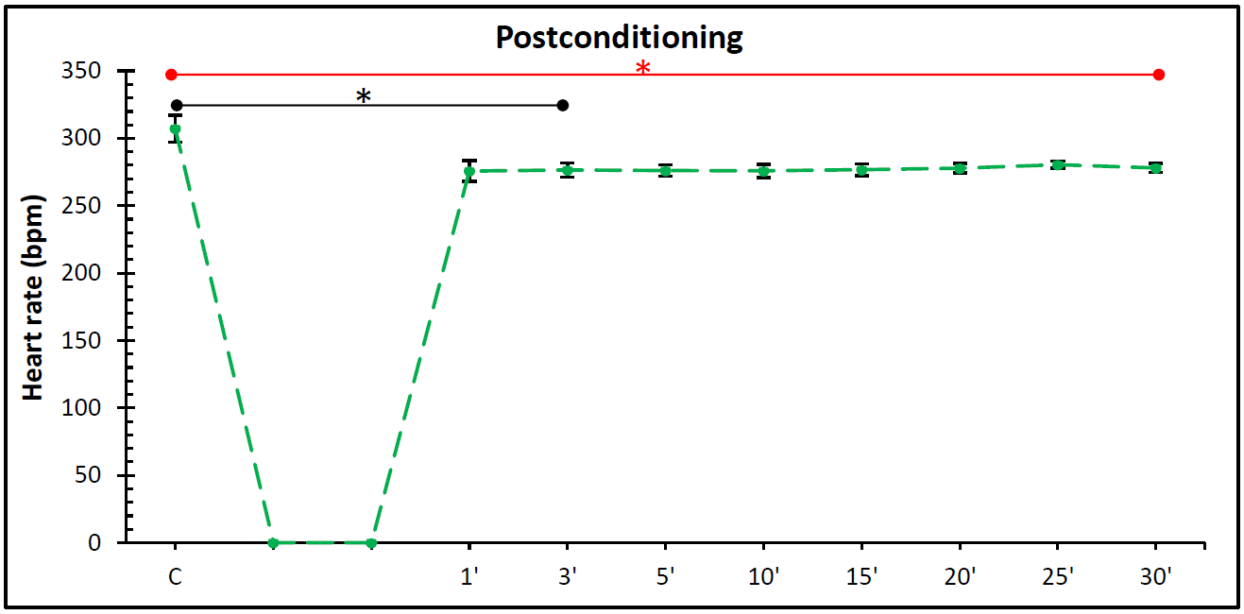

Рисунок 57 - Частота сердечных сокращений (ЧСС, в уд /мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

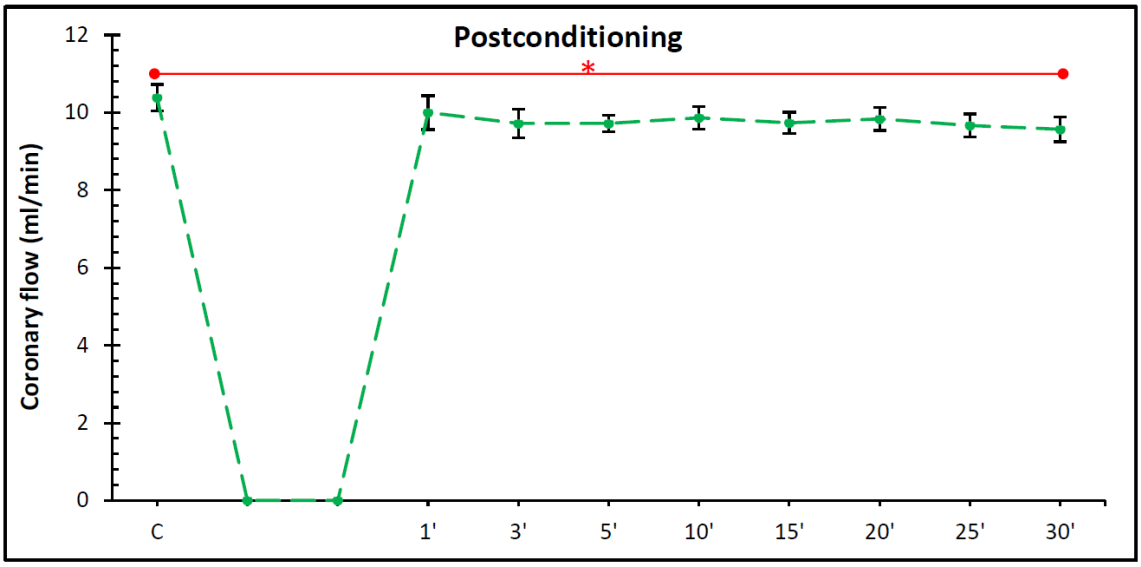

Рисунок 58 - Показатели коронарного потока перфузирующего раствора (КППР, в мл/мин) изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

3.10. Значения параметров оксидационного стресса изолированного сердца крыс после ишемии и во время репефузии без кондиционирования

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии без кондиционирования представлены в Таблице 12.

Таблица 12 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo (контроль)

Контрольная группа без кондиционирования				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	22,3 ± 2,4	97,7 ± 4,9	52,2 ± 1,3	56,5 ± 4,2
Ишемия				
1	28,5 ± 1,8*	104,5 ± 6,7	67,0 ± 1,0*	59,2 ± 6,2
30	27,0 ± 1,8*	96,2 ± 5,6	65,3 ± 5,0*	64,5 ± 2,3*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных контрольной группы через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались: ИПОЛ в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 59), NO_2^-, однакако $p>0,05$ (Рисунок 60), O_2^- в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 61) и H_2O_2, однакако $p>0,05$ (Рисунок 62).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда после периода его 20-минутной ишемии практически не изменились и оставались значительно выше контрольных значени.

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии без кондиционирования возрастают, не возвращаются к значениям, близким к начальным значениям во время тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит адекватного их восстановления.

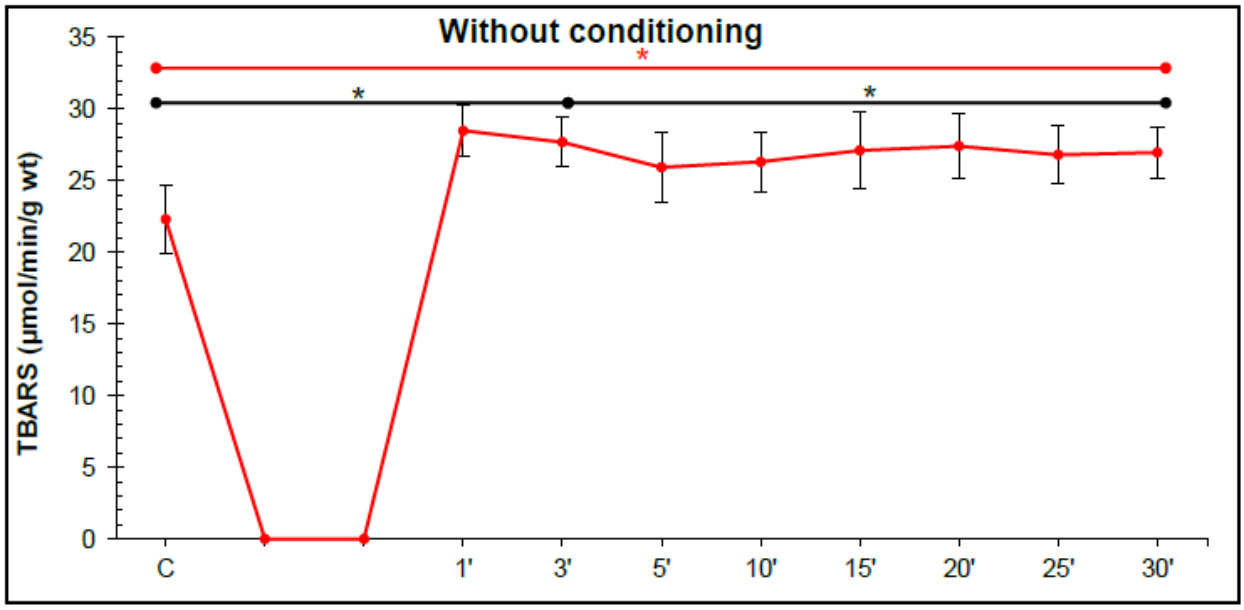

Рисунок 59 - Значения ИПОЛ без кондиционирования

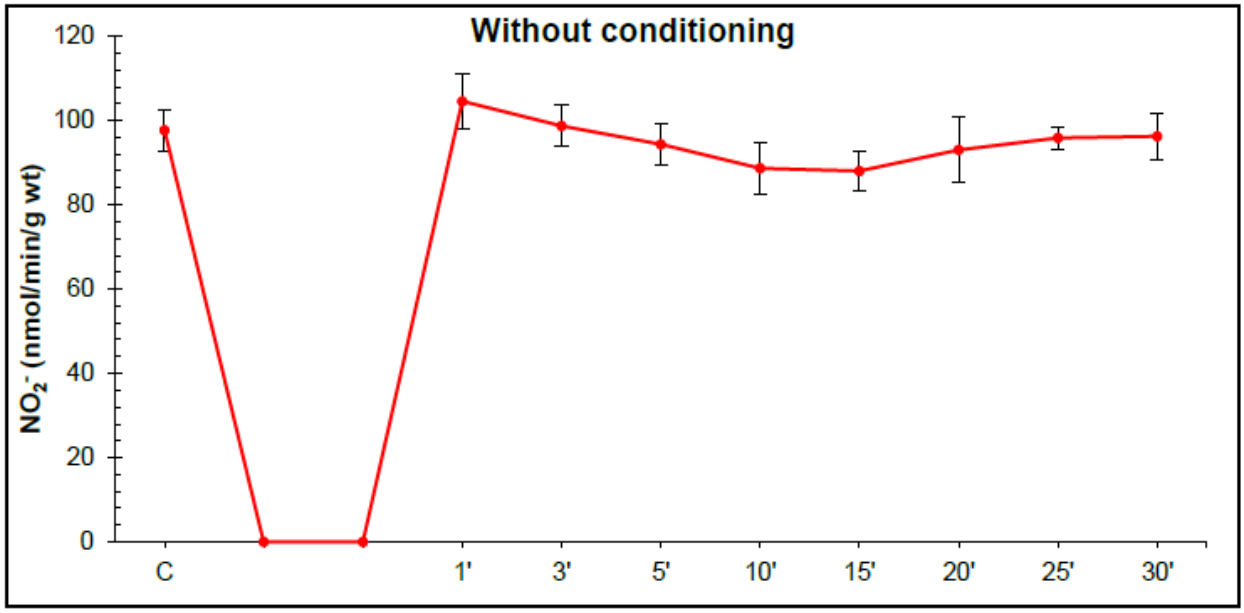

Рисунок 60 - Значения NO_2- без кондиционирования

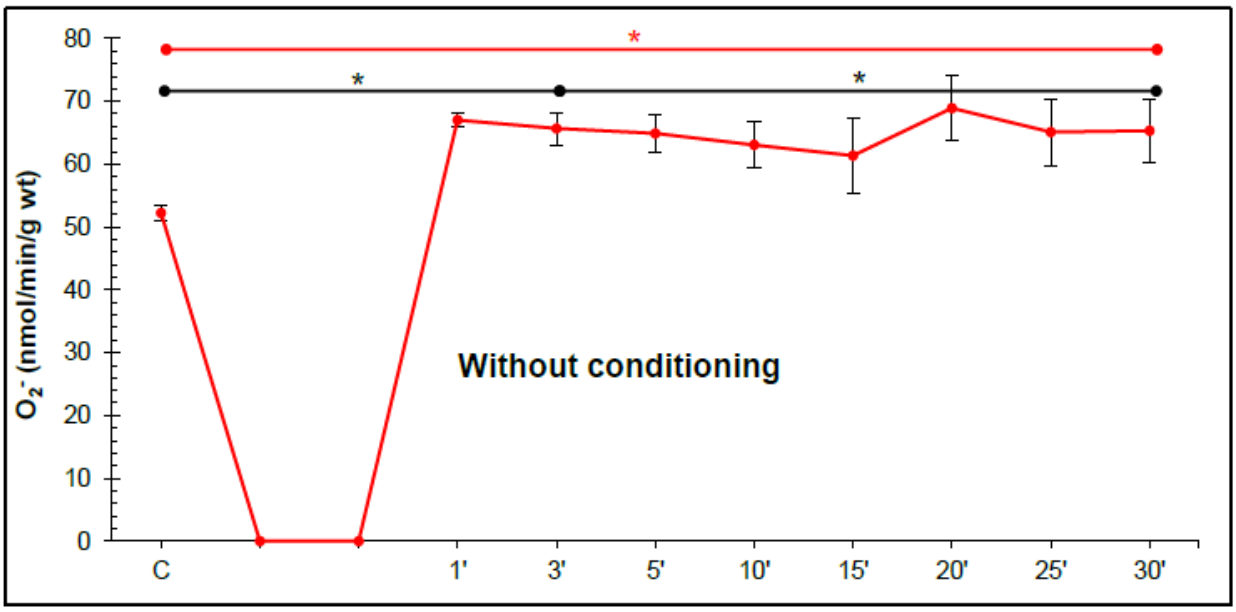

Рисунок 61 - Значения O_2- без кондиционирования

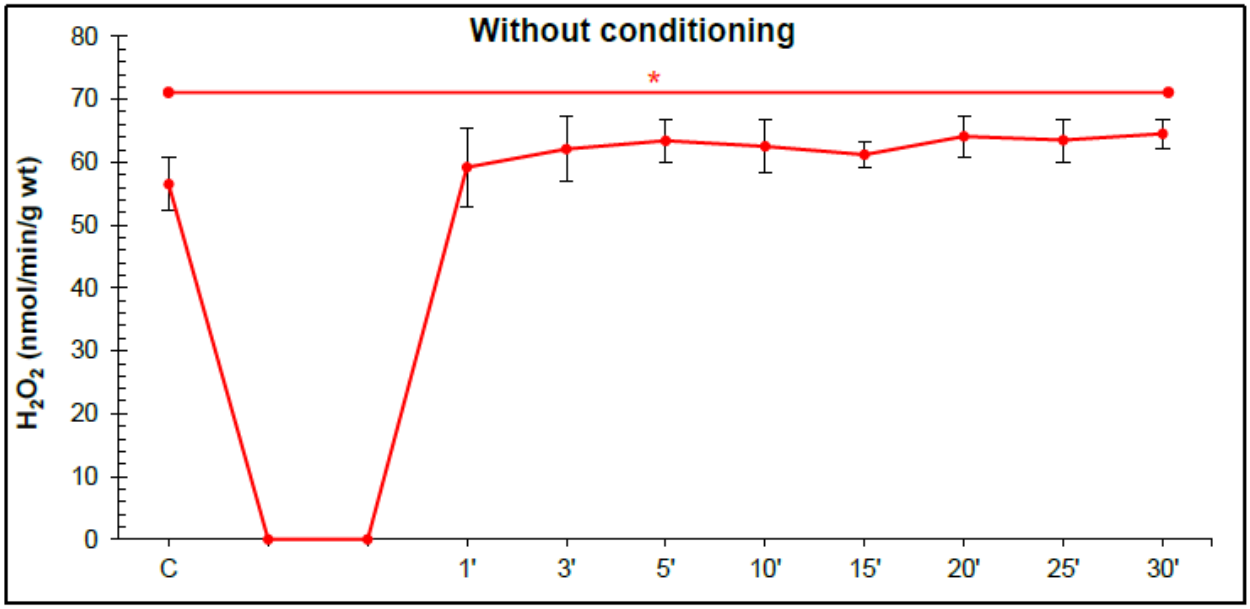

Рисунок 62 - Значения H_2O_2 без кондиционирования

3.11. Влияние применения глутамата при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом представлены в Таблице 13.

Таблица 13 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования глутаматом

Прекондиционирование глутаматом				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	30,1 ± 2,4	103,1 ± 4,2	51,4 ± 1,5	38,3 ± 2,5
Глутамат	29,2 ± 2,6	102,2 ± 4,1	49,8 ± 4,2	40,0 ± 3,3
Ишемия				
1	28,1 ± 1,8	99,9 ± 1,8	49,8 ± 4,2	40,9 ± 2,4
30	30,6 ± 2,7	94,9 ± 1,6*	68,2 ± 3,2*	43,4 ± 2,5*

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с прекондиционированием глутаматом через минуту от начала реперфузии миокарда после периода его 20-минутной ишемии все показатели практически не изменились.

Через полчаса после начала реперфузии миокарда после периода его 20-минутной ишемии снижался оставаясь ниже нормы: NO_2^- в 1,1 раза ($p<0,05$; Рисунок 64).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда увеличивались оставаясь значительно выше контрольных значений: O_2^- в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 65) и H_2O_2 в 1,1 раза ($p<0,5$; Рисунок 66).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после прекондиционирования глутаматом и последующей тридцатиминутной реперфузии возрастают и остаются значительно выше контрольных значений, то есть не происходит адекватного их восстановления.

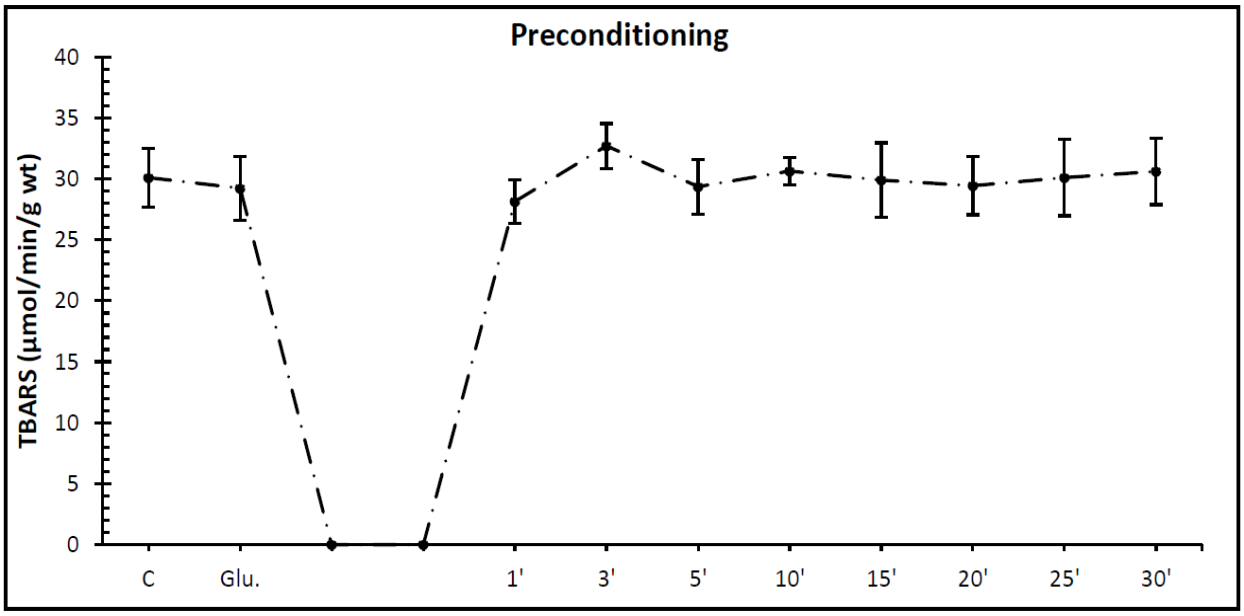

Рисунок 63 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

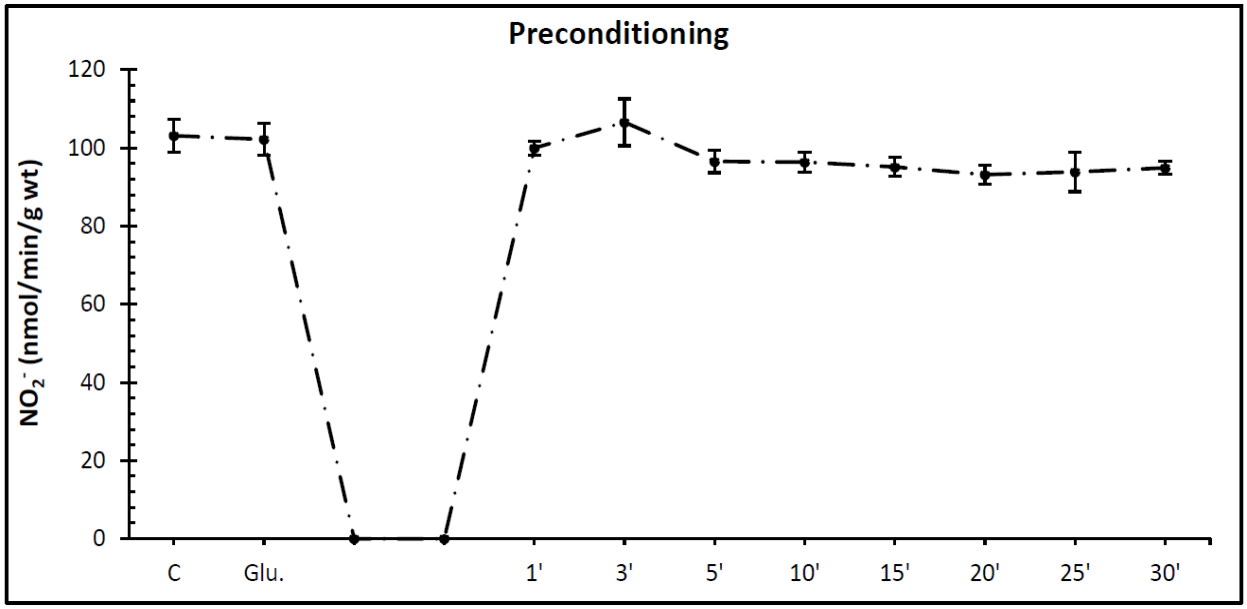

Рисунок 64 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

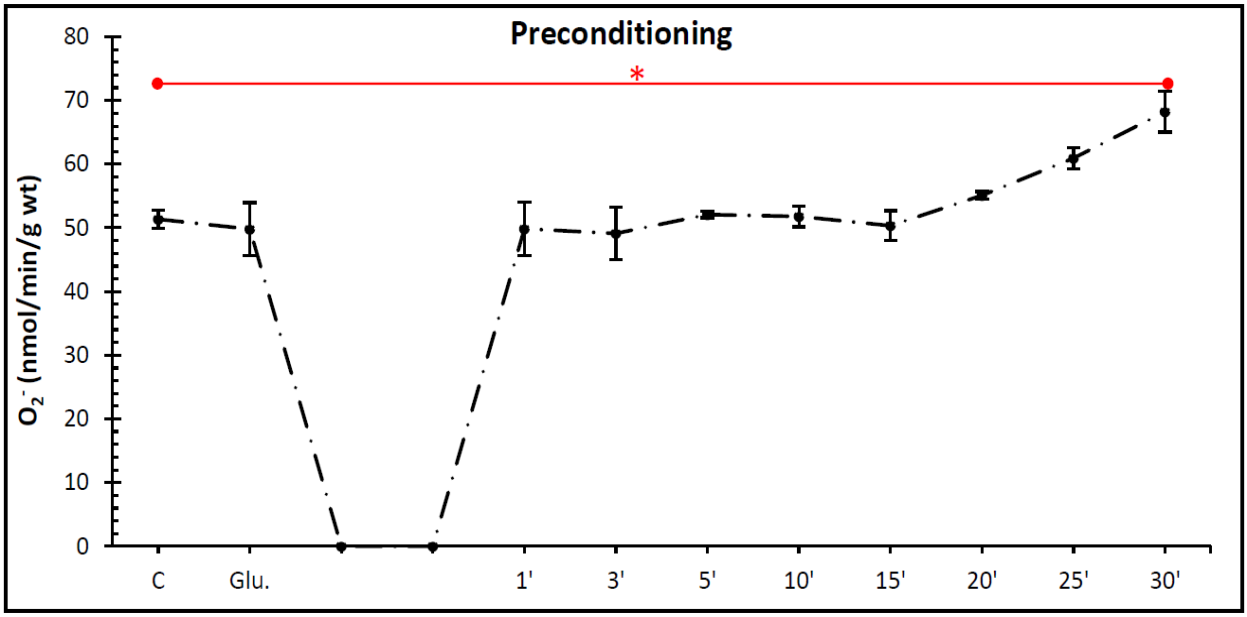

Рисунок 65 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

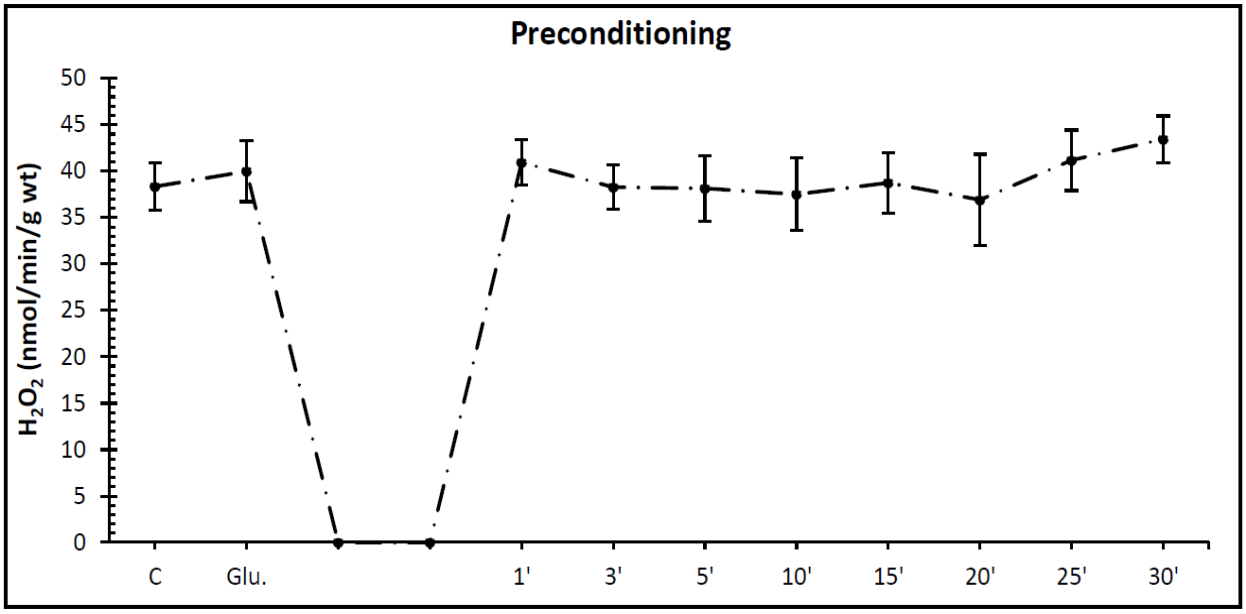

Рисунок 66 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

3.12. Влияние применения глутамата при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом представлены в Таблице 14.

Таблица 14 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования глутаматом

Посткондиционирование глутаматом				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	39,9 ± 0,3	131,9 ± 6,0	35,8 ± 2,5	40,4 ± 2,5
Ишемия				
1	42,4 ± 2,4	132,6 ± 4,1	43,2 ± 8,3	41,4 ± 1,8
30	48,6 ± 2,1* **	130,6 ± 2,0	62,5 ± 4,7* **	38,6 ± 3,8

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с посткондиционированием глутаматом через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались: ИПОЛ, однако p>0,05 (Рисунок 67) и O_2^-, однако p>0,05 (Рисунок 69).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда увеличивались оставаясь значительно выше нормы : ИПОЛ в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 67) и O_2^- в 1,8 раза (p<0,05; Рисунок 69).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после посткондиционирования глутаматом и последующей тридцатиминутной реперфузии возрастают и

остаются значительно выше контрольных значений, то есть не происходит адекватного их восстановления.

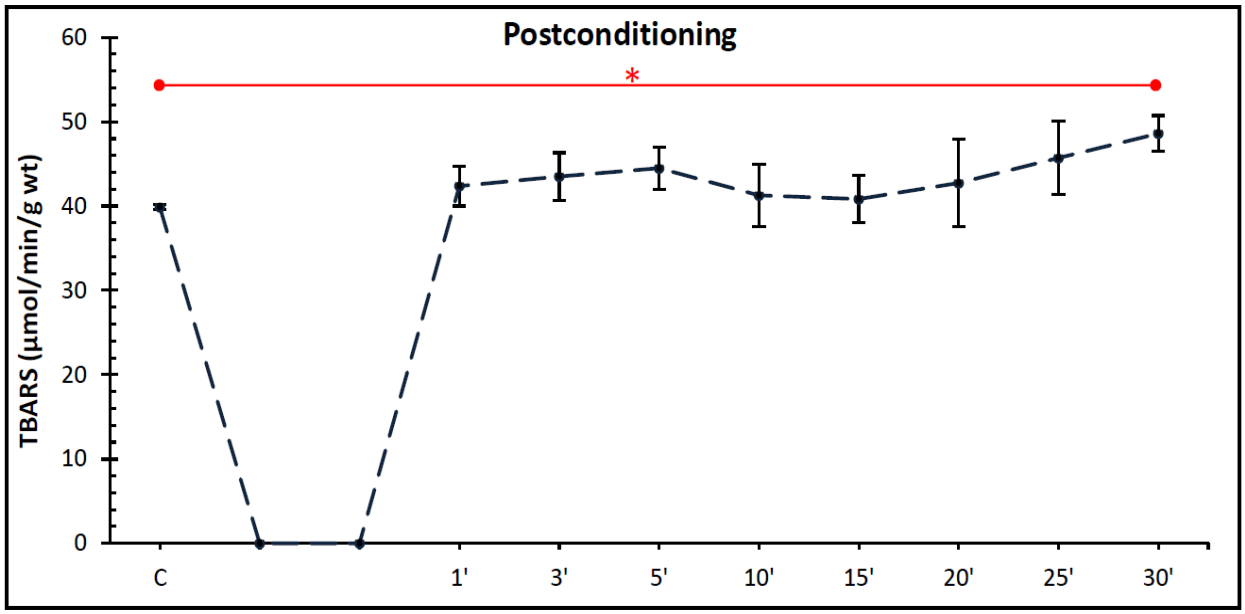

Рисунок 67 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

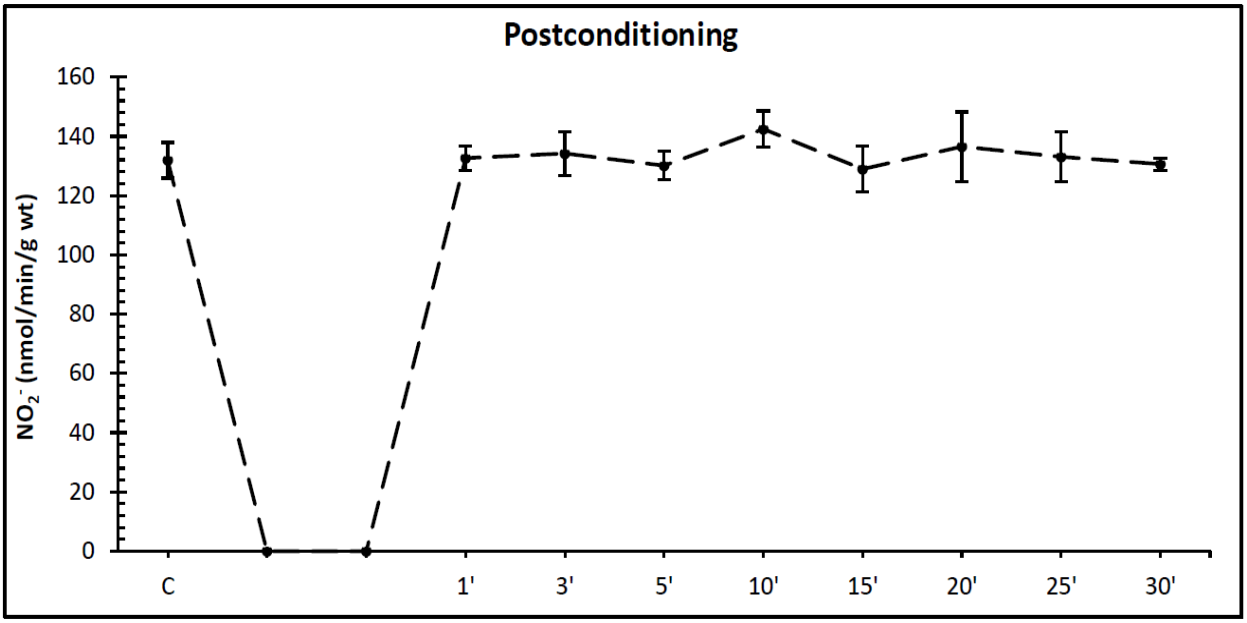

Рисунок 68 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глутаматом

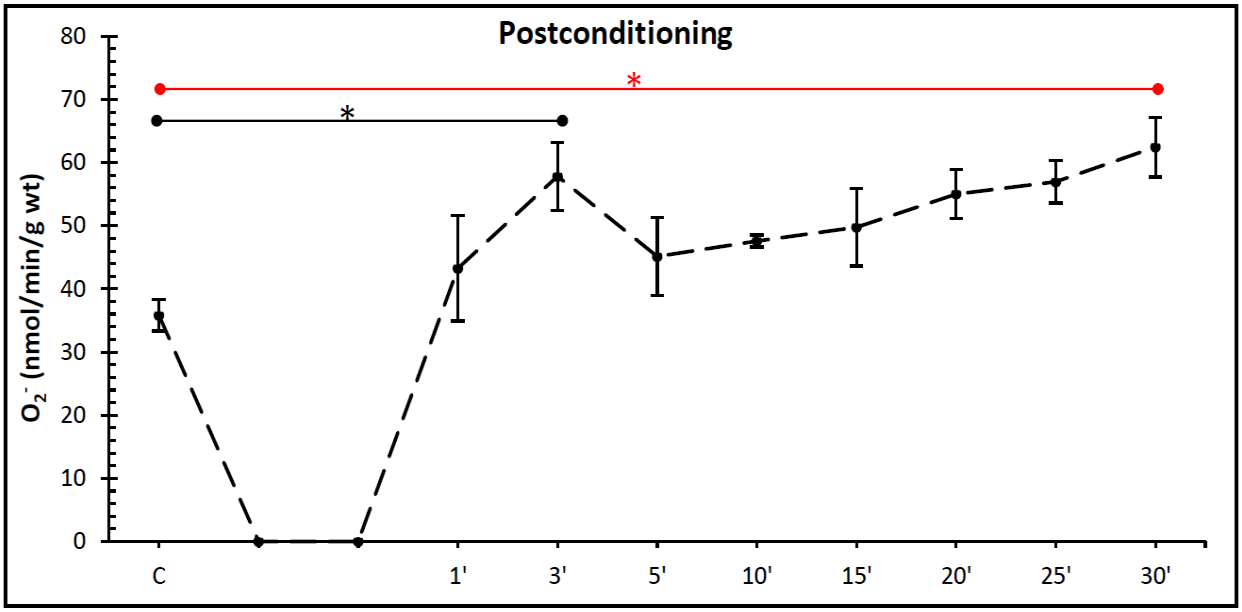

Рисунок 69 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

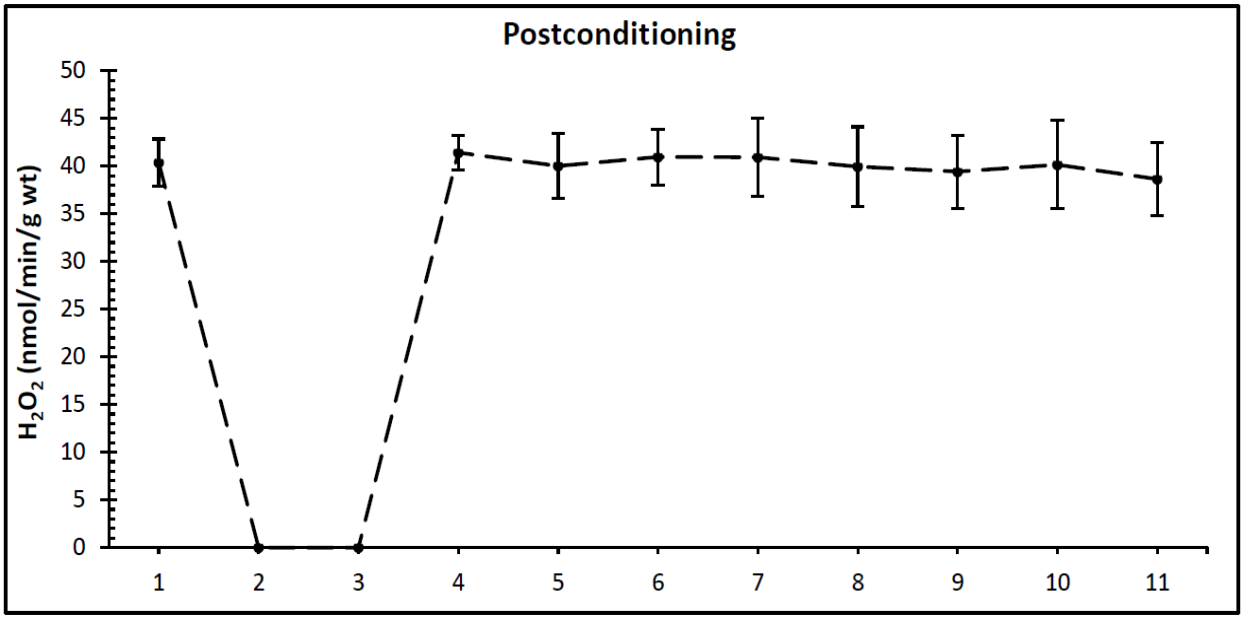

Рисунок 70 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глутаматом

3.13. Влияние применения (RS)-(tetrazol-5-YL) глицина при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином представлены в Таблице 15.

Таблица 15 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования глицином

Прекондиционирование глицином				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	25,8 ± 1,7	103,7 ± 7,3	50,7 ± 2,1	49,7 ± 2,3
Глицин	25,9 ± 3,2	100,2 ± 5,7	64,7 ± 4,6	50,6 ± 2,9
Ишемия				
1	27,0 ± 2,2	99,5 ± 7,9	60,4 ± 5,5*	51,4 ± 2,4
30	28,5 ± 2,3	99,2 ± 8,5	66,2 ± 3,8	51,9 ± 2,2

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с прекондиционированием глицином через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивались: ИПОЛ, однако $p<0,05$ (Рисунок 71), O_2^- в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 73) и H_2O_2, однако $p>0,05$ (Рисунок 74).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда увеличивались оставаясь значительно выше нормы : ИПОЛ (Рисунок 71), O_2^- в 1,3 раза ($p<0,05$; Рисунок 73) и H_2O_2 (Рисунок 74).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после прекондиционирования глицином и последующей тридцатиминутной реперфузии возрастают и остаются значительно выше контрольных значений, то есть не происходит адекватного их восстановления.

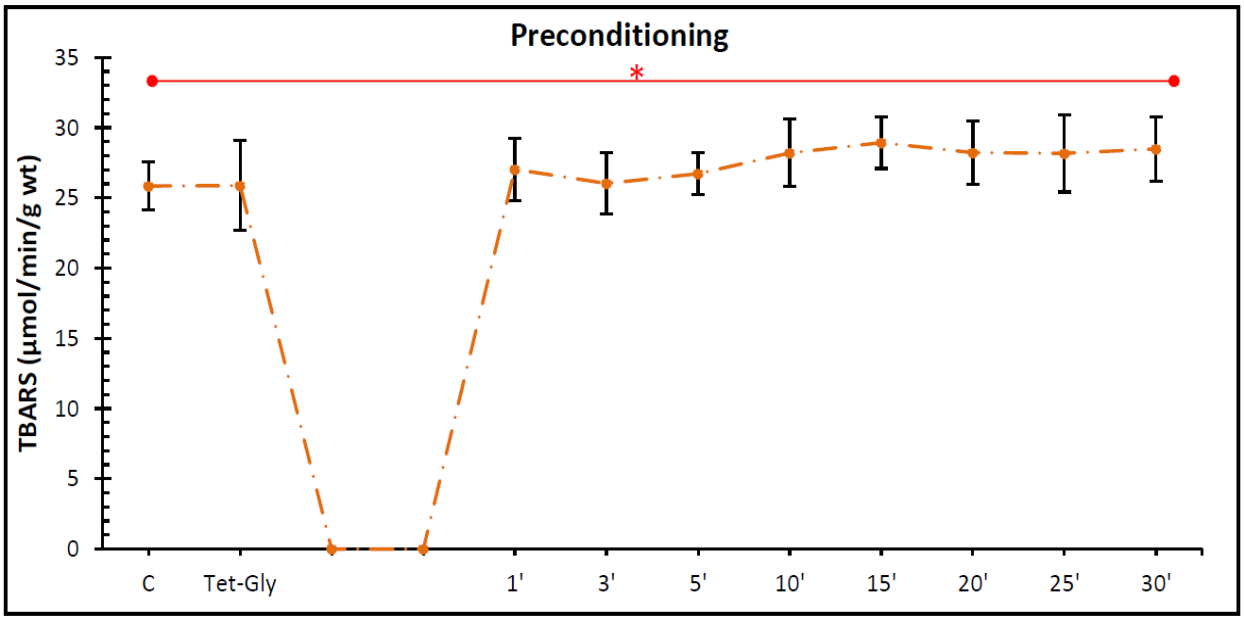

Рисунок 71 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

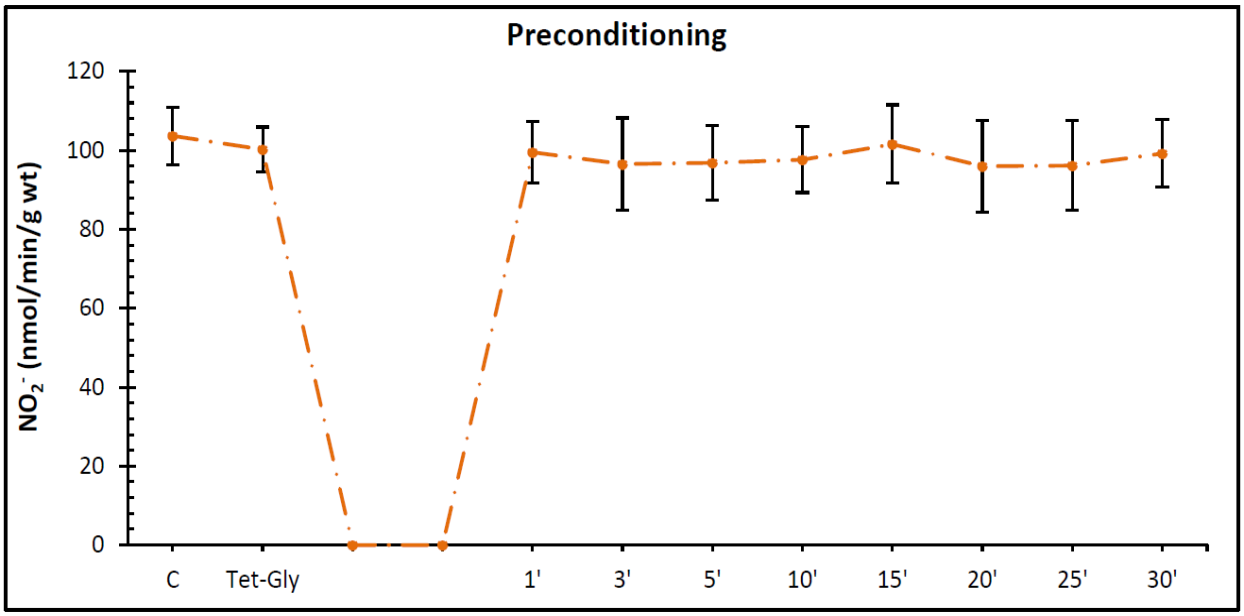

Рисунок 72 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

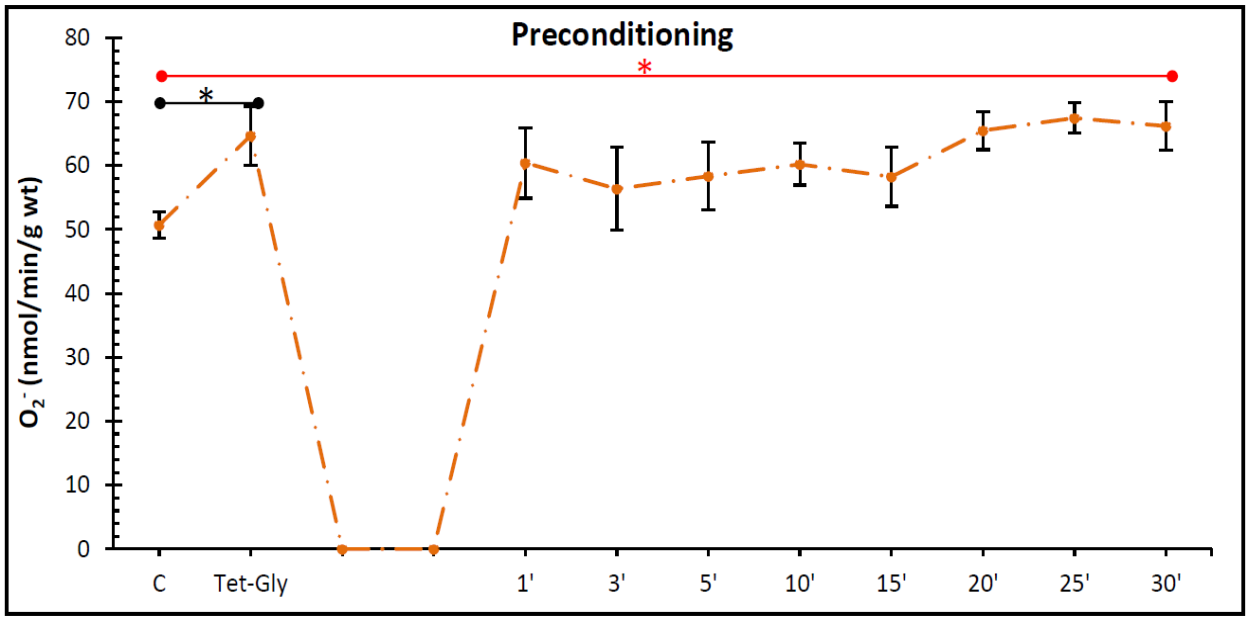

Рисунок 73 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

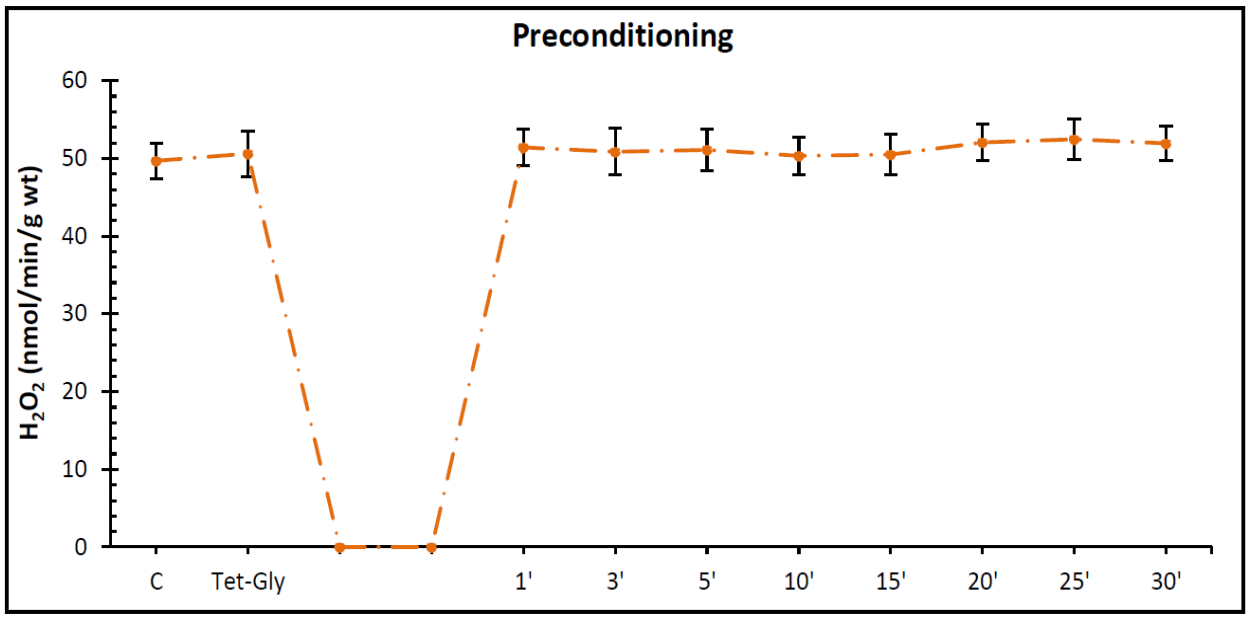

Рисунок 74 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании глицином

3.14. Влияние применения (RS)-(tetrazol-5-YL) глицина при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином представлены в Таблице 16.

Таблица 16 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования глицином

Посткондиционирование глицином				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	30,2 ± 2,0	130,4 ± 7,5	50,1 ± 1,6	50,6 ± 1,3
Ишемия				
1	28,6 ± 2,2	130,7 ± 7,7	65,4 ± 7,4*	55,4 ± 7,4
30	27,2 ± 0,8	121,9 ± 11,5	67,0 ± 4,5*	57,0 ± 4,5*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с посткондиционированием глицином через минуту от начала реперфузии миокарда увеличивался: O_2^- в 1,3 раза (p<0,05; Рисунок 75) и H_2O_2, однако p>0,05 (Рисунок 76) .

Через полчаса после начала реперфузии миокарда увеличивались оставаясь значительно выше нормы : O_2^- в 1,4 раза (p<0,05; Рисунок 75) и H_2O_2 в 1,1 раза (p<0,05; Рисунок 76).

Таким можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после посткондиционирования глицином и последующей тридцатиминутной реперфузии возрастают и остаются значительно

выше контрольных значений, то есть не происходит адекватного их восстановления.

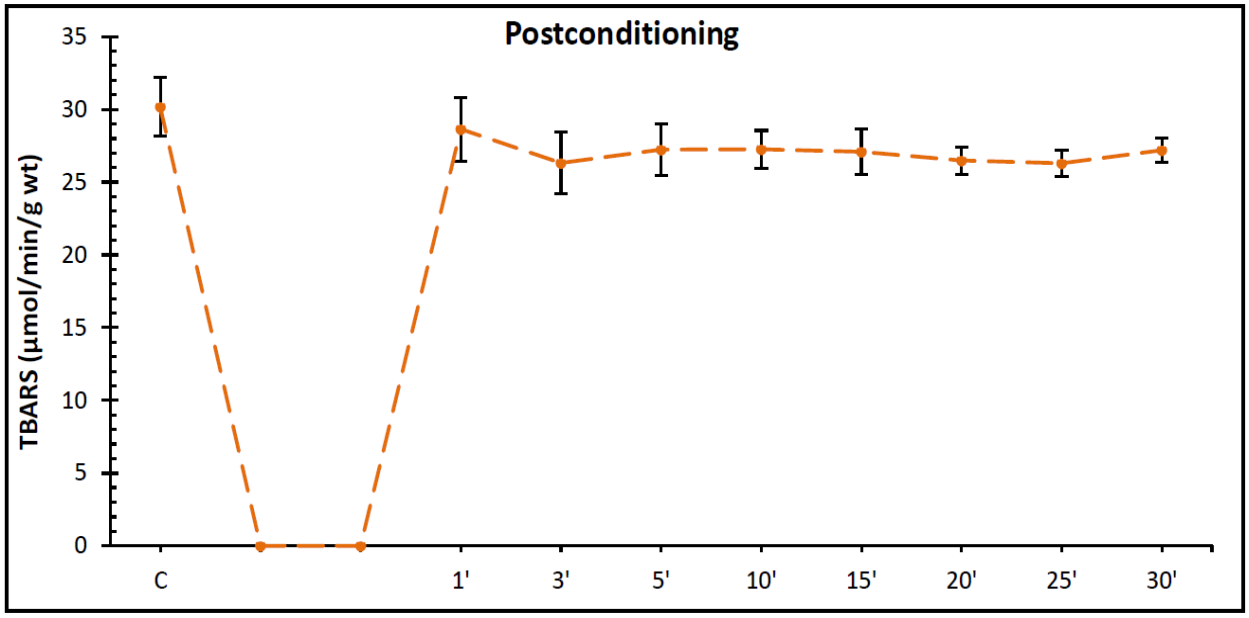

Рисунок 75 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

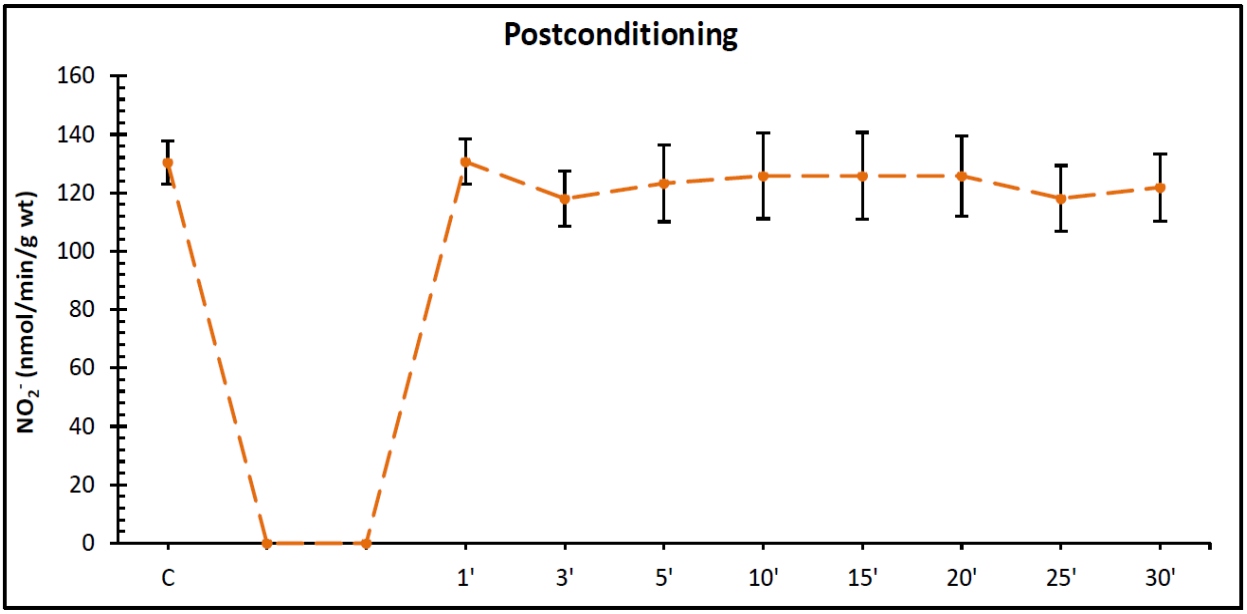

Рисунок 76 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

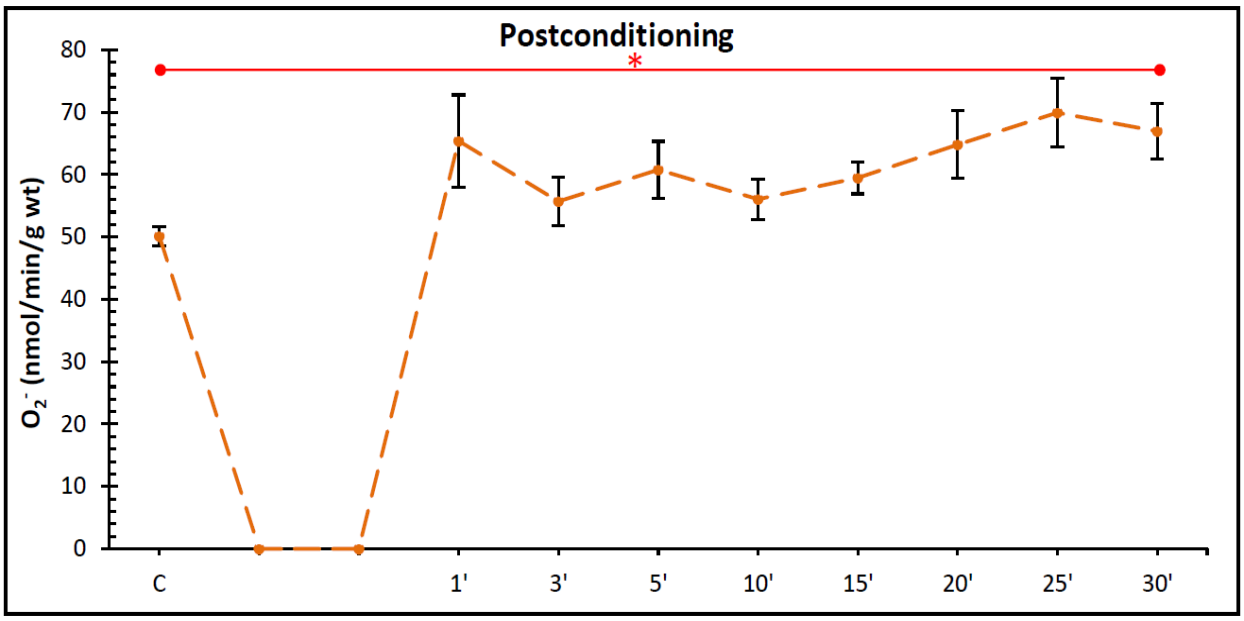

Рисунок 77 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

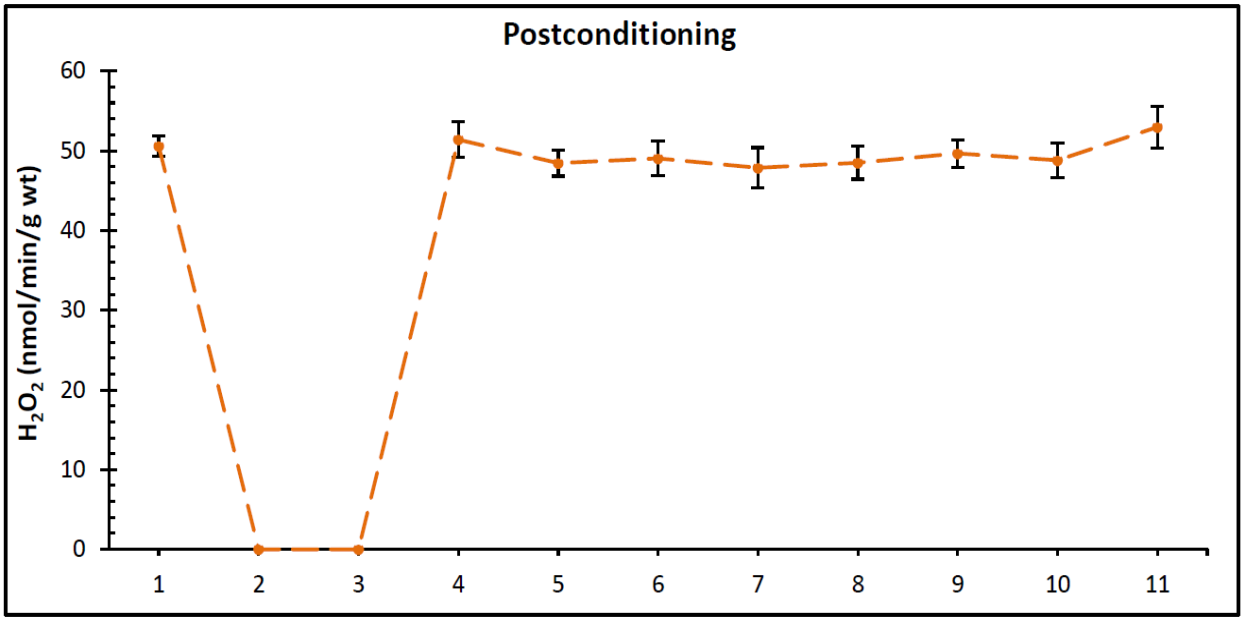

Рисунок 78 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании глицином

3.15. Влияние применения МК-801 при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801 представлены в Таблице 17.

Таблица 17 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования МК-801

Прекондиционирование МК-801				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	23,1 ± 1,6	105,3 ± 9,0	52,9 ± 5,4	49,6 ± 3,7
МК-801	15,4 ± 2,0	67,3 ± 6,6	35,1 ± 2,4	27,1 ± 5,6
Ишемия				
1	20,6 ± 2,6	90,8 ± 6,1	47,0 ± 4,7	44,4 ± 5,6
30	15,8 ± 2,4*	95,9 ± 4,6	49,5 ± 4,6	36,2 ± 4,0*

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с прекондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда снижаются: ИПОЛ, однако $p>0,05$ (Рисунок 79), NO_2^-, однако $p>0,05$ (Рисунок 80), O_2^-, однако $p>0,05$ (Рисунок 81) и H_2O_2, однако $p>0,05$ (Рисунок 82).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижаются оставаясь значительно ниже нормы : ИПОЛ в 1,5 раза ($p<0,05$; Рисунок 79), NO_2^-, однако $p>0,05$ (Рисунок 80), O_2^-, однако $p>0,05$ (Рисунок 81) и H_2O_2 в 1,4 раза ($p<0,05$).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после прекондиционирования МК-801 снижаются и после последующей тридцатиминутной реперфузии также остаются значительно ниже контрольных значений.

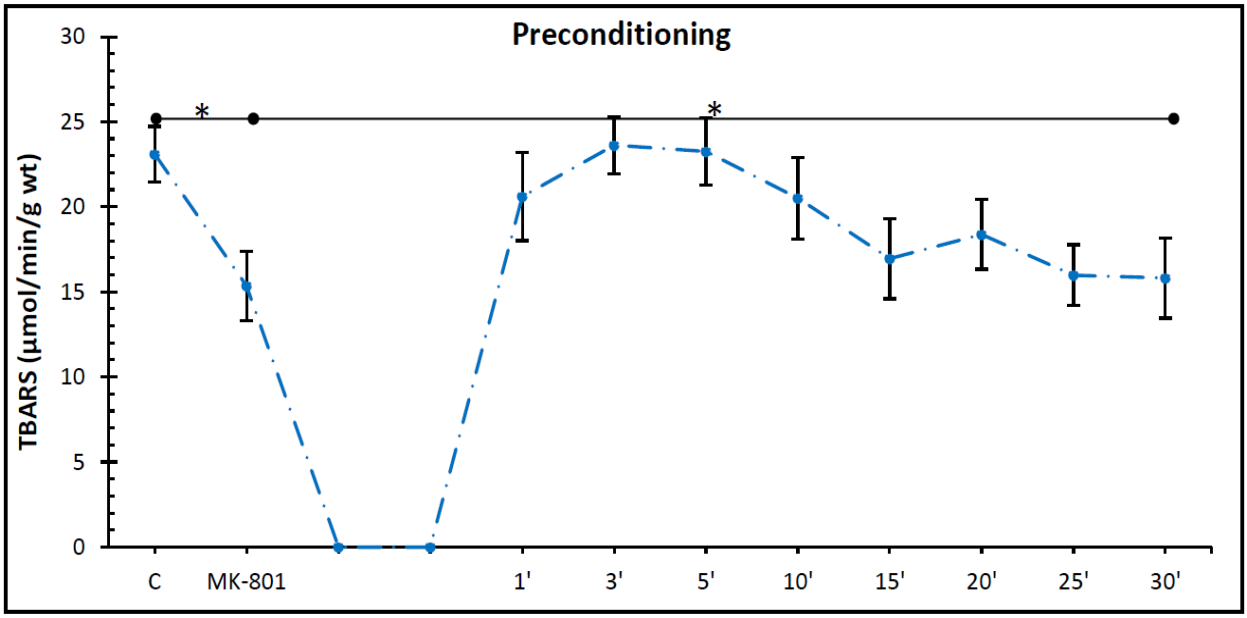

Рисунок 79 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

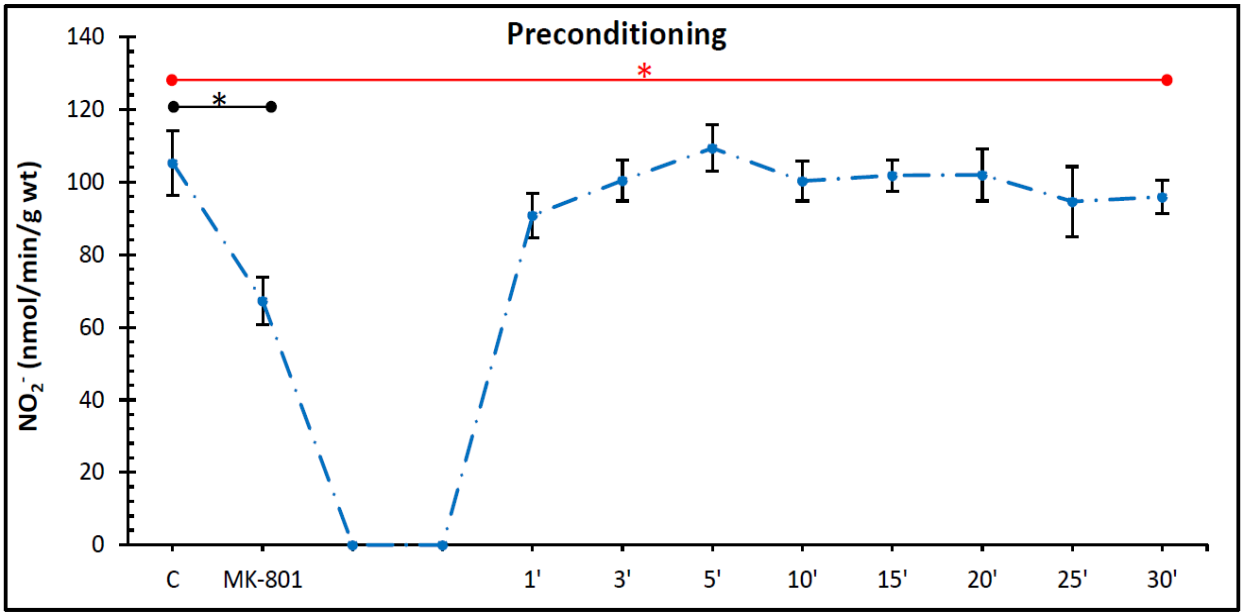

Рисунок 80 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

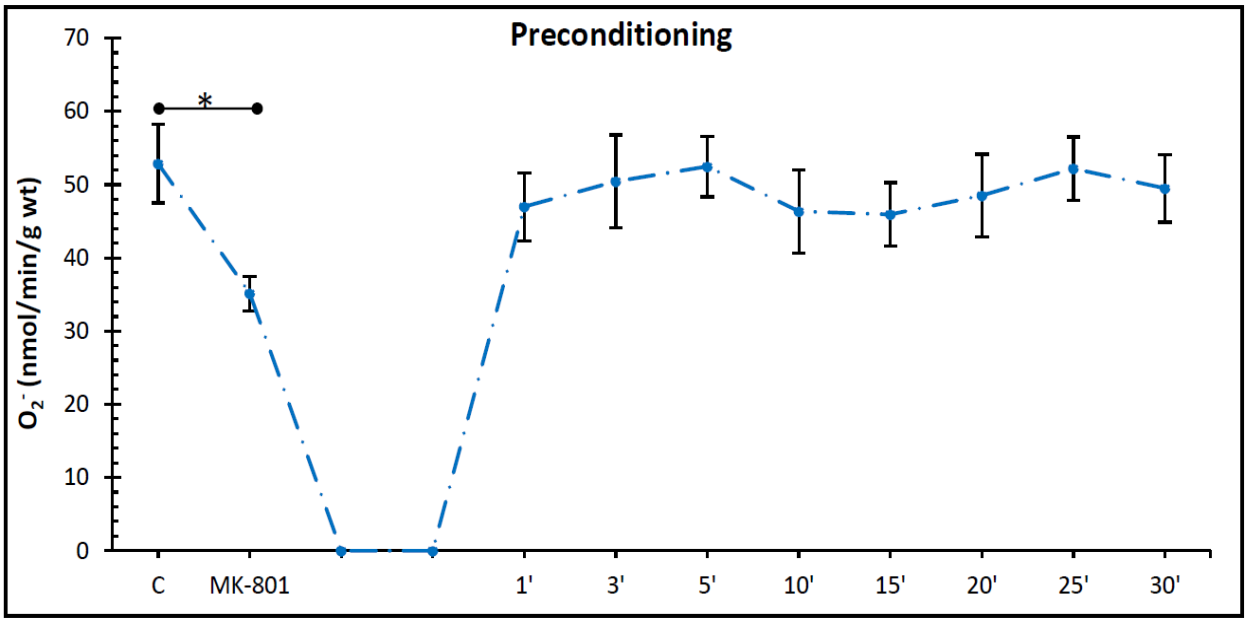

Рисунок 81 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

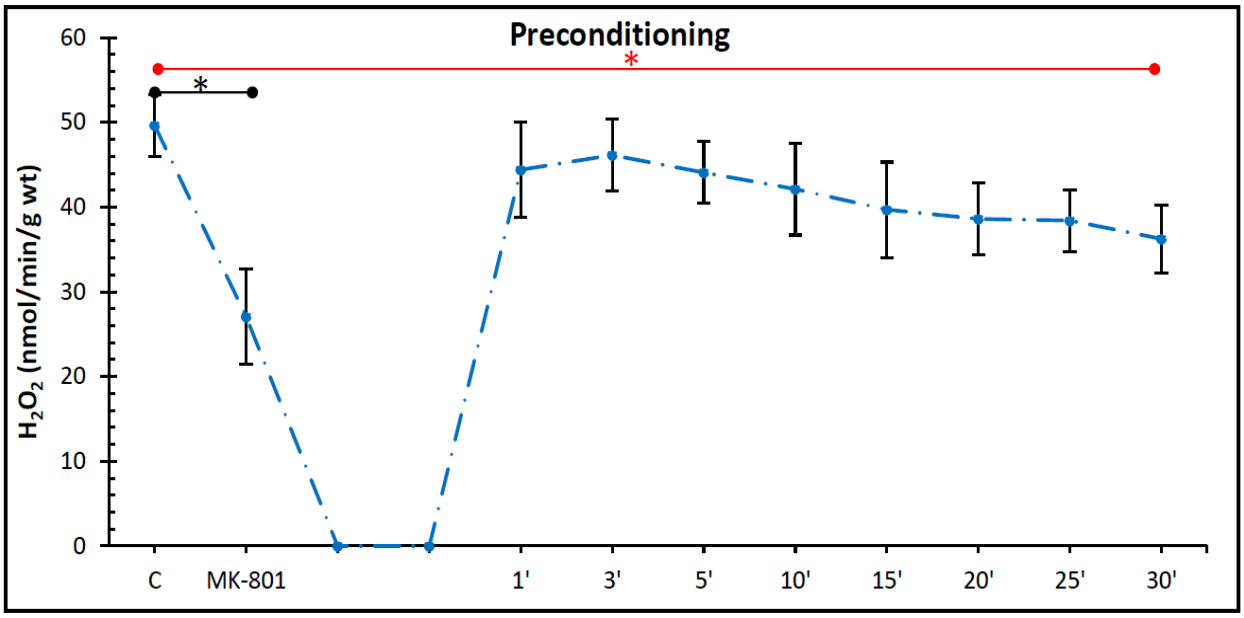

Рисунок 82 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании МК-801

3.16. Влияние применения МК-801 при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801 представлены в Таблице 18.

Таблица 18 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования МК-801

Посткондиционирование МК-801				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	24,7 ± 2,4	114,6 ± 14,9	50,6 ± 4,2	57,7 ± 1,3
Ишемия				
1	24,1 ± 1,8	99,9 ± 8,7*	45,6 ± 6,2	51,0 ± 1,0*
30	25,2 ±1,8	112,7 ± 5,6	49,0 ± 2,3	48,5 ± 5,0*

Примечание^ * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с посткондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда снижаются: NO_2^- в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 84), O_2^-, однако p>0,05 (Рисунок 85) и H_2O_2 в 1,1 раза (p<0,05; Рисунок 86).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда увеличиваются до контрольных значений : NO_2^-, однако p>0,05 (Рисунок 84) и O_2^-, однако p>0,05 (Рисунок 85).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после посткондиционирования МК-801 снижаются и после последующей тридцатиминутной реперфузии увеличиваются не превышая контрольных значений.

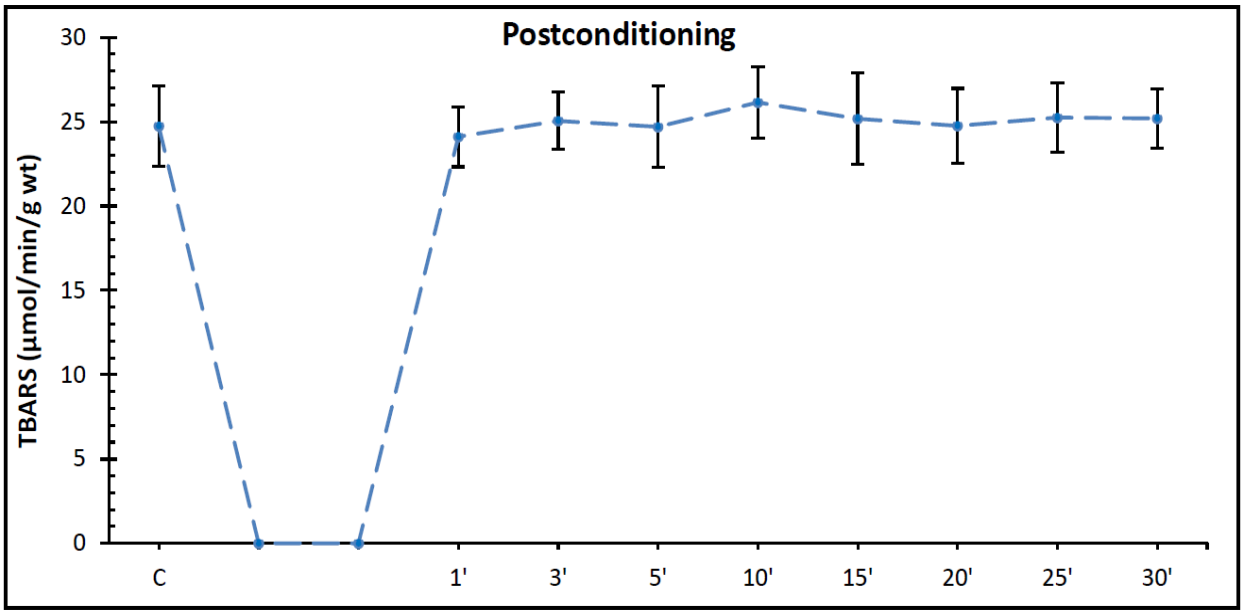

Рисунок 83 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

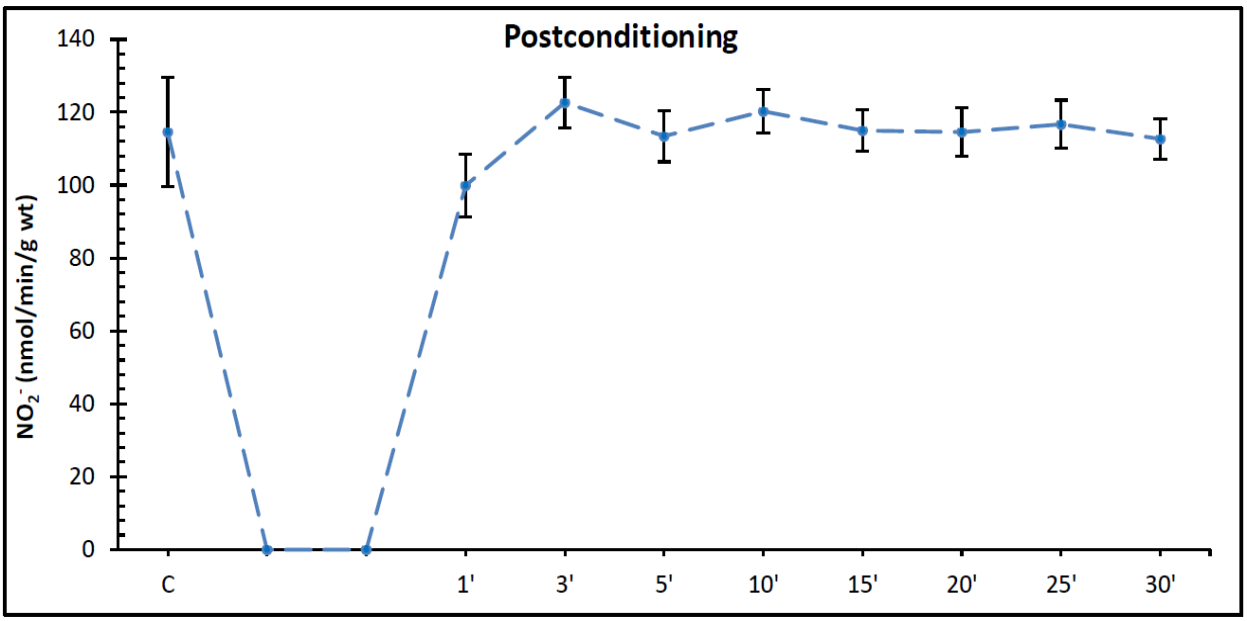

Рисунок 84 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

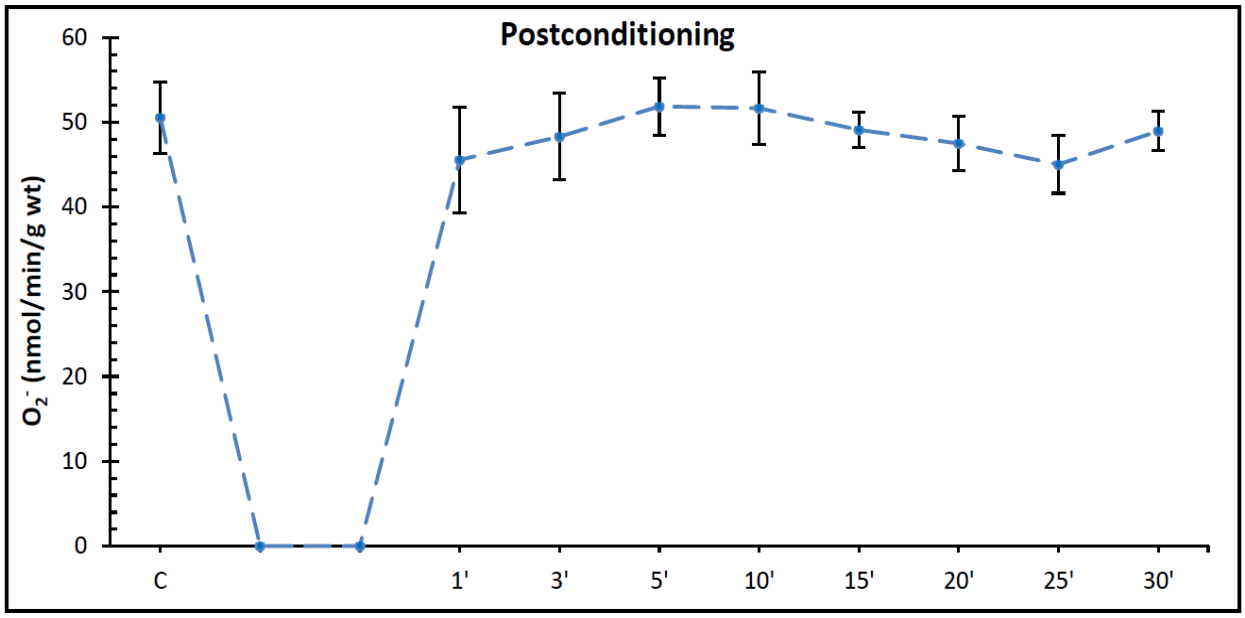

Рисунок 85 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании МК-801

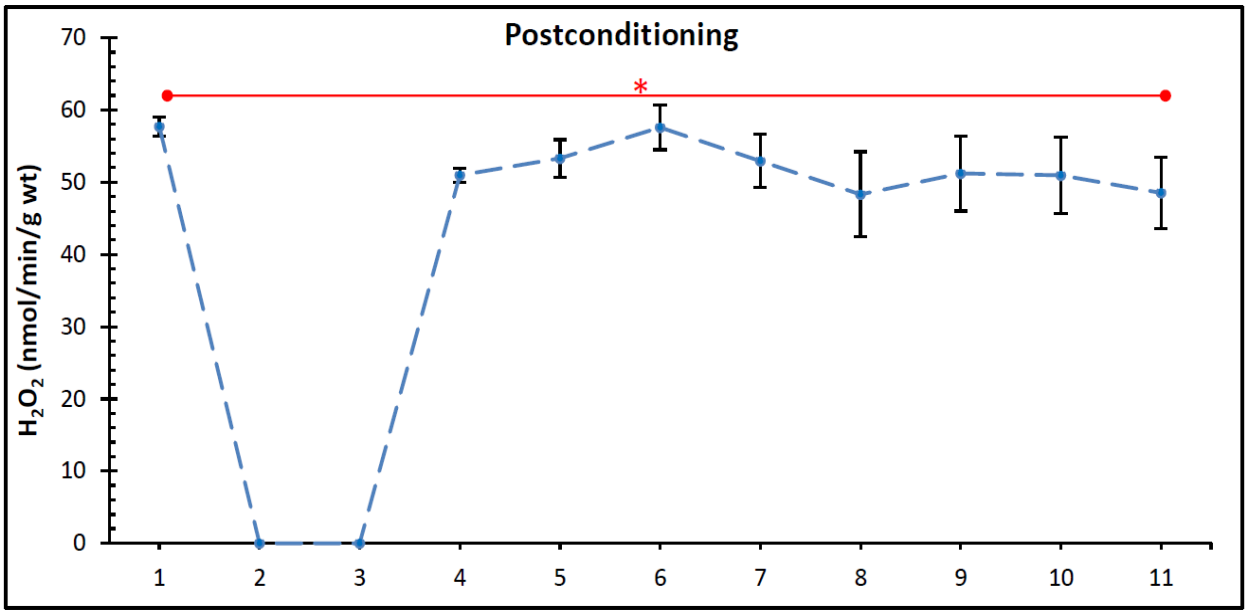

Рисунок 86 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировани МК-801

3.17. Влияние применения мемантина при прекондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантина представлены в Таблице 19.

Таблица 19 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после прекондиционирования мемантином

Прекондиционирование мемантином				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	34,5 ± 2,6	141,6 ± 4,5	49,3 ± 3,1	40,8 ± 2,5
Мемантин	32,1 ± 2,4	125,0 ± 7,0	34,4 ± 4,1	41,5 ± 3,3
Ишемия				
1	30,2 ± 2,3	120,8 ± 8,3*	41,8 ± 4,5*	40,9 ± 2,4
30	22,2 ± 1,5* **	93,3 ± 7,1* **	41,0 ± 2,3*	29,9 ± 2,5* **

Примечание: * - $p<0,05$ по сравнению с контролем; ** - $p<0,05$ по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с прекондиционированием МК-801 через минуту от начала реперфузии миокарда снижаются: ИПОЛ, однако $p>0,05$ (Рисунок 87), NO_2^- в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 88) и O_2^- в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 89).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижаются и остаются значительно ниже контрольных значений : ИПОЛ в 1,6 раза ($p<0,05$; Рисунок 87), NO_2^- в 1,5 раза ($p<0,05$; Рисунок 88), O_2^- в 1,2 раза ($p<0,05$; Рисунок 89) и H_2O_2 в 1,4 раза ($p<0,05$; Рисунок 90).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после прекондиционирования

мемантином снижаются и после последующей тридцатиминутной реперфузии остаются значительно ниже контрольных значений.

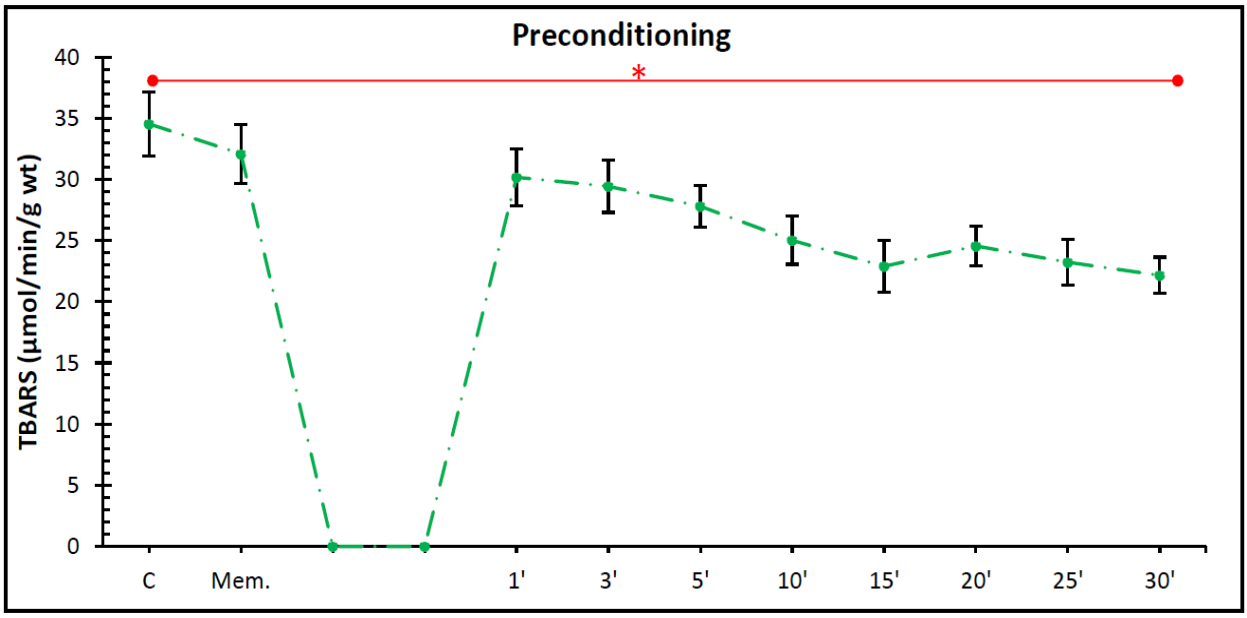

Рисунок 87 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

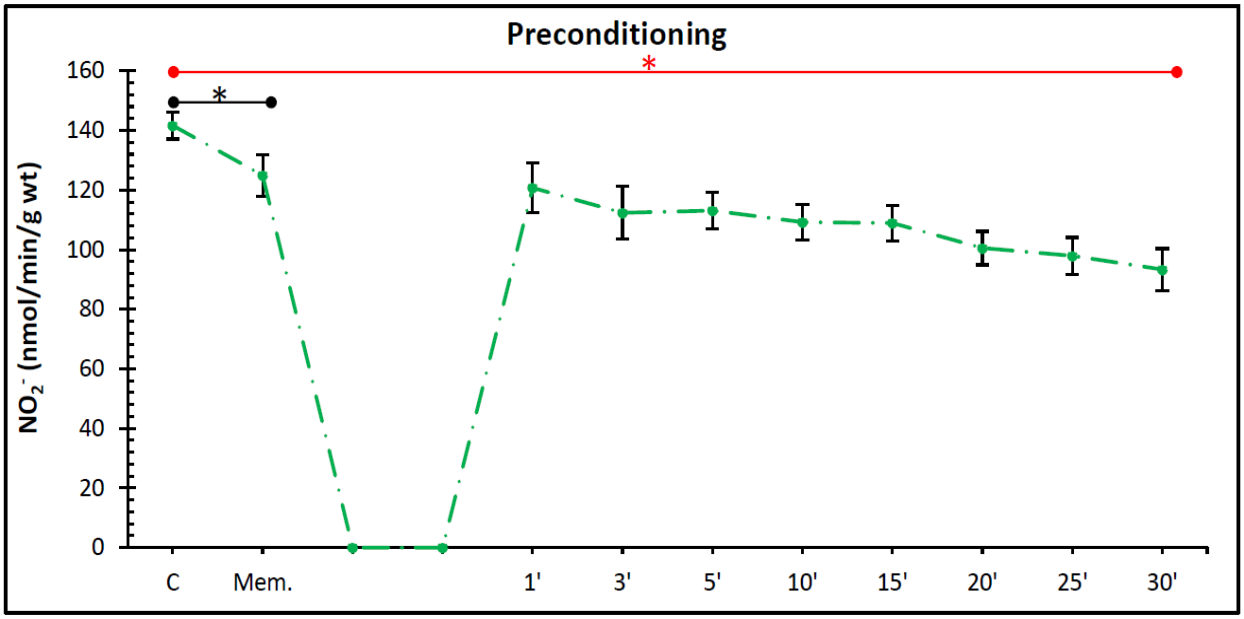

Рисунок 88 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

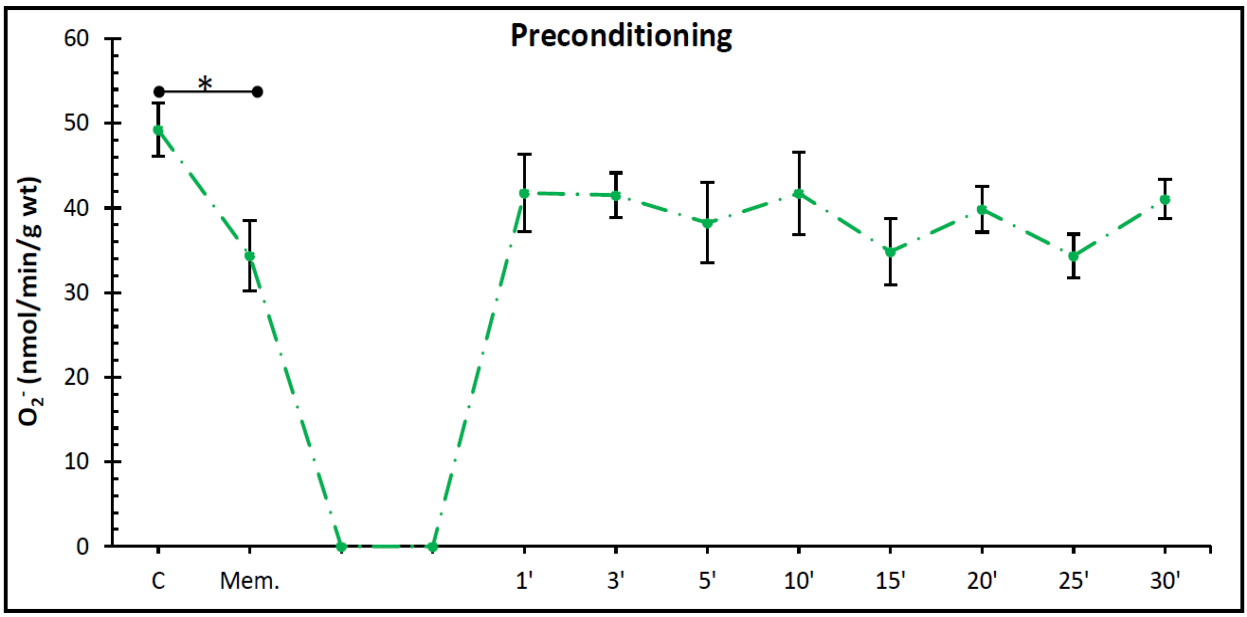

Рисунок 89 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

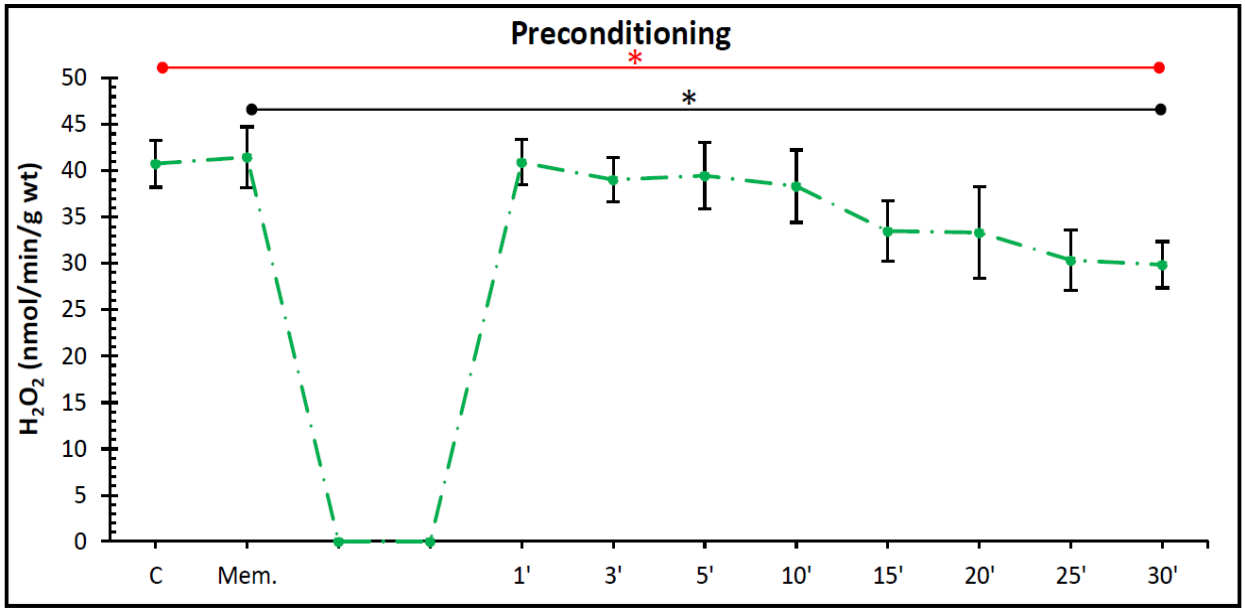

Рисунок 90 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при прекондиционировании мемантином

3.18. Влияние применения мемантина при посткондиционировании на параметры оксидационного стресса изолированного сердца крыс

Значения показателя ИПОЛ, NO_2-, O_2- и H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантина представлены в Таблице 20.

Таблица 20 - Показатели оксидативного стресса при ишемии и последующей реперфузии изолированного сердца крыс ex vivo после посткондиционирования мемантином

Посткондиционирование мемантином				
Минуты	ИПОЛ	NO_2^-	O_2^-	H_2O_2
Контроль	51,5 ± 5,1	125,8 ± 5,4	45,7 ± 3,2	53,5 ± 1,3
Ишемия				
1	48,0 ± 8,4	100,5 ± 7,1*	45,1 ± 4,7	43,9 ± 3,9*
30	44,2 ± 6,3*	99,1 ± 5,1*	43,9 ± 2,9	45,0 ± 3,2*

Примечание: * - p<0,05 по сравнению с контролем; ** - p<0,05 по сравнению с 1-й минутой реперфузии

У животных с посткондиционированием мемантином через минуту от начала реперфузии миокарда снижаются: ИПОЛ, однако p>0,05 (Рисунок 91), NO_2^- в 1,3 раза (p<0,05; Рисунок 92), H_2O_2 в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 94).

Через полчаса после начала реперфузии миокарда снижаются и остаются значительно ниже контрольных значений : ИПОЛ в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 91), NO_2^- в 1,3 раза (p<0,05; Рисунок 92), O_2^-, однако p>0,05 (Рисунок 93) и H_2O_2 в 1,2 раза (p<0,05; Рисунок 94).

Таким образом, можно сделать вывод о том, что параметры оксидативного стресса, после двадцатиминутной ишемии после посткондиционирования

мемантином снижаются, и после последующей тридцатиминутной реперфузии остаются значительно ниже контрольных значений.

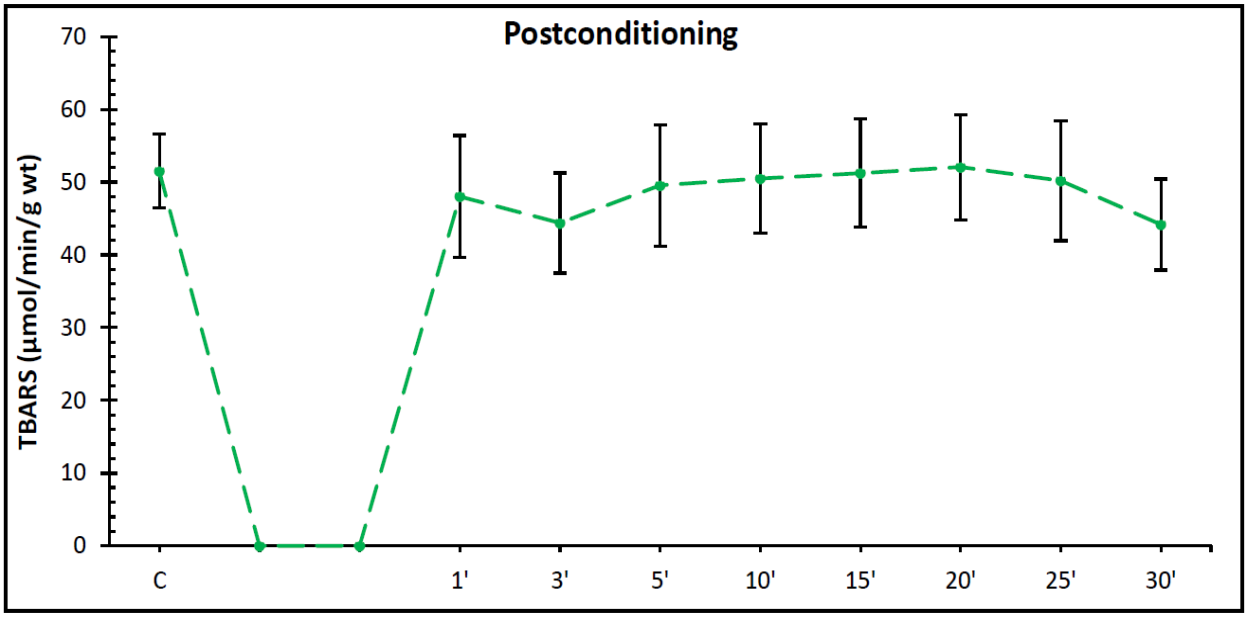

Рисунок 91 - Показатели ИПОЛ изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

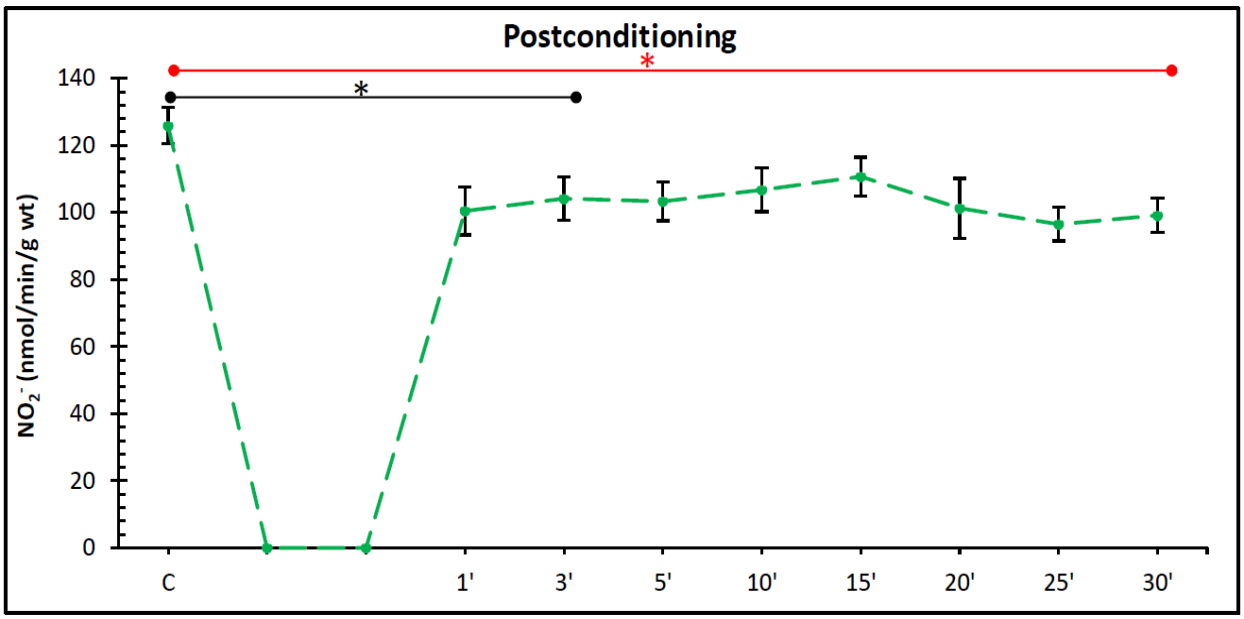

Рисунок 92 - Показатели NO_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

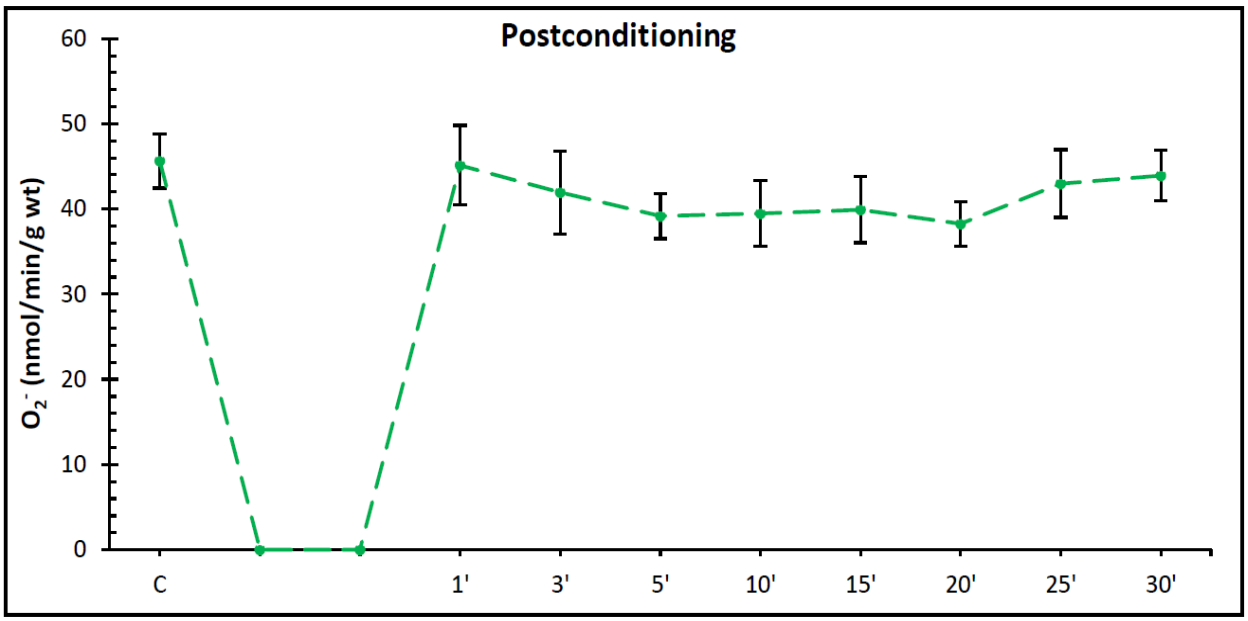

Рисунок 93 - Показатели O_2- изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

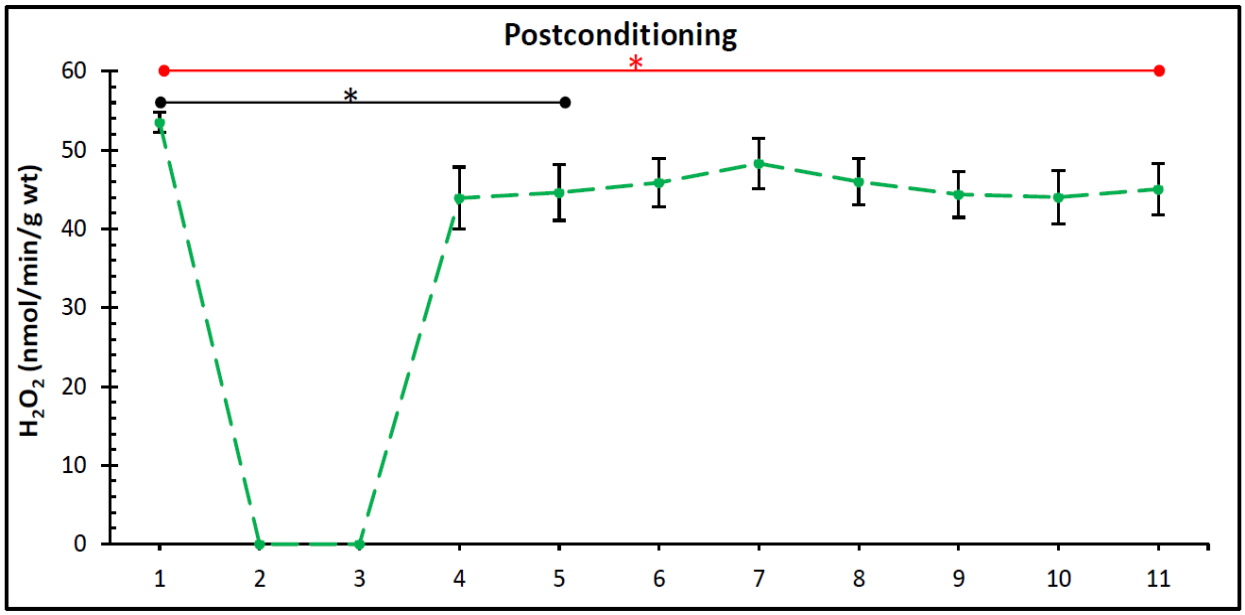

Рисунок 94 - Показатели H_2O_2 изолированного сердца крыс после ишемии и во время реперфузии при посткондиционировании мемантином

ОБСУЖДЕНИЕ

Почти все исследования, направленные на изучение потенциальной роли NMDA-рецепторов в защите тканей в различных моделях кондиционирования, касаются нервных структур. Результаты этого исследования показали, что введение агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов проявляло различные эффекты при прекондиционировании и посткондиционировании миокарда.

Ранее было показано, что модуляция активности рецептора NMDA изменяет функцию миокарда, а также окислительно-восстановительный баланс в сердце. Результаты исследования влияния глутамата, глицина и их комбинации на кардиодинамические параметры и биомаркеры окислительного стресса показали наиболее выраженные эффекты именно при их комбинированном применении [169]. Изолированное пятиминутное введение глутамата или глицина в концентрации 100 мкмоль/л не вызывало изменений значений кардиодинамических параметров или динамики образования биомаркеров окислительного стресса. С другой стороны, совместное введение глутамата и глицина привело к снижению дп/дт макс и дп/дт мин, соответственно, в качестве параметров, отражающих сократительную способность миокарда, ЧСС и коронарный кровоток, что сопровождалось увеличением маркеров окислительного стресса. Аналогичное исследование той же исследовательской группы показало, что изолированное введение NMDA также не вызывало изменений в значениях кардиодинамических параметров, в то время как совместное введение с глицином приводило к снижению показателей сердечной функции с увеличением синтеза маркеров окислительного стресса [168]. Использование блокаторов NMDA-рецепторов мемантина и ифенпродила в том же исследовании сопровождалось снижением кардиодинамических параметров и генерации АФК. Другое исследование той же исследовательской группы, направленное на сравнение эффектов комбинированного введения глутамата и/или глицина с верапамилом, блокатором кальциевых каналов, показало, что комбинированное введение глутамата и глицина с верапамилом в наименьшей

степени снижает показатели кариодинамических параметров [171]. Авторы этих исследований сделали вывод, что совместное введение глутамата и глицина позволяет активировать NMDA- рецепторы, вызывая тем самым проникновение Ca^{2+} в кардиомиоциты и, таким образом, данные клетки могут модулировать свои ответы на различные внешние стимулы. Учитывая важность Ca^{2+} в регуляции метаболических процессов, участвующих в синтезе АФК, а также в механизмах регуляции функции миокарда, целью данного исследования явилось изучение возможности применения агонистов и антагонистов NMDA-рецепторов в процессах прекондиционирования и посткондиционирования миокарда.

C.A. Hicks с соавт. сосредоточили свое внимание на характеристике NMDA-рецепторов сердца в качестве мишеней для действия различных эндогенных и синтетических агонистов и антагонистов, сравнивая полученные результаты с эффектами блокаторов кальциевых каналов L-типа [82]. Антагонисты NMDA-рецепторов, в отличие от агонистов, вызывали брадикардию и обладали антиаритмическим действием.

В предыдущих исследованиях, направленных на изучение влияния введения активаторов и ингибиторов NMDA-рецепторов на различных экспериментальных моделях кондиционирования нервной ткани, результаты были противоречивы. C.A. Hicks с соавт. указали на защитные эффекты применения антагонистов NMDA-рецепторов на модели глобальной церебральной ишемии [82]. Авторы применяли несколько антагонистов NMDA-рецепторов за 30 минут до и через 2 часа и 30 минут после двусторонней окклюзии a. carotis comunis у монгольских прыгунов (лат. meriones unguiculatus). В данном исследовании использованы блокаторы NMDA-рецепторов МК-801 и ифенпродил. В дополнение к защитным эффектам этих веществ авторы в том же исследовании показали более мощный защитный эффект блокаторов рецептора AMPA, особенно его конкурентных антагонистов [82]. С другой стороны, A. Bond с соавт. показали на той же экспериментальной модели, что введение ингибиторов NMDA-рецепторов ослабляет защитные эффекты ишемического прекондиционирования [31]. Результаты этого исследования практически указывают на важность активации

рецептора NMDA в развитии толерантности к ишемии во время ишемического прекондиционирования. M.O. Samoilov с соавт. показали, что антагонисты NMDA-рецепторов, вводимые во время ишемического прекондиционирования, снижают защитные эффекты данного метода прекондиционирования благодаря молекулярным механизмам, включающим изменение синтеза пептидов в клетках, подверженных аноксии [154].

Учитывая эти результаты, а также результаты других исследований, было сделано предположение, что активация сигнальных путей, которые направляют клетку к некрозу, апоптозу или защите, зависит от степени активации рецептора NMDA при ишемии [157, 182]. Кроме того, эффекты активации NMDA-рецепторов зависят от их положения: внесинаптические NMDA-рецепторы играют роль в развитии экситотоксичности, а NMDA-рецепторы в синапсах играют роль в нейропротекции [140]. Например, Hardingham с соавт. представили субклеточный механизм, который опосредует клеточный ответ на активацию рецептора NMDA в зависимости от их локализации и включает функцию CREB (cAMP response element binding protein) [124]. Поступление Ca^{2+} через кальциевые каналы L-типа вызывает активацию CREB и, следовательно, увеличение экспрессии гена нейротрофического фактора, происходящего из мозга (brain derived neurotrophic factor - BDNF). Напротив, стимуляция NMDA-рецептора глутаматом вызывала временное увеличение активации CREB, не влияя на экспрессию гена BDNF [29]. В своем исследовании Hardingham с соавт. показали, что глутамат активирует экстрасинаптические NMDA-рецепторы, что приводит к ингибированию CREB из-за его дефосфорилирования. С другой стороны, активация синаптических NMDA-рецепторов вызывает фосфорилирование CREB и его повышенную активность. В дополнение к роли CREB в регуляции нервной системы, CREB также, как было показано, опосредует сигнальные пути в ССС. CREB играет важную роль в регуляции пролиферации клеток гладких мышц сосудов [49], при этом его активность связывается с количеством Ca^{2+} [121]. Тем не менее, результаты исследований, непосредственно касающиеся роли NMDA-рецепторов в ССС, гомеостаза Ca^{2+} и CREB, в настоящее время недоступны, но с

учетом вышеизложенных фактов было бы интересно изучить активность CREB в кардиомиоцитах во время активации и ингибирования NMDA-рецепторов.

Во время инсульта, который приводит к гипоксии и ишемии, активация несинаптических NMDA-рецепторов увеличивается, вызывая дисфункцию митохондрий и гибель клеток, в то время как на митохондриальную функцию не влияет активация синаптических NMDA-рецепторов. Кроме того, результаты того же исследования показывают, что состав NMDA-рецепторов, то есть различное содержание отдельных субъединиц, которые входят в их состав, может быть полезным вариантом для их модуляции. А именно, внесинаптические NMDA-рецепторы в ЦНС, в дополнение к субъединице GluN1, преимущественно содержат субъединицу GluN2B, так что введение субъединичных селективных ингибиторов GluN2B, таких как ифенпрофил, предотвращает активацию экстрасинаптических NMDA-рецепторов, тем самым предотвращая дефосфорилирование и ингибирование CREB. Вследствие этого факта, а также важности NMDA-рецепторов в патогенезе значительного числа неврологических расстройств, существует тенденция к разработке селективных ингибиторов NMDA-рецепторов с минимальными или приемлемыми побочными эффектами [40]. Относительно состава субъединиц, которые составляют NMDA-рецепторы, которые существуют в сердце, существуют противоречивые данные, как уже указывалось во вводном разделе. Y.J. Lin с соавт. указали на существование субъединицы GluN2C в различных частях ЦНС крысы, а также в периферических органах, включая сердце [106]. С другой стороны, J.C. Leung с соавт. указывали на существование субъединицы GluN1 в сердце крыс, но они не регистрировали ни один из подтипов субъединицы GluN2 [105]. S. Seeber с соавт. подтвердили существование субъединицы GluN1 в сердце крысы, но указали на существование GluN2B только на эмбриональной стадии развития [159]. Makhro с соавт. продемонстрировали существование субъединиц GluN3A-GluN2D/2B в желудочках сердца крыс, тогда как субъединицы GluN1 и GluN2A и 2C были обнаружены в предсердиях сердца. Интересным результатом является то, что распространенность субъединицы GluN2B увеличивается с возрастом, а также

указывает на связь этой субъединицы с рианодиновыми рецепторами [126]. При изучении эффектов блокаторов NMDA- рецепторов на изолированное сердце крыс было показано, что введение ифенпродила вызывает снижение ЧСС и КП, а также снижение продукции перекиси водорода [168]. Эти результаты указывают на необходимость дополнительных исследований, конкретно направленных на распространненость отдельных субъединиц рецептора NMDA в клеточных популяциях, представленных в сердечной ткани, в первую очередь в сердечной ткани человека, с учетом возможности различных моделей пространственного и временного распределения рецепторов NMDA в сердце у разных видов.

Результаты нашего исследования показали, что введение активаторов рецепторов NMDA, глутамата и (RS) - (тетразол-5-ил) глицина, оказывало более выраженное негативное влияние на кардиодинамические параметры во время посткондиционирования, чем при применении во время прекондиционирования, по сравнению с контрольной группой без кондиционирования. Прекондиционирование с помощью активаторов рецепторов NMDA проявляет слегка защитный эффект. Принимая во внимание все результаты, наблюдался наиболее выраженный защитный эффект блокаторов рецепторов NMDA при посткондиционировании, причем МК-801 обладал более выраженным защитным эффектом по сравнению с мемантином [6, 72, 73].

Результаты нескольких исследований указывают на защитные эффекты от введения субтотоксической дозы NMDA. K. Ogita с соавт. показали, что использование каината приводит к серьезному повреждению пирамидных нейронов, чего не было при применении NMDA [140]. Результаты того же исследования показали, что предварительное применение NMDA предотвращает вызванное каинатом повреждение пирамидных нейронов. Защитные эффекты введения NMDA или активации NMDA были предотвращены с помощью МК-801 [137]. В исследовании, посвященном молекулярным механизмам, связанным с нейропротекцией, индуцированной ишемическим прекондиционированием, было показано, что ишемическое прекондиционирование ингибирует активацию сигнального пути JNK (JNK - c-Jun N-терминальная киназа) посредством

опосредованной NMDA-рецептором активации akt1 (серин/треонин киназа 1) [38]. Прекондиционирование с помощью NMDA позволило предотвратить эпилептические припадки, вызванные хинолиновой кислотой, а также гибель клеток в гиппокампе [96]. Достигнутые нейропротекторные эффекты были также подавлены в этом исследовании с помощью МК-801. Было показано, что сигнальные пути зависимы от PKA (cyclic AMP-dependent protein kinase – протеинкиназа зависимая од циклического AMP – PKA), PI3K (phosphatidilinositol-3 kinase - фосфатидилинозитол-3 киназа - PI3K) и MAPK/ERK играют ключевую роль в развитии нейропротективных эффектов введения NMDA во время прекондиционирования [71]. С другой стороны, было показано, что применение блокаторов NMDA-рецепторов оказывает нейропротекторный эффект в случае посткондиционирования, в отличие от прекондиционирования [69]. Прекондиционирование нервной ткани имеет терапевтический потенциал в профилактических условиях, таких как операции на головном мозге, в то время как посткондиционирование может представлять терапевтический вариант в таких условиях, как травматическое повреждение головного мозга или инфаркт головного мозга [76].

Результаты этих исследований частично коррелируют с результатами нашего исследования, в то время как полученные различия, в первую очередь в отношении воздействия тестируемых веществ на прекондиционирование, могут быть обусловлены различным распределением NMDA-рецепторов, а также возможными различиями в составе NMDA-рецепторов в сердце [97].

Результаты исследований, проведенных R.M. Mitchell и др., указывают на интересную связь между этанолом и NMDA-рецепторами [126]. Принимая во внимание результаты эпидемиологических исследований, согласно которым умеренное потребление алкоголя снижает вероятность развития деменции [68], авторы изучили влияние прекондиционирования этанолом в клеточных культурах мозга крыс на нейропротекцию во время воздействия β-амилоида. Было показано, что прекондиционирование этанолом приводит к повышенной экспрессии

синаптических NMDA-рецепторов, а также к повышенной экспрессии пероксиредоксина 2, молекулы с антиоксидантными свойствами [77].

Как следует из вышеизложенного, роль NMDA-рецептора преимущественно изучается в ЦНС, при этом исследования, касающиеся NMDA-рецептора и ССС, в основном направлены на изучение взаимосвязи между NMDA-рецепторной активностью в определенных частях мозга и сердечно-сосудистой реакцией в определенных условиях. Однако Y. Liu с соавт. указали на важность NMDA-рецептора в модели ишемии in vitro на кардиомиоцитах человека [110]. Депривация кислорода и глюкозы создает условия для ишемии кардиомиоцитов, изучения активности NMDA-рецепторов, проникновения Ca^{2+}, апоптоза и активности нескольких MAPK. Результаты этого исследования показали, что повышенная активация рецептора NMDA вследствие недостатка кислорода и глюкозы вызывает увеличение притока Ca^{2+} и апоптоза. Введение МК-801 или удаление Ca^{2+} из среды предотвращает эти последствия активации рецептора NMDA. Как следствие активации рецептора NMDA, значительное фосфорилирование и активация p38 MAPK приводили к блокированию частично сниженного апоптоза. Авторы исследования указали на важность NMDA-рецепторов в апоптозы, вызванном ишемией. Те же авторы ранее провели исследование, которое несколько похоже на дизайн данного исследования [111]. С использованием модели ex vivo ретроградной перфузии сердца Лангендорфа были исследованы эффекты прекондиционирования с помощью NMDA, МК-801 и эффекты раствора КХ без Ca^{2+}. Введение NMDA в контрольных условиях без индукции ишемии существенно не изменяло внутриклеточные значения Ca^{2+}. При индукции глобальной ишемии количество внутриклеточного Ca^{2+} значительно увеличилось, причем это увеличение было более выраженным в группе, прекондиционираном с NMDA. С другой стороны, введение МК-801 уменьшало вызванное ишемией поступление Ca^{2+}. Аналогично динамике изменения уровней Ca^{2+} изменялись и значения маркеров некроза миокарда, и применение NMDA в контрольных условиях не вызывало изменения значений CK, CK-MB, LDH, cTnI и cTnT. С другой стороны, введение NMDA до ишемии вызывало более

выраженное увеличение маркеров некроза по сравнению с состояниями, в которых ишемия индуцировалась без прекондиционирования, тогда как введение раствора МК-801 или КХ без Ca^{2+} оказывало противоположный эффект. Что касается кардиодинамических параметров, было показано, что введение NMDA при прекондиционировании проявляет более выраженный депрессивный эффект, тогда как введение МК-801 оказывает защитный эффект. Аналогичные эффекты наблюдаются при изучении влияния на некроз и апоптоз. Экспериментальный протокол вышеупомянутого исследования наиболее похож на протокол, используемый в данном исследовании, что позволяет наиболее адекватно сравнивать полученные результаты. Результаты этих двух исследований практически полностью коррелируют. Прежде всего, сравнивая значения кардодинамических параметров, МК-801 является более мощным защитным фактором при прекондиционировании, но введение обоих антагонистов NMDA-рецепторов, МК-801 и мемантина, имеет более выраженные защитные эффекты при применении в посткондиционировании. Эти результаты, безусловно, являются причиной нарушения динамики изменений Ca^{2+}, влияющих на большое количество внутриклеточных сигнальных путей, которые играют роль в определении исхода ишемии, как показали результаты предыдущих исследований. В частности, причинно-следственная связь между ишемией, Ca^{2+} и функцией миокарда была ранее исследована, показывая, что сердца, подвергшиеся тридцатиминутной ишемии, демонстрируют значительное увеличение Ca^{2+} во время ишемии и имеют более низкую скорость восстановления давления левого желудочка во время реперфузии по сравнению с сердцами, подвергшиеся кратковременной ишемии.

Результаты большого количества исследований указывают на значительную связь между активностью рецептора NMDA и окислительно-восстановительным балансом. Результаты показали выраженный антиоксидантный эффект мемантина с последующей блокады сердечных NMDA-рецепторов как при прекондиционировании, так и при посткондиционировании. Предыдущие исследования, экспериментальный дизайн которых включал введение

антагонистов NMDA-рецепторов и глутамата, на изолированном сердце крыс, показали, что антагонисты NMDA-рецепторов оказывают антиоксидантное действие или значения биомаркеров окислительного стресса увеличиваются после их введения, тогда как комбинированное введение глутамата и глицина оказывает прооксидантный эффект [168, 169]. В этих исследованиях значения маркеров окислительного стресса коррелировали с изменениями значений кардиодинамических параметров. На экспериментальной модели гипоксии, вызванной остановкой сердца, вследствие асфиксии у свиней, было показано, что вскоре после гипоксии происходит фосфорилирование NMDA-рецепторов в стриатуме, их активация с последующим увеличением продукции АФК и окислительной модификации белков. H. Girouard с соавт. показали, что активация рецептора NMDA в мышином неокортексе приводит к увеличению мозгового кровотока и продукции АФК [69]. Авторы также показали, что увеличение мозгового кровотока, а также увеличение продукции АФК вследствие активацией рецептора NMDA, опосредовано увеличением активности NOS в нейронах и продукцией NO. Введение ингибиторов eNOS приводит к снижению увеличения мозгового кровотока и продукции АФК, вызванной активацией рецептора NMDA. Увеличение продукции АФК вследствие активации рецептора NMDA опосредуется NADPH-оксидазой или изоферментом NOX2, учитывая, что мыши, которые не экспрессируют NOX2, менее чувствительны к вызванной глутаматом экситотоксичности.

Результаты исследований, сфокусированных на изучении влияния ишемии на почки, указывают на значительную роль NMDA-рецепторов и окислительного стресса в развитии повреждений. Было показано, что использование глицина в качестве ко-агониста рецептора NMDA вызывает значительное увеличение повреждения до индукции острого повреждения почек у крыс в результате окклюзии почечной артерии, тогда как использование стрихнина в качестве блокатора связывания глицина для рецепторов NMDA снижает это нарушение. В этом исследовании окислительное повреждение проявлялось в увеличении образования супероксидных анионных радикалов и перекисей липидов, а также в

уменьшении количества восстановленного глутатиона. Подтверждение постулируемой гипотезы о том, что побочные эффекты глицина реализуются посредством активации рецептора NMDA, подтверждается введением кинуреновой кислоты, которая конкурентно ингибирует связывание глицина, тем самым уменьшая побочные эффекты. Аналогичный экспериментальный дизайн, также сфокусированный на почках, с использованием глутаминовой кислоты и спермидина (положительного модулятора активности NMDA-рецепторов) в качестве агонистов вызывал более интенсивное увеличение анализируемых параметров окислительного стресса, но использование антагонистов NMDA-рецепторов с другим механизмом действия показало более интенсивное противоположные эффекты. Результаты исследования показали, что введение антагонистов рецептора NMDA вызывает большее снижение продукции АФК при ишемии, чем введение агонистов, которые, наоборот, вызывают их увеличение. Кроме того, введение антагонистов NMDA-рецепторов вызывает увеличение количества глутатиона и каталазы. На связь между активностью NMDA-рецепторов и окислительным стрессом при индукции ишемической почечной недостаточности также указывает тот факт, что введение агонистов NMDA-рецепторов ослабляет действие используемых антиоксидантов, таких как куркумин.

Подобно нервной системе и почкам, активация NMDA-рецепторов в сердечно-сосудистых тканях приводит к увеличению выработки АФК. В исследовании неонатальных кардиомиоцитов крыс X. Gao с соавт. показали, что NMDA увеличивает внутриклеточные концентрации Ca^{2+}, что приводит к увеличению продукции АФК и индукции апоптоза [68]. Использование блокаторов рецепторов NMDA, МК-801, а также глутатиона и N-ацетилцистеина для нейтрализации свободных радикалов предотвращает ранее упомянутые эффекты NMDA. Практически аналогичные результаты были получены в предыдущем исследовании, посвященном клеткам нервной системы. Изучение роли NMDA-рецептора в ССС главным образом направлено на изучение побочных эффектов гомоцистеина. Учитывая, что гомоцистеин, по крайней мере

частично, оказывает вредное воздействие на сердечно-сосудистые структуры в организме, активируя NMDA-рецепторы, вызывая тем самым атеросклероз. Различные изоформы гомоцистеина проявляют различную токсичность, причем DL-гомоцистеин тиолактон считается наиболее токсичным. Результаты исследования, протокол эксперимента которого включал введение тиолактона DL-гомоцистеина и МК-801, показали, что введение блокаторов NMDA-рецепторов снижает негативные эффекты гомоцистеина. В частности, МК-801 проявлял антиоксидантные свойства по сравнению с гомоцистеином.

Исходя из результатов предыдущих исследований, а также результатов данного исследования, можно сделать вывод, что связь между NMDA-рецептором, Ca^{2+} и окислительным стрессом в сердечной ткани и ССС в целом является важной осью для появления большого числа патофизиологических состояний. Также было показано, что активация NMDA-рецепторов приводит к более интенсивной работе соответствующих сигнальных путей, которые могут иметь разные результаты, в зависимости от состояния, вызывающего активацию самих рецепторов.

Учитывая специфическую структуру и функцию NMDA-рецепторов, а также их широкое распространение в организме и опосредование большого количества сигнальных путей, эти рецепторы являются постоянной проблемой для терапевтического действия при многих патологических состояниях, включая ССС.

ВЫВОДЫ

1. Уровень кардиодинамических параметров и коронарного потока изолированного сердца крыс после ишемии и тридцатиминутной реперфузии значительно снижаются относительно контрольных значений. Об этом свидетельствуют снижение максимальной и минимальной скорости изменения давления в левом желудочке, систолического давления в левом желудочке, частоты сердечных сокращений и коронарного потока перфузирующего раствора. Кардиодинамические параметры сердца, которые подвергались двадцатиминутной ишемии без кондиционирования, не возвращаются к близким к начальным значениям во время тридцатиминутной реперфузии, то есть не происходит их адекватного восстановления. Одновременно в группе без кондиционирования значения ИПОЛ, супероксид-анион-радикала (O_2-) и перокиси водорода (H_2O_2) значительно выше в последнюю минуту реперфузии по сравнению с базовыми (контрольными) значениями. Таким образом, реперфузия вызывает активизацию свободнорадикальных процессов.

2. Прекондиционирование и посткондиционирование глутаматом приводит к снижению уровня параметров, которые отражают сократимость миокарда, а также частоты сердечных сокращений и коронарного потока в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями. В тоже время, при прекондиционировании глутаматом значения O_2- и H_2O_2 значимо выше в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями, а при посткондиционировании этим же веществом значения ИПОЛ и O_2- значительно выше в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями. Таким образом, глутамат приводит к интенсификации свободнорадикальных процессов.

3. Введение глицина как в качестве прекондиционирования, так и в качестве посткондиционирования приводит к значительному снижению параметров сократимости миокарда, частоты сердечных сокращений и коронарного кровотока, значения которых статистически значимо ниже в последнюю минуту реперфузии по сравнению с контрольным значением. Введение глицина в

качестве прекондиционирования вызывает значительное увеличение ИПОЛ, O_2- и H_2O_2, а при посткондиционировании – увеличение O_2^- в последнюю минуту реперфузии по отношению к контрольным значениям. Таким образом, глицин вызывает активацию свободнорадикальных процессов.

4. Прекондиционирование и посткондиционирование МК-801 приводит к увеличению уровня показателей сократимости миокарда, а также коронарного потока в первую минуту реперфузии по сравнению с контрольными значениями и их снижению в последнюю минуту реперфузии, достигая контрольных значений. МК-801, как при прекондиционировании, так и при посткондиционировании вызывает значительное снижение всех измеряемых биомаркеров окислительного стресса (ИПОЛ, NO_2-, O_2^-, H_2O_2) как в первую минуту, так и в последнюю минуту реперфузии. Таким образом, МК-801 обладает антиоксидантными свойствами.

5. Применение мемантина в качестве прекондиционирования и посткондиционирования вызвает значительное увеличение систолического и диастолического давления в левом желудочке в первую минуту реперфузии и их снижение в последную минуту реперфузии, достигая контрольных значений. Прекондиционирование и посткондиционирование мемантином вызвает значительное снижение продукции ИПОЛ, NO_2-, O_2^-, H_2O_2 NO_2- и O_2- по сравнению с контрольными значениями, как в первую минуту, так и в последнюю минуту реперфузии. Таким образом, мемантин обладает антиоксидантными свойствами.

6. Антагонисты NMDA-рецепторов, в отличие от их агонистов вызывают увеличение всех кардиодинамических показателей и снижение показателей окидативного стресса, т.е. обладают кардиопротекторным действием.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

АФК - активные формы кислорода

И/Р повреждение – ишемическо-реперфузионное повреждение

ИПОЛ - индекс перекисного окисления липидов

КП - коронарный поток

КХ - раствор Кребс-Хенселейта

МК-801 - (+)-5-methyl-10,11-dihydro-5Hdibenzo[a,d]cyclohepten-5,10-imine hydrogen maleate

СОД - супероксиддисмутаза

ССС – сердечно-сосудистая система

ТБК - тиобарбитуровая кислота

ЦНС – центральная нервная система

ЧСС – частота сердечных сокращений (уд./мин)

AMPA - α-амино-3-гидрокси-5-метил-4-изоксазолпропионат

ATD - амино-терминальный домен

Aβ - амилоид бета

CTD - карбокси-терминальный домен

CREB - cAMP response element binding protein - cAMP-зависимый связывающий белок

ДЛВП - диастолическое давление в левом желудочке [мм рт.ст.]

дп/дт макс - максимальная скорость развития давления в левом желудочке [мм рт.ст./сек]

дп/дт мин - минимальная скорость развития давления в левом желудочке [мм рт.ст./сек]

eNOS – оксид азота синтаза

ERK - extracellular signal-regulated kinase - внеклеточная регулируемая киназа

GluN1 – глутаматная субъединица N1

GluN2 – глутаматная субъединица N2

GluN3 – глутаматная субъединица N3

H_2O_2 - перекись водорода

LBD - лиганд-связывающый домен

MAPK - mitogen-activated protein kinase - митоген-активируемая протеинкиназа

NMDA - N-метил-D-аспартатат

NO - оксида азота

NO_2 – нитрит

NOX2 – NADPH-оксидаза 2

O_2^- - супероксидный анион-радикала

PKC – протеинкиназа C

RNS - reactive nitrogen species – активные формы азота

СЛВП - систолическое давление в левом желудочке [мм рт.ст.]

TMD - трансмембранный домен

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Бакулин, И.С. Эндотелиальная дисфункция и окислительный стресс при церебральном атеросклерозе и возможности их патогенетической коррекции/ И.С. Бакулин, М.М. Танашян, А.А. Раскуражев// Нервные болезни. - 2018. - №2. - С. 3-11.
2. Бахарева, Ю.О. Синаптическая пластичность первичной зрительной коры на модели фотоповреждения сетчатки, коррекция N-тирозолом/ Ю.О. Бахарева, М.А. Сагнаева, Е.Ю. Варакута и др.// Морфология. - 2019. - Т.156. - №6. - С. 84.
3. Болевич С.С. Обоснование патогенетической терапии ингибиторами дипептидилпептидазы-4 повреждения сердца у крыс с индуцированным сахарным диабетом 2-го типа в условиях гипоперфузии и последующей реперфузии миокарда. Дисс. на соискание уч.ст. к.м.н. 14.03.03 – патологическая физиология. – Москва. – 2020. – 144С.
4. Болевич С.С. Обоснование патогенетической терапии ингибиторами дипептидилпептидазы-4 повреждения сердца у крыс с индуцированным сахарным диабетом 2-го типа в условиях гипоперфузии и последующей реперфузии миокарда. автореф. дисс. на соискание уч.ст. к.м.н. 14.03.03 – патологическая физиология. – Москва. – 2020. – 24С.
5. Висмонт, Ф.И. Кардиопротекторная эффективность дистантного ишемического прекондиционирования при ишемии-реперфузии миокарда у крыс с экспериментальной дислипидемией/ Ф.И. Висмонт, С.Н. Чепелев, А.Н. Глебов и др.// Известия Национальной академии наук Беларуси. Серия медицинских наук. - 2018. - Т.15. - №2. - С. 215-221.
6. Говорушкина, Н.С. Влияние соединения МК-801, глутамата и глицина через модуляцию N-метил-D-аспартатных рецепторов на изолированное сердце крысы/ Н.С. Говорушкина, С.Б. Болевич, В. Яковлевич и др.//Сеченовский вестник. – 2020. - Т. 11, No 1. – С. 37-47.

7. Евдокимов, Д.В. Двойственные трансдукционные функции нейрональных глутаматных рецепторов N-метил-D-аспартата и их роль в физиологии и патологии головного мозга/ Д.В. Евдокимов, Ю.В. Кузнецов, Ю.В. Сидорова// Университетская клиника. - 2020. - №2(35). - С. 67-77.
8. Еникеева, Р.Ф. Роль генов регуляции синаптической пластичности в формировании индивидуальных различий в объеме рабочей памяти/ Р.Ф. Еникеева, М.М. Лобаскова, А.В. Казанцева и др.// Теоретическая и экспериментальная психология. - 2017. - Т.10. - №4. - С. 6-15.
9. Зинченко, В.П. Визуализация, свойства и функции гамкергических нейронов гиппокампа, содержащих проницаемые для кальция каинатные и AMPA-рецепторы/ В.П. Зинченко, С.Г. Гайдин, И.Ю. Теплов и др.// Биологические мембраны. - 2020. - Т.37. - №1. - С. 22-33.
10. Кичерова, О.А. Роль окислительного стресса в патогенезе неврологических заболеваний/ О.А. Кичерова, Л.И. Рейхерт// Медицинская наука и образование Урала. - 2019. - Т.20. - №2(98). - С. 192-195.
11. Котова, Ю.А. Изучение маркеров повреждения эндотелия, окислительного и клеточного стресса у коморбидных больных ИБС с различной выраженностью коронарного атеросклероза/ Ю.А. Котова, А.А. Зуйкова, Н.В. Страхова, О.Н. Красноруцкая// Медико-фармацевтический журнал Пульс. - 2020. - Т.22. - №6. - С. 16-20.
12. Наумовская, Н.А. Мемантин в лечении болезни Альцгеймера: 12-недельное сравнительное рандомизированное открытое клиническое испытание лекарственных средств Мемодекс и Эбикса/ Н.А. Наумовская, И.А. Лелявко, Т.С. Голубева и др.// Неврология и нейрохирургия. Восточная Европа. - 2020. - Т.10. - №1. - С. 139-149.
13. Нестерова, М.В. Актуальные аспекты диагностики и лечения болезни Альцгеймера на основе современных зарубежных рекомендаций/ М.В. Нестерова// Медицинский совет. - 2018. - №6. - С. 33-37.
14. Переверзев, А.П. Безопасность применения ингибиторов холинэстеразы и антагонистов NMDA-рецепторов для лечения пациентов с деменцией/ А.П.

Переверзев, О.Д. Остроумова, О.Н. Ткачева, Ю.В. Котовская// Безопасность и риск фармакотерапии. - 2019. - Т.7. - №4. - С. 190-199.

15. Пилипович, А.А. Новые стратегии диагностики и лечения болезни Альцгеймера: моноклональные антитела к бета-амилоиду/ А.А. Пилипович, А.Б. Данилов// Медицинский алфавит. - 2019. - Т.1. - №2(377). - С. 35-42.
16. Рубаненко, О.А. Клинические, эхокардиографические показатели и маркеры окислительного стресса, ассоциированные с развитием фибрилляции предсердий у пациентов, подвергающихся операции коронарного шунтирования/ О.А. Рубаненко, А.О. Рубаненко, Ю.В. Щукин и др.// Российский кардиологический журнал. - 2020. - Т.25. - №7. - С. 72-79.
17. Труфанов, Е.А. Болезнь Альцгеймера: стандарты диагностики и лечения/ Е.А. Труфанов// Психиатрия, психотерапия и клиническая психология. - 2018. - Т.9. - №4. - С. 608-614.
18. Фурман, Ю.В. Окислительный стресс и антиоксиданты/ Ю.В. Фурман, Е.Б. Артюшкова, А.В. Аниканов// Актуальные проблемы социально-гуманитарного и научно-технического знания. - 2019. - №1(17). - С. 1-3.
19. Abushik, P.A. The role of NMDA and mGluR5 receptors in calcium mobilization and neurotoxicity of homocysteine in trigeminal and cortical neurons and glial cells/P.A. Abushik, M. Niittykoski, R. Giniatullina et al.// J Neurochem. - 2014. - №.129(2). - P.264-274.
20. Akanuma, S. Transporter-mediated L-glutamate elimination from cerebrospinal fluid: possible involvement of excitatory amino acid transporters expressed in ependymal cells and choroid plexus epithelial cells/S. Akanuma, T. Sakurai, M. Tachikawa et al.// Fluids Barriers CNS. - 2015. - №.12. - P.11.
21. Aow, J. Conformational signaling required for synaptic plasticity by the NMDA receptor complex/J. Aow, K. Dore, R. Malinow// Proc Natl Acad Sci U S A. - 2015. - №.112(47). - P.14711-14716.
22. Atlason, P.T. N-Methyl-D-aspartate (NMDA) receptor subunit NR1 forms the substrate for oligomeric assembly of the NMDA receptor/P.T. Atlason, M.L. Garside, E. Meddows et al.// J Biol Chem. - 2007. - №.282(35). - P.25299-25307.

23. Auclair, C. Nitroblue tetrazolium reduction. In: Greenvvald RA (ed) Handbook of methods for oxygen radical research/C. Auclair, E. Voisin// CRC Press Une, Boca Raton. – 1985. – P.123-132.
24. Baines, C.P. The mitochondrial permeability transition pore and ischemia-reperfusion injury/C.P. Baines// Basic research in cardiology. - 2009. - №.104(2). - P. 181-188.
25. Baines, C.P. The molecular composition of the mitochondrial permeability transition pore/C.P. Baines// Journal of molecular and cellular cardiology. - 2009. - №.46(6). - P. 850-857.
26. Bell, R.M. Retrograde heart perfusion: the Langendorff technique of isolated heart perfusion/R.M. Bell, M.M. Mocanu, D.M. Yellon// J Mol Cell Cardiol. - 2011. - №.50(6). - P.940-950.
27. Burnell, E.S. Positive and Negative Allosteric Modulators of N-Methyl-d-aspartate (NMDA) Receptors: Structure-Activity Relationships and Mechanisms of Action/ E.S. Burnell, M. Irvine, G. Fang, et al.// J Med Chem. – 2019. - №62(1). – P.3-23.
28. Blanpied, T.A. Trapping channel block of NMDA-activated responses by amantadine and memantine/T.A. Blanpied, F.A. Boeckman, E. Aizenman, J.W. Johnson// J Neurophysiol. - 1997. - №.77(1). - P.309-323.
29. Boeck, C.R. NMDA preconditioning protects against seizures and hippocampal neurotoxicity induced by quinolinic acid in mice/C.R. Boeck, M. Ganzella, A. Lottermann, D. Vendite// Epilepsia. - 2004. - №.45(7). - P.745-750.
30. Bolshakov, K.V. Determinants of trapping block of N-methyl-d-aspartate receptor channels/K.V. Bolshakov, V.E. Gmiro, D.B. Tikhonov, L.G. Magazanik// J Neurochem. - 2003. - №.87(1). - P.56-65.
31. Bond, A. NMDA receptor antagonism, but not AMPA receptor antagonism attenuates induced ischaemic tolerance in the gerbil hippocampus/A. Bond, D. Lodge, C.A. Hicks et al.// Eur J Pharmacol. - 1999 Sep 10. - №.380(2-3). - P.91-99.
32. Bórquez, D.A. Dissecting the role of redox signaling in neuronal development/D.A. Bórquez, P.J. Urrutia, C. Wilson et al.// J Neurochem. - 2016. - №.137(4). - P.506-517.

33. Bozic, M. Glutamatergic signaling maintains the epithelial phenotype of proximal tubular cells/M. Bozic, J. de Rooij, E. Parisi et al.// J Am Soc Nephrol. - 2011. - №.22(6). - P.1099-1111.
34. Bozic, M. The potential of targeting NMDA receptors outside the CNS/M. Bozic, J.M. Valdivielso// Expert Opin Ther Targets. - 2015. - №.19(3). - P.399-413.
35. Bolli R, Stein AB, Guo Y, Wang OL, Rokosh G, Dawn B, Molkentin JD, Sanganalmath SK, Zhu Y, Xuan YT. A murine model of inducible, cardiac-specific deletion of STAT3: its use to determine the role of STAT3 in the upregulation of cardioprotective proteins by ischemic preconditioning. J Mol Cell Cardiol. 2011;50(4):589-97.
36. Broadhead, M.W. KATP channel activation induces ischemic preconditioning of the endothelium in humans in vivo/M.W. Broadhead, R.K. Kharbanda, M.J. Peters, R.J. MacAllister// Circulation. - 2004. - №.110(15). - P. 2077-2082.
37. Burnashev, N. Control by asparagine residues of calcium permeability and magnesium blockade in the NMDA receptor/N. Burnashev, R. Schoepfer, H. Monyer et al.// Science. - 1992. - №.257(5075). - P.1415-1419.
38. Camargo, L.H. Involvement of N-methyl-D-aspartate glutamate receptor and nitric oxide in cardiovascular responses to dynamic exercise in rats/L.H. Camargo, F.H. Alves, C. Biojone et al.// Eur J Pharmacol. - 2013. - №.713(1-3). - P.16-24.
39. Carden, D.L. Pathophysiology of ischaemia–reperfusion injury/T. Kalogeris, C.P. Baines, M. Krenz, R.J. Korthuis// The Journal of pathology. - 2000. - №.190(3). - P. 255-266.
40. Celso Constantino, L. The Role of NMDA Receptors in the Development of Brain Resistance through Pre- and Postconditioning/L. Celso Constantino, C.I. Tasca, C.R. Boeck// Aging Dis. - 2014. - №.5(6). - P.430-441.
41. Chatterton, J.E. Excitatory glycine receptors containing the NR3 family of NMDA receptor subunits/J.E. Chatterton, M. Awobuluyi, L.S. Premkumar et al.// Nature. - 2002. - №.415(6873). - P.793-798.

42. Chen, H. Identification of a homocysteine receptor in the peripheral endothelium and its role in proliferation/H. Chen, R. Fitzgerald, A.T. Brown et al.// J Vasc Surg. - 2005. - №.41(5). - P.853-860.
43. Collard, C.D. Pathophysiology, clinical manifestations, and prevention of ischemia-reperfusion injury/C.D. Collard, S. Gelman// Anesthesiology: The Journal of the American Society of Anesthesiologists. - 2001. - №.94(6). - P. 1133-1138.
44. Collingridge, G.L. A nomenclature for ligand-gated ion channels/G.L. Collingridge, R.W. Olsen, J. Peters, M. Spedding// Neuropharmacology. - 2009. - №.56(1). - P.2-5.
45. Croall, D.E. The calpains: modular designs and functional diversity/D.E. Croall, K. Ersfeld// Genome biology. - 2007. - №.8(6). - P. 218.
46. Dalva, M.B. EphB receptors interact with NMDA receptors and regulate excitatory synapse formation/M.B. Dalva, M.A. Takasu, M.Z. Lin et al.// Cell. - 2000. - №.103(6). - P.945-956.
47. D'Amico, M. Arrhythmias induced by myocardial ischaemia-reperfusion are sensitive to ionotropic excitatory amino acid receptor antagonists/M. D'Amico, C. Di Filippo, F. Rossi, F. Rossi// Eur J Pharmacol. - 1999. - №.366(2-3). - P.167-174.
48. Das, S.R. Relationship between mRNA expression of splice forms of the zeta1 subunit of the N-methyl-D-aspartate receptor and spatial memory in aged mice/S.R. Das, K.R. Magnusson// Brain Res. - 2008. - №.1207. - P.142-154.
49. de Araújo Herculano, B. NMDA preconditioning protects against quinolinic acid-induced seizures via PKA, PI3K and MAPK/ERK signaling pathways/B. de Araújo Herculano, S. Vandresen-Filho, W.C. Martins et al.// Behav Brain Res. - 2011. - №.219(1). - P.92-97.
50. de Sousa, S.L. Contrasting synaptic actions of the inhalational general anesthetics isoflurane and xenon/S.L. de Sousa, R. Dickinson, W.R. Lieb, N.P. Franks// Anesthesiology. - 2000. - №.92(4). - P.1055-1066.
51. Daiber A, Andreadou I, Oelze M, Davidson SM, Hausenloy DJ. Discovery of new therapeutic redox targets for cardioprotection against ischemia/reperfusion injury and heart failure. Free Radic Biol Med. 2021;163:325-343.

52. Dickinson, R. Competitive inhibition at the glycine site of the N-methyl-D-aspartate receptor by the anesthetics xenon and isoflurane: evidence from molecular modeling and electrophysiology/R. Dickinson, B.K. Peterson, P. Banks et al.// Anesthesiology. - 2007. - №.107(5). - P.756-767.
53. Döring, H.J. The isolated perfused heart according to Langendorff technique--function--application/H.J. Döring// Physiol Bohemoslov. - 1990. - №.39(6). - P.481-504.
54. Downey, J.M. Signaling pathways in ischemic preconditioning/J.M. Downey, A.M. Davis, M.V. Cohen// Heart failure reviews. - 2007. - №.12(3-4). - P. 181-188.
55. Dravid, S.M. Subunit-specific mechanisms and proton sensitivity of NMDA receptor channel block/S.M. Dravid, K. Erreger, H. Yuan et al.// J Physiol. - 2007. - №.581(Pt 1). - P.107-128.
56. Dröge, W. Free radicals in the physiological control of cell function/W. Dröge// Physiol Rev. - 2002. - №.82(1). - P.47-95.
57. Dudley, S.C. Jr. Atrial fibrillation increases production of superoxide by the left atrium and left atrial appendage: role of the NADPH and xanthine oxidases/S.C. Jr Dudley, N.E. Hoch, L.A. McCann et al.// Circulation. - 2005. - №.112(9). - P.1266-1273.
58. Đukić, M. Oxidative stress: Clinical diagnostic significance/M. Đukić, M. Ninković, M. Jovanović// Journal of Medical Biochemistry. - 2008. - №.27(4). - P.409-425.
59. Dzubay, J.A. Kinetics of NMDA channel opening/J.A. Dzubay, C.E. Jahr// J Neurosci. - 1996. - №.16(13). - P.4129-4134.
60. Esposito, L.A. Mitochondrial oxidative stress in mice lacking the glutathione peroxidase-1 gene/L.A. Esposito, J.E. Kokoszka, K.G. Waymire et al.// Free Radic Biol Med. - 2000. - №.28(5). - P.754-766.
61. Fahlke, C. Molecular physiology of EAAT anion channels/C. Fahlke, D. Kortzak, J.P. Machtens// Pflugers Arch. - 2016. - №.468(3). - P.491-502.
62. Foster, T.C. Dissecting the age-related decline on spatial learning and memory tasks in rodent models: N-methyl-D-aspartate receptors and voltage-dependent Ca^{2+}

channels in senescent synaptic plasticity/T.C. Foster// Prog Neurobiol. - 2012. - №.96(3). - P.283-303.

63. Funahashi, S. Mnemonic coding of visual space in the monkey's dorsolateral prefrontal cortex/S. Funahashi, C.J. Bruce, P.S. Goldman-Rakic// J Neurophysiol. - 1989. - №.61(2). - P.331-349.
64. Furukawa, H. Mechanisms of activation, inhibition and specificity: crystal structures of the NMDA receptor NR1 ligand-binding core/H. Furukawa, E. Gouaux// EMBO J. - 2003. - №.22(12). - P.2873-2885.
65. Furukawa, H. Subunit arrangement and function in NMDA receptors/ H. Furukawa, S.K. Singh, R. Mancusso, E. Gouaux// Nature. - 2005. - №.438(7065). - P.185-192.
66. Giricz Z, Makkos A, Schreckenberg R, Pöling J, Lörchner H, Kiss K, Bencsik P, Braun T, Schulz R, Ferdinandy P, Schlüter KD. Swiprosin-1/EFhD-2 Expression in Cardiac Remodeling and Post-Infarct Repair: Effect of Ischemic Conditioning. Int J Mol Sci. 2020;21(9):3359.
67. Gao, X. NMDA receptor activation induces mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes/X. Gao, X. Xu, J. Pang et al.// Physiol Res. - 2007. - №.56(5). - P.559-569.
68. Gao, X. NMDA receptor activation induces mitochondrial dysfunction, oxidative stress and apoptosis in cultured neonatal rat cardiomyocytes/X. Gao, X. Xu, J. Pang et al.// Physiol Res. - 2007. - №.56(5). - P.559-569.
69. Girouard, H. NMDA receptor activation increases free radical production through nitric oxide and NOX2/H. Girouard, G. Wang, E.F. Gallo et al.// J Neurosci. - 2009. - №.29(8). - P.2545-2552.
70. Goldman-Rakic, P.S. Cellular basis of working memory/P.S. Goldman-Rakic// Neuron. - 1995. - №.14(3). - P.477-485.
71. Gore, A.C. Age-related changes in hypothalamic gonadotropin-releasing hormone and N-methyl-D-aspartate receptor gene expression, and their regulation by oestrogen, in the female rat/A.C. Gore, T. Oung, M.J. Woller// J Neuroendocrinol. - 2002. - №.14(4). - P.300-309.

72. Govoruskina, N. The effects of N-methyl-D-aspartate receptor blockade on oxidative status in heart during conditioning maneuvers/N. Govoruskina, I. Srejovic, S. Bolevich et al.// Ser J Exp Clin Res. - 2019. - №.20(4). - P.343-350.
73. Govoruskina, N. The Role of Cardiac N-Methyl-D-Aspartate Receptors in HeartConditioning-Effects on Heart Function and Oxidative Stress/ N. Govoruskina, V. Jakovljevic, V. Zivkovic et al.// Biomolecules. – 2020. – №10(7). – P.1065.
74. Greer, P.L. From synapse to nucleus: calcium-dependent gene transcription in the control of synapse development and function/P.L. Greer, M.E. Greenberg// Neuron. - 2008. - №.59(6). - P.846-860.
75. Griffiths, H.R. Redox regulation in metabolic programming and inflammation/H.R. Griffiths, D. Gao, C. Pararasa// *Redox Biol*. - 2017. - №.12. - P.50-57.
76. Guemez-Gamboa, A. Activation of NOX2 by the stimulation of ionotropic and metabotropic glutamate receptors contributes to glutamate neurotoxicity in vivo through the production of reactive oxygen species and calpain activation/A. Guemez-Gamboa, A.M. Estrada-Sánchez, T. Montiel et al.// J Neuropathol Exp Neurol. - 2011. - №.70(11). - P.1020-1035.
77. Gunasekar, P.G. NMDA receptor activation produces concurrent generation of nitric oxide and reactive oxygen species: implication for cell death/P.G. Gunasekar, A.G. Kanthasamy, J.K. Borowitz, G.E. Isom// J Neurochem. - 1995. - №.65(5). - P.2016-2021.
78. Halliwell, B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life/B. Halliwell// Plant Physiol. - 2006 Jun. - №.141(2). - P.312-322.
79. Harhous Z, Booz GW, Ovize M, Bidaux G, Kurdi M. An Update on the Multifaceted Roles of STAT3 in the Heart. Front Cardiovasc Med. 2019;6:150.
80. Hausenloy, D.J. Survival kinases in ischemic preconditioning and postconditioning/D.J. Hausenloy, D.M. Yellon// Cardiovascular research. - 2006. - №.70(2). - P. 240-253.

81. Heusch G, Bøtker HE, Przyklenk K, Redington A, Yellon D. Remote ischemic conditioning. J Am Coll Cardiol. 2015;65(2):177-95.
82. Hicks, C.A. Evaluation of glycine site antagonists of the NMDA receptor in global cerebral ischaemia/C.A. Hicks, M.A. Ward, N. Ragumoorthy et al.// Brain Res. - 1999. - №.819(1-2). - P.65-74.
83. Intachai K, C Chattipakorn S, Chattipakorn N, Shinlapawittayatorn K. Revisiting the Cardioprotective Effects of Acetylcholine Receptor Activation against Myocardial Ischemia/Reperfusion Injury. Int J Mol Sci. 2018;19(9):2466.
84. Idigo, W.O. Regulation of endothelial nitric-oxide synthase (NOS) S-glutathionylation by neuronal NOS: evidence of a functional interaction between myocardial constitutive NOS isoforms/W.O. Idigo, S. Reilly, M.H. Zhang et al.// J Biol Chem. - 2012. - №.287(52). - P.43665-43673.
85. Johnson, J.W. Recent insights into the mode of action of memantine and ketamine/J.W. Johnson, N.G. Glasgow, N.V. Povysheva// Curr Opin Pharmacol. - 2015 Feb. - №.20. - P.54-63.
86. Kaur K, Singh N, Dhawan RK. Potential role of EphrinA2 receptors in postconditioning induced cardioprotection in rats. Eur J Pharmacol. 2020;883:173231.
87. Kamga Pride C, Mo L, Quesnelle K, Dagda RK, Murillo D, Geary L, Corey C, Portella R, Zharikov S, St Croix C, Maniar S, Chu CT, Khoo NK, Shiva S. Nitrite activates protein kinase A in normoxia to mediate mitochondrial fusion and tolerance to ischaemia/reperfusion. Cardiovasc Res. 2014;101(1):57-68.
88. Karakas, E. Structure of the zinc-bound amino-terminal domain of the NMDA receptor NR2B subunit/E. Karakas, N. Simorowski, H. Furukawa// EMBO J. - 2009. - №.28(24). - P.3910-3920.
89. Kash, T.L. Alcohol inhibits NR2B-containing NMDA receptors in the ventral bed nucleus of the stria terminalis/T.L. Kash, R.T. Matthews, D.G. Winder// Neuropsychopharmacology. - 2008. - №.33(6). - P.1379-1390.
90. Khaliulin, I. Temperature preconditioning is optimal at 26 C and confers additional protection to hypothermic cardioplegic ischemic arrest/I. Khaliulin, A.P. Halestrap,

M.S. Suleiman// Experimental Biology and Medicine. - 2011. - №.236(6). - P. 736-745.

91. Khan, S.A. Neuronal nitric oxide synthase negatively regulates xanthine oxidoreductase inhibition of cardiac excitation-contraction coupling/S.A. Khan, K. Lee, K.M. Minhas et al.// Proc Natl Acad Sci U S A. - 2004. - №.101(45). - P.15944-15948.
92. Khan, S.A. Rapamycin confers preconditioning-like protection against ischemia–reperfusion injury in isolated mouse heart and cardiomyocytes/S.A. Khan, F. Salloum, A. Das et al.// Journal of molecular and cellular cardiology. - 2006. - №.41(2). - P. 256-264.
93. Kim, Y.M. A myocardial Nox2 containing NAD(P)H oxidase contributes to oxidative stress in human atrial fibrillation/Y.M. Kim, T.J. Guzik, Y.H. Zhang et al.// Circ Res. - 2005. - №.97(7). - P.629-636.
94. Kim, Y.M. Association of atrial nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase activity with the development of atrial fibrillation after cardiac surgery/Y.M. Kim, H. Kattach, C. Ratnatunga et al.// J Am Coll Cardiol. - 2008. - №.51(1). - P.68-74.
95. Kleckner, N.W. Requirement for glycine in activation of NMDA-receptors expressed in Xenopus oocytes/N.W. Kleckner, R. Dingledine// Science. - 1988. - №.241(4867). - P.835-837.
96. Kleiber, A.C. Exercise training normalizes enhanced glutamate-mediated sympathetic activation from the PVN in heart failure/A.C. Kleiber, H. Zheng, H.D. Schultz et al.// Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. - 2008. - №.294(6). - P.R1863-1872.
97. Kohr, M.J. Simultaneous measurement of protein oxidation and S-nitrosylation during preconditioning and ischemia/reperfusion injury with resin-assisted capture/M.J. Kohr, J. Sun, A. Aponte et al.// Circ Res. - 2011. - №.108(4). - P.418-426.

98. Kolodney, G. Nuclear compartmentalization of serine racemase regulates d-serine production. Implications for n-methyl-d-aspartate (NMDA) receptor activation/G. Kolodney, E. Dumin, H. Safory et al.// J Biol Chem. - 2016. - №.291(6). - P.2630.
99. Kumar, A. Linking redox regulation of NMDAR synaptic function to cognitive decline during aging/A. Kumar, T.C. Foster// J Neurosci. - 2013. - №.33(40). - P.15710-15715.
100. Kumar, A. NMDA Receptor Function During Senescence: Implication on Cognitive Performance/A. Kumar// Front Neurosci. - 2015. - №.9. - P.473.
101. Laketić-Ljubojević, I. Functional characterization of N-methyl-D-aspartic acid-gated channels in bone cells/I. Laketić-Ljubojević, L.J. Suva, F.J. Maathuis et al.// Bone. - 1999. - №.25(6). - P.631-637.
102. LeMaistre, J.L. Coactivation of NMDA receptors by glutamate and D-serine induces dilation of isolated middle cerebral arteries/J.L. LeMaistre, S.A. Sanders, M.J. Stobart et al.// J Cereb Blood Flow Metab. - 2012. - №.32(3). - P.537-547.
103. Lerma, J. In vivo determination of extracellular concentration of amino acids in the rat hippocampus. A method based on brain dialysis and computerized analysis/J. Lerma, A.S. Herranz, O. Herreras et al.// Brain Res. - 1986. - №.384(1). - P.145-155.
104. Lester, R.A. Channel kinetics determine the time course of NMDA receptor-mediated synaptic currents/R.A. Lester, J.D. Clements, G.L. Westbrook, C.E. Jahr// Nature. - 1990. - №.346(6284). - P.565-567.
105. Leung, J.C. Expression and developmental regulation of the NMDA receptor subunits in the kidney and cardiovascular system/J.C. Leung, B.R. Travis, J.W. Verlander et al.// Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. - 2002. - №.283(4). - P.R964-971.
106. Lin, J.W. Yotiao, a novel protein of neuromuscular junction and brain that interacts with specific splice variants of NMDA receptor subunit NR1/J.W. Lin, M. Wyszynski, R. Madhavan et al.// J Neurosci. - 1998. - №.18(6). - P.2017-2027.

107.Luo SJ, Zhou YJ, Shi DM, Ge HL, Wang JL, Liu RF. Remote ischemic preconditioning reduces myocardial injury in patients undergoing coronary stent implantation. Can J Cardiol. 2013;29(9):1084-9.

108.Pirillo, A. The Interplay of Lipids, Lipoproteins, and Immunity in Atherosclerosis/ A. Pirillo, F. Bonacina, G.D. Norata, A.L. Catapano// Curr Atheroscler Rep. – 2018. - №20(3). – P.12.

109.Liu, X.B. Switching of NMDA receptor 2A and 2B subunits at thalamic and cortical synapses during early postnatal development/X.B. Liu, K.D. Murray, E.G. Jones// J Neurosci. - 2004. - №.24(40). - P.8885-8895.

110.Liu, Y. A preliminary experimental study on the cardiac toxicity of glutamate and the role of α-amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionic acid receptor in rats/Y. Liu, L. Zhou, H.F. Xu et al.// Chin Med J (Engl). - 2013. - №.126(7). - P.1323-1332.

111.Liu, Y.O. Ischemic preconditioning protects against infarction in rat heart/Y.O. Liu, J.M. Downey// American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology. - 1992. - №.263(4). - P. 1107-1112.

112.Lomeli, H. Control of kinetic properties of AMPA receptor channels by nuclear RNA editing/H. Lomeli, J. Mosbacher, T. Melcher et al.// Science. - 1994. - №.266(5191). - P.1709-1713.

113.Magi, S. Glutamate-induced ATP synthesis: relationship between plasma membrane Na+/Ca2+ exchanger and excitatory amino acid transporters in brain and heart cell models/S. Magi, S. Arcangeli, P. Castaldo et al.// Mol Pharmacol. - 2013. - №.84(4). - P.603-614.

114.Magnusson, K.R. The effects of aging on different C-terminal splice forms of the zeta1(NR1) subunit of the N-methyl-d-aspartate receptor in mice/K.R. Magnusson, L. Bai, X. Zhao// Brain Res Mol Brain Res. - 2005. - №.135(1-2). - P.141-149.

115.Maldonado, C. Hyperhomocysteinemia and sudden cardiac death: potential arrhythmogenic mechanisms/C. Maldonado, C.V. Soni, N.D. Todnem et al.// Curr Vasc Pharmacol. - 2010. - №.8(1). - P.64-74.

116. Martin, S.J. Synaptic plasticity and memory: an evaluation of the hypothesis/S.J. Martin, P.D. Grimwood, R.G. Morris// Annu Rev Neurosci. - 2000. - №.23. - P.649-711.
117. Matsuda, K. Specific assembly with the NMDA receptor 3B subunit controls surface expression and calcium permeability of NMDA receptors/K. Matsuda, M. Fletcher, Y. Kamiya, M. Yuzaki// J Neurosci. - 2003. - №.23(31). - P.10064-10073.
118. Maulik A, Davidson SM, Piotrowska I, Walker M, Yellon DM. Ischaemic Preconditioning Protects Cardiomyocytes from Anthracycline-Induced Toxicity via the PI3K Pathway. Cardiovasc Drugs Ther. 2018;32(3):245-253.
119. Mayer, M.L. Structure and function of glutamate receptor ion channels/M.L. Mayer, N. Armstrong// Annu Rev Physiol. - 2004. - №.66. - P.161-181.
120. McGee, M.A. Enhanced vascular neuronal nitric-oxide synthase-derived nitric-oxide production underlies the pressor response caused by peripheral N-methyl-D-aspartate receptor activation in conscious rats/M.A. McGee, A.A. Abdel-Rahman// J Pharmacol Exp Ther. - 2012. - №.342(2). - P.461-471.
121. McMurtrey, R.J. Isoflurane preconditioning and postconditioning in rat hippocampal neurons/R.J. McMurtrey, Z. Zuo// Brain Res. - 2010 Oct 28. - №.1358. - P.184-190.
122. Mealing, G.A. Differences in degree of trapping of low-affinity uncompetitive N-methyl-D-aspartic acid receptor antagonists with similar kinetics of block/G.A. Mealing, T.H. Lanthorn, C.L. Murray et al.// J Pharmacol Exp Ther. - 1999. - №.288(1). - P.204-210.
123. Meneghini, A. Memantine prevents cardiomyocytes nuclear size reduction in the left ventricle of rats exposed to cold stress/A. Meneghini, C. Ferreira, L.C. Abreu et al.// Clinics (Sao Paulo). - 2009. - №.64(9). - P.921-926.
124. Miao, B. Neuroprotective effects of preconditioning ischemia on ischemic brain injury through down-regulating activation of JNK1/2 via N-methyl-D-aspartate receptor-mediated Akt1 activation/B. Miao, X.H. Yin, D.S. Pei et al.// J Biol Chem. - 2005. - №.280(23). - P.21693-21699.

125.Martins-Marques T, Hausenloy DJ, Sluijter JPG, Leybaert L, Girao H. Intercellular Communication in the Heart: Therapeutic Opportunities for Cardiac Ischemia. Trends Mol Med. 2021;27(3):248-262.

126.Mitchell, R.M. Ethanol preconditioning of rat cerebellar cultures targets NMDA receptors to the synapse and enhances peroxiredoxin 2 expression/R.M. Mitchell, N. Tajuddin, E.M. Campbell et al.// Brain Res. - 2016. - №.1642. - P.163-169.

127.Mony, L. Allosteric modulators of NR2B-containing NMDA receptors. - P. molecular mechanisms and therapeutic potential/L. Mony, J.N. Kew, M.J. Gunthorpe, P. Paoletti// Br J Pharmacol. - 2009. - №.157(8). - P.1301-1317.

128.Monyer, H. Developmental and regional expression in the rat brain and functional properties of four NMDA receptors/H. Monyer, N. Burnashev, D.J. Laurie et al.// Neuron. - 1994. - №.12(3). - P.529-540.

129.Morhenn, V.B. Evidence for an NMDA receptor subunit in human keratinocytes and rat cardiocytes/V.B. Morhenn, N.S. Waleh, J.N. Mansbridge et al.// Eur J Pharmacol. - 1994. - №.268(3). - P.409-414.

130.Moroni, F. The presence of N-methyl-D-aspartate-type receptors for glutamic acid in the guinea pig myenteric plexus/F. Moroni, S. Luzzi, S. Franchi-Micheli, L. Zilletti// Neurosci Lett. - 1986. - №.68(1). - P.57-62.

131.Morris, R.G. Selective impairment of learning and blockade of long-term potentiation by an N-methyl-D-aspartate receptor antagonist, AP5/R.G. Morris, E. Anderson, G.S. Lynch, M. Baudry// Nature. - 1986. - №.319(6056). - P.774-776.

132.Moshal, K.S. Mitochondrial matrix metalloproteinase activation decreases myocyte contractility in hyperhomocysteinemia/K.S. Moshal, S.M. Tipparaju, T.P. Vacek et al.// Am J Physiol Heart Circ Physiol. - 2008. - №.295(2). - P.890-897.

133.Mothet, J.P. Glutamate receptor activation triggers a calcium-dependent and SNARE protein-dependent release of the gliotransmitter D-serine/J.P. Mothet, L. Pollegioni, G. Ouanounou et al.// Proc Natl Acad Sci U S A. - 2005. - №.102(15). - P.5606-5611.

134.Murry, C.E. Preconditioning with ischaemia: a delay of lethal cell injury in ischemic myocardium/C.E. Murry, R.B. Jennings, K.A. Reimer// Circulation. - 1986. - №.74(5). - P. 1124−1136.

135.Nahum-Levy, R. Desensitization of NMDA receptor channels is modulated by glutamate agonists/R. Nahum-Levy, D. Lipinski, S. Shavit, M. Benveniste// Biophys J. - 2001. - №.80(5). - P.2152-2166.

136.Nässtrom, J. Tissue distribution of two NMDA receptor antagonists, [3H]CGS 19755 and [3H]MK-801, after intrathecal injection in mice/J. Nässtrom, E. Böö, M. Ståhlberg, O.G. Berge// Pharmacol Biochem Behav. - 1993. - №.44(1). - P.9-15.

137.Neafsey, E.J. Moderate alcohol consumption and cognitive risk/E.J. Neafsey, M.A. Collins// Neuropsychiatr Dis Treat. - 2011. - №.7. - P.465-484.

138.Nishikawa, T. Stimulation of catecholamine release from isolated adrenal glands by some amino acids/T. Nishikawa, K. Morita, K. Kinjo, A. Tsujimoto// Jpn J Pharmacol. - 1982. - №.32(2). - P.291-297.

139.O'Donnell, C.J. Genomics of cardiovascular disease/C.J. O'Donnell, E.G. Nabel// New England Journal of Medicine. - 2011. - №.365(22). - P. 2098-2109.

140.Ogita, K. In vivo neuroprotective role of NMDA receptors against kainate-induced excitotoxicity in murine hippocampal pyramidal neurons/K. Ogita, H. Okuda, Y. Yamamoto et al.// J Neurochem. - 2003. - №.85(5). - P.1336-1346.

141.Ohkawa, H. Assay for lipid peroxides in animal tissues by thiobarbituric acid reaction/H. Ohkawa, N. Ohishi, K. Yagi// Anal Biochem. - 1979. - №.95. - P.351-358.

142.Ota, H. Protective effects of NMDA receptor antagonist, memantine, against senescence of PC12 cells: A possible role of nNOS and combined effects with donepezil/H. Ota, S. Ogawa, Y. Ouchi, M. Akishita// Exp Gerontol. - 2015. - №.72. - P.109-116.

143.Panatier, A. Glia-derived D-serine controls NMDA receptor activity and synaptic memory/A. Panatier, D.T. Theodosis, J.P. Mothet et al.// Cell. – 2006. - №.125(4). - P.775-784.

144.Panatier, A. Glia-derived D-serine controls NMDA receptor activity and synaptic memory/A. Panatier, D.T. Theodosis, J.P. Mothet et al.// Cell. - 2006. - №.125(4). - P.775-784.

145.Paoletti, P. Zinc at glutamatergic synapses/P. Paoletti, A.M. Vergnano, B. Barbour, M. Casado// Neuroscience. - 2009. - №.158(1). - P.126-136.

146.Perez-Otano, I. Assembly with the NR1 subunit is required for surface expression of NR3A-containing NMDA receptors/I. Perez-Otano, C.T. Schulteis, A. Contractor et al.// J Neurosci. - 2001. - №.21(4). - P.1228-1237.

147.Philpot, B.D. Effect of transgenic overexpression of NR2B on NMDA receptor function and synaptic plasticity in visual cortex/B.D. Philpot, M.P. Weisberg, M.S. Ramos et al.// Neuropharmacology. - 2001. - №.41(6). - P.762-770.

148.Pick, E. A simple colorimetric method for the measurement of hydrogen peroxide produced by cells in culture/E. Pick, Y. Keisari// J Immunol Methods. - 1980. - №.38. - P.161-170.

149.Purohit, A. Oxidized Ca(2+)/calmodulin-dependent protein kinase II triggers atrial fibrillation/A. Purohit, A.G. Rokita, X. Guan et al.// Circulation. - 2013. - №.128(16). - P.1748-1757.

150.Qiu, S. Subunit assembly of N-methyl-d-aspartate receptors analyzed by fluorescence resonance energy transfer/S. Qiu, Y.L. Hua, F. Yang et al.// J Biol Chem. - 2005. - №.280(26). - P.24923-24930.

151.Ralphe, J.C. Localization and function of the brain excitatory amino acid transporter type 1 in cardiac mitochondria/J.C. Ralphe, J.L. Segar, B.C. Schutte, T.D. Scholz// J Mol Cell Cardiol. - 2004. - №.37(1). - P.33-41.

152.Rentoukas I, Giannopoulos G, Kaoukis A, Kossyvakis C, Raisakis K, Driva M, Panagopoulou V, Tsarouchas K, Vavetsi S, Pyrgakis V, Deftereos S. Cardioprotective role of remote ischemic periconditioning in primary percutaneous coronary intervention: enhancement by opioid action. JACC Cardiovasc Interv. 2010;3(1):49-55.

153.Salloum, F.N. Vardenafil: a novel type 5 phosphodiesterase inhibitor reduces myocardial infarct size following ischemia/reperfusion injury via opening of

mitochondrial KATP channels in rabbits/F.N. Salloum, R.A. Ockaili, M. Wittkamp et al.// Journal of molecular and cellular cardiology. - 2006. - №.40(3). - P.405-411.

154. Samoilov, M.O. The adaptive effects of hypoxic preconditioning of brain neurons/M.O. Samoilov, E.V. Lazarevich, D.G. Semenov et al.// Neurosci Behav Physiol. - 2003. - №.33(1). - P.1-11.

155. Santos-Gallego CG, Vahl TP, Goliasch G, Picatoste B, Arias T, Ishikawa K, Njerve IU, Sanz J, Narula J, Sengupta PP, Hajjar RJ, Fuster V, Badimon JJ. Sphingosine-1-Phosphate Receptor Agonist Fingolimod Increases Myocardial Salvage and Decreases Adverse Postinfarction Left Ventricular Remodeling in a Porcine Model of Ischemia/Reperfusion. Circulation. 2016;133(10):954-66.

156. Sattler, R. Specific coupling of NMDA receptor activation to nitric oxide neurotoxicity by PSD-95 protein/R. Sattler, Z. Xiong, W.Y. Lu et al.// Science. - 1999. - №.284(5421). - P.1845-1848.

157. Schaller, B. Cerebral ischemic preconditioning. An experimental phenomenon or a clinical important entity of stroke prevention?/B. Schaller, R. Graf// J Neurol. - 2002. - №.249(11). - P.1503-1511.

158. Schüler, T. Formation of NR1/NR2 and NR1/NR3 heterodimers constitutes the initial step in N-methyl-D-aspartate receptor assembly/T. Schüler, I. Mesic, C. Madry et al.// J Biol Chem. - 2008. - №.283(1). - P.37-46.

159. Seeber, S. Transient expression of NMDA receptor subunit NR2B in the developing rat heart/S. Seeber, K. Becker, T. Rau et al.// J Neurochem. - 2000. - №.75(6). - P.2472-2477.

160. Shi, S. Chronic N-methyl-D-aspartate receptor activation induces cardiac electrical remodeling and increases susceptibility to ventricular arrhythmias/S. Shi, T. Liu, Y. Li et al.// Pacing Clin Electrophysiol. - 2014. - №.37(10). - P.1367-1377.

161. Soltysinska E, Bentzen BH, Barthmes M, Hattel H, Thrush AB, Harper ME, Qvortrup K, Larsen FJ, Schiffer TA, Losa-Reyna J, Straubinger J, Kniess A, Thomsen MB, Brüggemann A, Fenske S, Biel M, Ruth P, Wahl-Schott C, Boushel RC, Olesen SP, Lukowski R. KCNMA1 encoded cardiac BK channels afford protection against ischemia-reperfusion injury. PLoS One. 2014;9(7):e103402.

162. Simon, J.N. Compromised redox homeostasis, altered nitroso-redox balance, and therapeutic possibilities in atrial fibrillation/J.N. Simon, K. Ziberna, B. Casadei// Cardiovasc Res. - 2016. - №.109(4). - P.510-518.
163. Simon, J.N. Nitric oxide synthase regulation of cardiac excitation-contraction coupling in health and disease/J.N. Simon, D. Duglan, B. Casadei, R. Carnicer// J Mol Cell Cardiol. - 2014. - №.73. - P.80-91.
164. Snyder, E.M. Regulation of NMDA receptor trafficking by amyloid-beta/E.M. Snyder, Y. Nong, C.G. Almeida et al.// Nat Neurosci. - 2005. - №.8(8). - P.1051-1058.
165. Sobolevsky, A.I. Structure and gating of tetrameric glutamate receptors/A.I. Sobolevsky// J Physiol. - 2015. - №.593(1). - P.29-38.
166. Sobolevsky, A.I. Subunit-specific contribution of pore-forming domains to NMDA receptor channel structure and gating/A.I. Sobolevsky, M.L. Prodromou, M.V. Yelshansky, L.P. Wollmuth// J Gen Physiol. - 2007. - №.129(6). - P.509-525.
167. Sonntag, W.E. Age and insulin-like growth factor-1 modulate N-methyl-D-aspartate receptor subtype expression in rats/W.E. Sonntag, S.A. Bennett, A.S. Khan et al.// Brain Res Bull. - 2000. - №.51(4). - P.331-338.
168. Srejovic, I. Modulation of N-methyl-d-aspartate receptors in isolated rat heart/I. Srejovic, V. Zivkovic, T. Nikolic et al.// Can J Physiol Pharmacol. - 2017. - №.95(11). - P.1327-1334.
169. Srejovic, I. The effects of glycine, glutamate and theic combination on cardiodynamics, coronary flow and oxidative stress in isolated rat heart/I. Srejovic, V. Jakovljevic, V. Zivkovic et al.// Curr Res Cardiol. - 2015. - №.2(2). - P.63-68.
170. Stern-Bach, Y. Agonist selectivity of glutamate receptors is specified by two domains structurally related to bacterial amino acid-binding proteins/Y. Stern-Bach, B. Bettler, M. Hartley et al.// Neuron. - 1994. - №.13(6). - P.1345-1357.
171. Stojic, I. The effects of verapamil and its combinations with glutamate and glycine on cardiodynamics, coronary flow and oxidative stress in isolated rat heart/I. Stojic, I. Srejovic, V. Zivkovic et al.// J Physiol Biochem. - 2017. - №.73(1). - P.141-153.

172. Sun, X. Increasing glutamate promotes ischemia-reperfusion-induced ventricular arrhythmias in rats in vivo/X. Sun, J. Zhong, D. Wang et al.// Pharmacology. - 2014. - №.93(1-2). - P.4-9.

173. Symons, M.C. Radicals generated by bone cutting and fracture/M.C. Symons// Free Radic Biol Med. - 1996. - №.20(6). - P.831-835.

174. Texidó, L. Amyloid β peptide oligomers directly activate NMDA receptors/L. Texidó, M. Martín-Satué, E. Alberdi, C. Solsona, C. Matute// Cell Calcium. - 2011. - №.49(3). - P.184-190.

175. Toyokuni, S. Reactive oxygen species-induced molecular damage and its application in pathology/S. Toyokuni// Pathology international. - 1999. - №.49(2). - P. 91-102.

176. Traynelis, S.F. Control of voltage-independent zinc inhibition of NMDA receptors by the NR1 subunit/S.F. Traynelis, M.F. Burgess, F. Zheng et al.// J Neurosci. - 1998. - №.18(16). - P.6163-6175.

177. Traynelis, S.F. Glutamate receptor ion channels: structure, regulation, and function/S.F. Traynelis, L.P. Wollmuth, C.J. McBain et al.// Pharmacol Rev. - 2010. - №.62(3). - P.405-496.

178. Traynelis, S.F. Proton inhibition of N-methyl-D-aspartate receptors in cerebellar neurons/S.F. Traynelis, S.G. Cull-Candy// Nature. - 1990. - №.345(6273). - P.347-350.

179. Tu, S. Oligomeric Aβ-induced synaptic dysfunction in Alzheimer's disease/S. Tu, S. Okamoto, S.A. Lipton, H. Xu// Mol Neurodegener. -2014. - №.9. - P.48.

180. Tyagi, N. Cardiac specific deletion of N-methyl-d-aspartate receptor 1 ameliorates mtMMP-9 mediated autophagy/mitophagy in hyperhomocysteinemia/N. Tyagi, J.C. Vacek, S. Givvimani et al.// J Recept Signal Transduct Res. - 2010. - №.30(2). - P.78-87.

181. Vissel, B. Intracellular domains of NR2 alter calcium-dependent inactivation of N-methyl-D-aspartate receptors/B. Vissel, J.J. Krupp, S.F. Heinemann, G.L. Westbrook// Mol Pharmacol. - 2002. - №.61(3). - P.595-605.

182. Vizi, E.S. Role of nonsynaptic GluN2B-containing NMDA receptors in excitotoxicity: evidence that fluoxetine selectively inhibits these receptors and may have neuroprotective effects/E.S. Vizi, M. Kisfali, T. Lőrincz// Brain Res Bull. - 2013. - №.93. - P.32-38.
183. Vyklicky, V. Structure, function, and pharmacology of NMDA receptor channels/V. Vyklicky, M. Korinek, T. Smejkalova et al.// Physiol Res. - 2014. - №.63(1). - P.191-203.
184. Wang, M. Contribution of NMDA receptors to dorsolateral prefrontal cortical networks in primates/M. Wang, A.F. Arnsten// Neurosci Bull. - 2015. - №.31(2). - P.191-197.
185. Wang, X.J. Synaptic reverberation underlying mnemonic persistent activity/X.J. Wang// Trends Neurosci. - 2001. - №.24(8). - P.455-463.
186. Wang, Z.C. Dysregulation of synaptic and extrasynaptic N-methyl-D-aspartate receptors induced by amyloid-β/Z.C. Wang, J. Zhao, S. Li// Neurosci Bull. - 2013. - №.29(6). - P.752-760.
187. Watabe, S. SP-22 is a thioredoxin-dependent peroxide reductase in mitochondria/S. Watabe, T. Hiroi, Y. Yamamoto et al.// Eur J Biochem. - 1997. - №.249(1). - P.52-60.
188. Weerateerangkul, P. Roles of the nitric oxide signaling pathway in cardiac ischemic preconditioning against myocardial ischemia-reperfusion injury/P. Weerateerangkul, S. Chattipakorn, N. Chattipakorn// Medical science monitor: international medical journal of experimental and clinical research. - 2011. - №.17(2). - P. 44.
189. Westbrook, G.L. Micromolar concentrations of Zn2+ antagonize NMDA and GABA responses of hippocampal neurons/G.L. Westbrook, M.L. Mayer// Nature. - 1987. - №.328(6131). - P.640-643.
190. Winterbourn, C.C. Reconciling the chemistry and biology of reactive oxygen species/C.C. Winterbourn// Nat Chem Biol. - 2008. - №.4(5). - P.278-286.
191. Xia, Z. Myocardial ischaemia reperfusion injury: the challenge of translating ischaemic and anaesthetic protection from animal models to humans/Z. Xia, H. Li,

M.G. Irwin// BJA: British Journal of Anaesthesia. - 2016. - №.117(suppl_2). - P.44-62.

192. Yang, Y. Nicotinic α7 receptors enhance NMDA cognitive circuits in dorsolateral prefrontal cortex/Y. Yang, C.D. Paspalas, L.E. Jin et al.// Proc Natl Acad Sci U S A. - 2013. - №.110(29). - P.12078-12083.

193. Yao, Y. Molecular mechanism of ligand recognition by NR3 subtype glutamate receptors/Y. Yao, C.B. Harrison, P.L. Freddolino et al.// EMBO J. - 2008. - №.27(15). - P.2158-2170.

194. Yao, Y. Molecular mechanism of ligand recognition by NR3 subtype glutamate receptors/Y. Yao, C.B. Harrison, P.L. Freddolino et al.// EMBO J. - 2008. - №.27(15). - P.2158-2170.

195. Yellon, D.M. Myocardial reperfusion injury/D.M. Yellon, D.J. Hausenloy// New England Journal of Medicine. - 2007. - №.357(11). - P. 1121-1135.

196. Yuan, H. Control of NMDA receptor function by the NR2 subunit amino-terminal domain/H. Yuan, K.B. Hansen, K.M. Vance et al.// J Neurosci. - 2009. - №.29(39). - P.12045-12058.

197. Zhang, W. Structural and single-channel results indicate that the rates of ligand binding domain closing and opening directly impact AMPA receptor gating/W. Zhang, Y. Cho, E. Lolis, J.R. Howe// J Neurosci. - 2008. - №.28(4). - P.932-943.

198. Zhang, X. Postsynaptic response to stimulation of the Schaffer collaterals with properties similar to those of synaptosomal aspartate release/X. Zhang, J.V. Nadler// Brain Res. - 2009. - №.1295. - P.13-20.

199. Zhao, X. The effects of aging on N-methyl-D-aspartate receptor subunits in the synaptic membrane and relationships to long-term spatial memory/X. Zhao, R. Rosenke, D. Kronemann et al.// Neuroscience. - 2009. - №.162(4). - P.933-945.