

Н.И. Зиятдинова, Л.И.Хисамиева, Т.Л. Зефирова

ВОЗРАСТНЫЕ ОСОБЕННОСТИ РЕАКЦИИ СЕРДЦА КРЫС НА СЕЛЕКТИВНУЮ БЛОКАДУ АЛЬФА_{1B}-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ

Казанский (Приволжский) федеральный университет

Реферат. Проведены эксперименты по изучению влияния блокады альфа_{1B}-адренорецепторов (АР) на сердечный ритм крыс 1-но, 3-х, 6-ти и 20-ти недельного возраста. Блокада альфа_{1B}-АР клоэтилклонидином не оказывала существенных изменений на хронотропию сердца новорожденных и 3-х недельных крысят. Введение селективного блокатора альфа_{1B}-АР крысам 6-ти и 20-ти недельного возраста приводило к урежению сердечной деятельности. Таким образом, выявлены существенные возрастные различия в реакции сердца крыс разного возраста на блокаду разных подтипов альфа_{1B}-адренорецепторов.

Ключевые слова: сердце, альфа₁-адренорецепторы, симпатическая регуляция, крыса, онтогенез

Симпатический отдел вегетативной нервной системы регулирует сердце путем активации двух типов миокардиальных адренергических рецепторов (АР), альфа-1-АР (альфа₁-АР) и бета-АР (бета-АР). Основную часть в сердце составляют бета₁-АР, бета₂- и альфа₁-АР присутствуют в сердце в меньшем количестве, но играют значительную функциональную роль. Все АР активируют G-белки: бета-АР активируют преимущественно G_s, альфа₁-АР - G_q, бета₂ - G_i.

Роль бета-АР в регуляции сердечного ритма, сократимости миокарда и патологических процессов изучена довольно хорошо [4, 8, 9, 10]. В большинстве экспериментальных и клинических исследований в последнее время внимание было сосредоточено на блокаде бета-адренорецепторов (АР). В свою очередь, этот концептуальный подход возник в связи с установленной ролью бета-адреноблокаторов в развитии стенокардии, гипертонии и сердечной недостаточности. [8, 9].

Эта концепция привела к тому, что вопрос о роли альфа-АР в развитии сердечной патологии был закрыт и забыт. В последнее время наблюдается возрождение интереса к комбинированной блокаде адренорецепторов. В частности, комбинированная бета₁-, бета₂-и альфа₁-блокада установила лучшие результаты в сравнении с селективной блокадой бета₁-АР. Этот результат заставил многих предположить о значительном влиянии альфа-АР в развитии сердечной недостаточности. Показано, что альфа-рецепторы участвуют в физиологической гипертрофии у мышей самцов [9]. Стимуляция альфа₁-адренорецепторов фенилэфрином вызывает гипертрофические изменения в неонатальных кардиомиоцитах желудочков крысы. Эти изменения опосредованы через оба G_q и протеинкиназа-С-зависимые пути [8]. альфа₁-АР стимулиция увеличивает содержание белка миофибрилл за счет ускорения синтеза белка. альфа₁-АР могут также

принимать участие в гипертрофии миокарда через протеинкиназы-С [9]. Выделяют три подтипа альфа₁-АР: альфа_{1A}, альфа_{1B}, и альфа_{1D}-адренорецепторы [8]. Все три подтипа активируются адреналином и норадреналином, фенилэфрином и блокируются празозином [3]. Все альфа₁-АР в паре с G_q-белком активируют фосфолипазу Сбета1, с увеличением диацилглицерола и активацией протеинкиназы С. Известно, что альфа₁-АР присутствуют в сердце и схожи у различных видов животных, за исключением крысы [9]. Показано, что альфа_{1A} и альфа_{1B} подтипы в сердце миоцитов расположены главным образом на ядерной мембране, а не на сарколемме [11]. В самом сердце альфа_{1A} и альфа_{1B} подтипы наиболее плотно представлены в миокарде, тогда как альфа_{1D}-подтип имеет преобладающее и функциональное значение в эпикардиальных коронарных артериях и в клетках гладких мышц [6, 7]. In vitro и in vivo предположено, что альфа_{1A} и альфа_{1B} подтипы в кардиомиоцитах крысы могут иметь различную регуляцию при хронической стимуляции [8]. Несмотря на то, что недавние исследования значительно расширили понимание роли альфа-АР в развитии сердечной патологии, несоответствия в клинических наблюдениях иллюстрируют пробелы в наших знаниях и указывают на необходимость дальнейших исследований, чтобы понять методы лечения, которые модулируют через альфа-адренергические системы [9]. Животные, находящиеся на разных этапах постнатального онтогенеза является моделью различных типов патологии и регуляции сердечной деятельности. Поэтому целью наших исследований было проведение сравнительного анализа влияния блокады альфа_{1B}-адренорецепторов на сердечный ритм у крыс разного возраста.

М а т е р и а л ы и м е т о д ы

Объект исследования

Для экспериментов использовались белые беспородные крысы в возрасте от 1-ой до 20-ти недель. Всего в работе представлены данные полученные от 29 животных. Животные размещались в специальном помещении, в стандартных пластмассовых клетках для содержания и разведения лабораторных грызунов. Обычно в клетках находилось по 3-4 однополых особи. Условия содержания всех исследуемых животных были одинаковыми.

Эксперименты проводились на животных в возрасте 1-ой, 3-х, 6-ти и 20-ти недель. Использование в экспериментах и самок и самцов было основано на данных свидетельствующих об от-

сутствии половых различий частоты сердечных сокращений самцов и самок белых крыс в возрасте от 1-го до 24-х месяцев.

В наших экспериментах мы придерживались принятой в настоящее время классификации периодов постнатального онтогенеза белых лабораторных крыс: 0-7 дней – период новорожденности, 1-3-х недельный возраст - период молочного кормления; 4-5-ти недельные животные являются неполовозрелыми; 6-ти недельный возраст - предпубертатный период; возраст 7 недель - первый этап пубертатного периода, 8-9 недель - пубертатный период развития; 12-20 недель - половозрелые животные [2].

Методы оперативных вмешательств и фармакологического воздействия

Для наркоза при проведении экспериментов использовали 25% раствор уретана (Uretane, Sigma), вводимый внутривенно в количестве 800 мг/кг массы животного. После инъекции уретана животное фиксировали на специальном операционном столе с мощным освещением и необходимой оптической аппаратурой для микрохирургических операций. В ходе всего эксперимента, начиная с момента фиксации крысы на операционном столе, проводилась постоянная регистрация электрокардиограммы с получением усредненных значений параметров вариационной пульсограммы, сегментов электрокардиограммы. Для введения фармакологических агентов на внутренней поверхности правой нижней конечности выстригали шерстный покров, обрабатывали кожу растворами йода и спирта, а затем производили кожный разрез, открывая доступ к правой бедренной вене. В экспериментах использовался хлорэтилклонидин (Chloroethylclonidine, Sigma), являющийся, как известно, специфическим блокатором альфа_{1В}-адренорецепторов. Селективный блокатор альфа_{1В}-адренорецепторов хлорэтилклонидин вводили в дозе 5 мг/кг массы животного. Введение препаратов осуществлялось при помощи инсулиновых шприцов, позволяющих производить достаточно точную дозировку вводимых веществ.

Метод регистрации кардиоинтервалов.

На протяжении всех экспериментов у крыс постоянно отводилась электрокардиограмма. Регистрация электрокардиограммы осуществлялась при помощи электрокардиографа ЭК 1Г- 03М (Россия). Стальные игольчатые электроды в количестве семи вводились подкожно в конечности исследуемых животных, что позволяло устойчиво регистрировать сигналы от сердца. Использовалось второе стандартное отведение. Необходимо подчеркнуть, что наложение электродов для регистрации параметров сердечной деятельности всегда проводилось только после полной наркотизации исследуемых животных. Сигналы с электрокардиографа в осциллограф С1 – 83 (Россия), а затем на компьютер, где шла обработка программой.

Метод математического анализа кардиоинтервалов

Мы использовали метод математического анализа кардиоинтервалов, в основе которого лежат известные разработки математического анализа сердечного ритма, выполненные под руковод-

ством Р.М. Баевского, позволяющие оценивать функциональное состояние различных систем регуляции сердечной деятельности [5].).

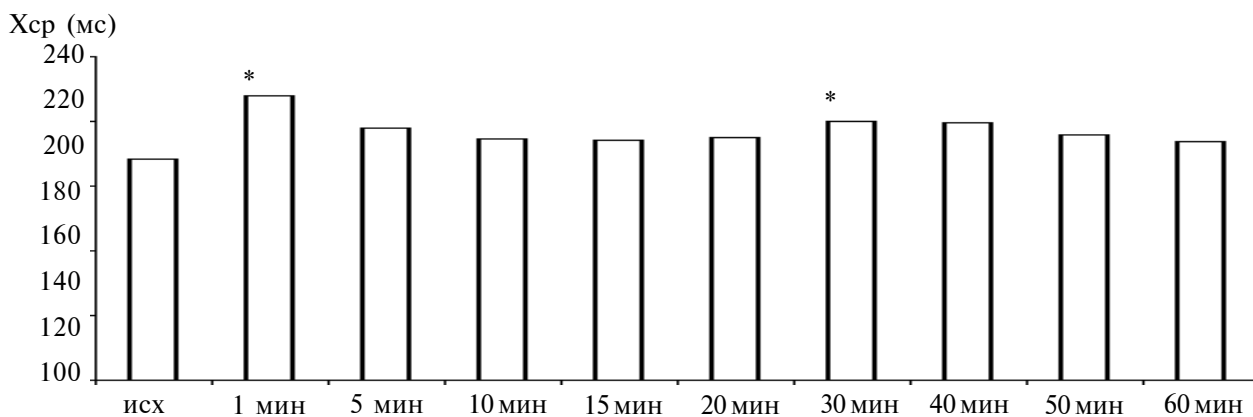
Усредненные значения параметров сердечной деятельности крыс регистрировались, оригинальной программой разработанной на базе программы Р.М. Баевского, который дает возможность изучать динамику весьма значительного количества различных параметров вариационной пульсограммы [1]. В работе для дальнейшей статистической обработки результатов серий экспериментов на животных, мы выбрали 5 параметров отражающих, на наш взгляд, активность наиболее важных механизмов регуляции сердечной деятельности: значения среднего кардиоинтервала (Хср), моды (Мо), амплитуды моды (АМо), вариационный размах (ДХ), среднее квадратическое отклонение (сигма). Статистическая обработка результатов серий экспериментов проводилась на персональном компьютере Pentium2 с использованием программы Microsoft Excel 2003.

Значения среднего кардиоинтервала нередко обозначаемое как математическое ожидание динамического ряда кардиоинтервалов, является величиной обратной средней частоте сердечных сокращений (ЧСС), подсчитываемой обычно за одну минуту времени. Величина Хср достаточно точно отражает конечный результат всех влияний регулирующих хронотропную функцию сердца. Данный показатель обладает наименьшей изменчивостью, являясь одним из наиболее хорошо гомеостатируемым параметрам организма, поэтому в наших исследованиях динамике значений Хср, и соответственно динамике ЧСС, уделялось особое внимание.

Мода является числовым значением диапазона наиболее распространенного по своей величине кардиоинтервала в популяции. Считается, что значение моды характеризует активность гуморального канала регуляции сердечного ритма и меняется, поэтому, сравнительно медленно.

Амплитуда моды является числом кардиоинтервалов значения которых соответствуют диапазону моды. Данный показатель отражает стабилизирующий эффект централизации управления сердечным ритмом. Известно, что данный эффект обусловлен влиянием симпатического отдела вегетативной нервной системы отражая его активность. Так преобладание симпатических влияний на сердечную деятельность сопровождается увеличением значения данного параметра.

Вариационный размах является числовым выражением максимальной амплитуды колебаний значений кардиоинтервалов в изучаемой популяции. Данный параметр отражает степень вариативности значений кардиоинтервалов. По мнению Баевского вариационный размах в значительной мере связан с состоянием парасимпатического отдела вегетативной нервной системы, хотя при некоторых условиях в большей степени зависит от состояния подкорковых нервных центров. Тем не менее, большинство авторов трактуют увеличение значений вариационного размаха как феномен характеризующий преобладание парасимпатического отдела вегетативной нервной системы.



* $p < 0,05$

Рис. 1. Влияние блокады альфа_{1В}-адренорецепторов хлороэтилклонидином на сердечную деятельность 20-ти недельных крыс

В ходе экспериментов мы обычно использовали популяцию в 100 кардиоинтервалов. Такое количество позволяло, с одной стороны, осуществлять достаточно достоверный анализ вариационной пульсограммы и динамики значений параметров электрокардиограммы. С другой стороны, небольшое время набора и обработки данного массива кардиоинтервалов позволяло достаточно оперативно регистрировать изменения работы сердца и реагировать на них.

Результаты и обсуждение

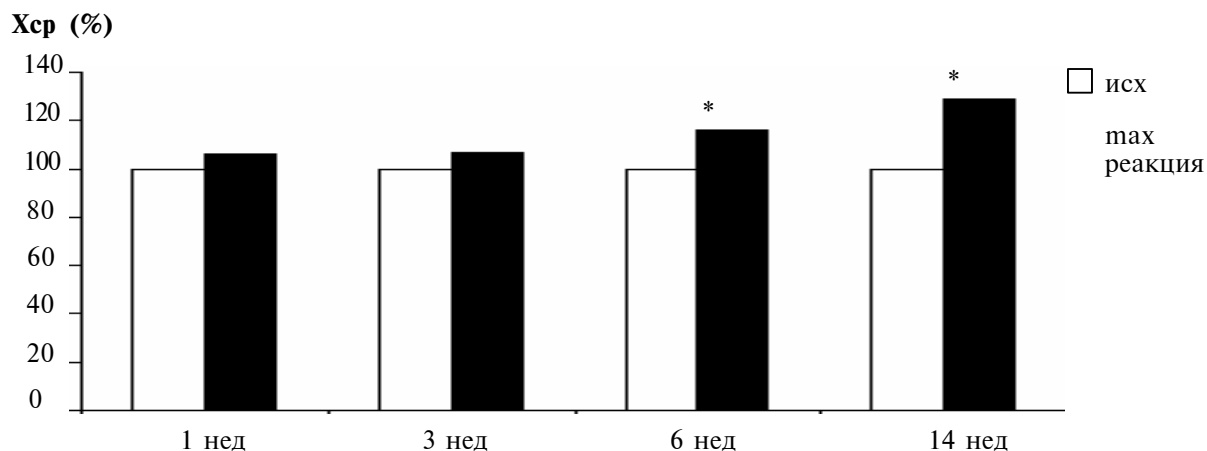
У взрослых животных блокада альфа_{1В}-адренорецепторов вызывало существенное урежение работы сердца. Через 60 сек после введения блокатора значение Хср возросло с $171 \pm 14,0$ мс до $220 \pm 13,6$ мс ($p = 0,0369$) (Рис.1). Далее частота сердечбиений уменьшалась и к 10 мин наблюдалось восстановление исходного значения среднего кардиоинтервала. Начиная с 20 минуты частота сердечбиений вновь урежалась и к 30 минуте величина Хср составляло $200 \pm 14,1$ мс ($p = 0,0529$) (Рис.1), достоверно превышая исходное значение. Данная частота сердечбиений наблюдалась до 40 мин эксперимента, а затем постепенно восстановилась до исходных значений.

Анализ динамики показателей вариабельнос-

ти сердечного ритма позволил сделать предположение о том, что блокада альфа_{1В}-адренорецепторов у взрослых крыс привела к снижению уровня симпатических регуляторных влияний. Об этом свидетельствует уменьшения значений амплитуды моды ($p = 0,0308$), увеличение значений моды ($p = 0,0269$) и вариационного размаха ($p = 0,0067$). Наиболее выраженными изменениями всех этих параметров были на 1-й и 3-й минутах эксперимента.

В серии экспериментов с селективной блокадой альфа_{1В}-адренорецепторов на 6-ти недельных животных были получены данные, свидетельствующие об отрицательном хронотропном влиянии препарата хлороэтилклонидин. Через одну минуту после инъекции значение среднего кардиоинтервала увеличивалось с $153 \pm 9,0$ мс до $177 \pm 10,9$ мс. Через 30 минут после введения величина Хср возросла до $177 \pm 5,0$ мс ($p = 0,0462$) (Рис.2). Анализ изменений значений показателей вариационной пульсограммы, выявил отсутствие их достоверных изменений после введения селективного блокатора крысам 6-ти недельного возраста.

В серии экспериментов с блокадой альфа_{1В}-адренорецепторов на 3-х недельных животных



* $p < 0,05$

Рис. 2. Влияние блокады альфа_{1В}-адренорецепторов на сердечную деятельность крыс на разных этапах постнатального онтогенеза

так же не наблюдалось существенных изменений частоты сердцебиений и показателей вариабельности сердечного ритма. При этом недостоверное увеличение Хср развивалась медленнее и к 10 минуте величина Хср возрастала с $134 \pm 3,1$ мс до $140 \pm 6,0$ мс. А максимальное урежение сердечного ритма было зафиксировано на 40 минуте, когда Хср составляло $144 \pm 7,0$ мс (Рис.2).

Внутривенное введение хлорэтилклонидина не приводило к существенному изменению значения среднего кардиоинтервала Хср у 7 суточных крыс. На 1-ой минуте наблюдений величина Хср возрастала с $131 \pm 3,7$ мс до $138 \pm 4,1$ мс. К 5 минуте наблюдений значение Хср составляла $139 \pm 3,6$ мс. (Рис.2). В дальнейшем величина Хср изменялась незначительно. Анализ изменений значений показателей вариационной пульсограммы, выявил отсутствие их достоверных изменений после введения селективного блокатора 1-но недельным крысятам.

Анализ максимальных изменений среднего кардиоинтервала у крыс 4-х возрастных групп выявил картину представленную на Рис. 2. Наиболее выраженное урежение сердечного ритма, зафиксировано у 6-ти недельных и взрослых животных. Причем увеличение Хср-го носило у 20-ти недельных животных двухфазный характер. Менее выраженное увеличение Хср наблюдалось у новорожденных крысят. У 3-х недельных животных увеличение Хср было не достоверно.

Таким образом, подводя итог исследованиям влияния блокады альфа_{1B}-адренорецепторов на сердечную деятельность крыс в разные этапы раннего постнатального онтогенеза, следует отметить наличие определенных возрастных особенностей влияния блокады альфа_{1B}-адренорецепторов на хронотропную функцию сердца. С возрастом наблюдалось увеличение выраженности брадикардии после введения хлорэтилклонидина. Достоверное урежение сердцебиений мы зафиксировали только у крысят 6-ти и 20-ти недельного возраста. На основании полученных результатов, можно сделать вывод, что альфа_{1B}-АР участвуют в регуляции ритма сердца крыс после формирования симпатической регуляции сердечной деятельности. Несомненно, формирование симпатической иннервации сердца в постнатальном онтогенезе оказывает влияние на жизнедеятельность адренорецепторов. В заключении следует отметить, что полученные результаты связаны с существованием определенных возрастных различий в экспрессии, плотности, локализации и характеристиках ионных каналов в сердце. Безусловно, именно изменение активности ионных токов является конечным эффектом вегетативной регуляции сердечной деятельности.

N.I. Ziatdinova, L.I. Khisamieva, T.L. Zefirov

Age-related peculiarities rat heart chronotropic function to the blockade of α_{1B} -adrenoreceptor

The role of the blockade of α_{1B} -adrenoreceptor (AR) in regulation of chronotropic function of the heart

was studied in vivo experiments in 1-, 3-, 6- and 20-week rats. Blockade of α_{1B} -AR with chlorethylclonidine did not affect the chronotropy the heart rate of newborn rats and 3-weeks old rats. The blockade of α_{1B} -AP slowed the heart rate of 6- and 20-week rats. Therefore, there are different chronotropic responses of the cardiac function of in 1-, 3-, 6- and 20-weeks old rats. to the blockade of α_{1B} -adrenoreceptors with chlorethylclonidine (University clinic. — 2012. — Vol.8, №2. — P.150-153).

Key words: hear, α_{1B} -adrenoreceptor, sympathetic regulation, rat, ontogenesis.

Н.І. Зятдінова, Л.І.Хисамієва, Т.Л. Зефіров

Вікові особливості реакції серця шурів на селективну блокаду альфа_{1B} - адренорецепторів

Проведені експерименти по вивченню впливу блокади альфа_{1B}-адренорецепторів (АР) на серцевий ритм шурів 1-но, 3-х, 6-ти і 20-ти тижневого віку. Блокада альфа_{1B}-АР хлоретілклонідином не надавала істотних змін на хронотропію серця новонароджених і 3-х тижневих шурів. Введення селективного блокатора альфа_{1B}-АР шурам 6-ти і 20-ти тижневого віку приводило до зменшення частоти серцевої діяльності. Таким чином, виявлені істотні вікові відмінності в реакції серця шурів різного віку на блокаду різних підтипів альфа_{1B}-АР (Університетська клініка. — 2012. — Т.8, №2. — С.150-153).

Ключові слова: серце, альфа_{1B}-адренорецептори, симпатична регуляція, шури, онтогенез.

ЛІТЕРАТУРА

1. Баевский П.М., Кириллов О.И., Клецкин С.М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. — М: Наука, 1984, 221с.
2. Западнюк И.П., Западнюк И.В., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Развитие содержания, использование в эксперименте. Учебное пособие для студентов биологических ВУЗов. -Киев.-1983.- С. 383.
3. Зефирова Т.Л. Сравнительный анализ влияния блокады α_1 и α_2 -адренорецепторов на сердечную деятельность крыс в постнатальном онтогенезе. / Зефирова Т.Л., Зятдинова Н.И., Хисамиева Л.И., Зефирова А.Л. // Бюлл. Эксп. биол. Мед., 2011 г., Том 151, № 6, с. 607-610.
4. Зятдинова Н.И., Зефирова А.Л., Ситдиқов Ф.Г., Зефирова Т.Л. Вегетативный контроль сердечной деятельности включает модуляцию каналов, активируемых при гиперполяризации in vivo // Российский физиологический ж. им. Сеченова — 2003 - № 2 (89), С. 154-160.
5. Зефирова Т.Л., Тимофеев В.И. Установка для автоматизированной обработки электрокардиограммы. «Проблемы физиологии». // - Казань. - 1992. - С. 42.
6. Jensen B.C. The alpha-1D is the predominant alpha-1-adrenergic receptor subtype in human epicardial coronary arteries. / Jensen BC, Swigart PM, Laden ME, DeMarco T, Hoopes C, Simpson PC. // J Am Coll Cardiol., 2009. Sep 22;54(13):1137-45.
7. Jensen BC. α_1 -Adrenergic receptor subtypes in nonfailing and failing human myocardium. / Jensen BC, Swigart PM, De Marco T, Hoopes C, Simpson PC. // Circ Heart Fail 2009 Nov;2(6):654-63.
8. Jensen BC, O'Connell TD, Simpson PC. Alpha-1-adrenergic receptors: targets for agonist drugs to treat heart failure. // J Mol Cell Cardiol. 2011 Oct;51(4):518-28. Epub 2010 Nov 28.
9. Shannon R, Chaudhry M. Effect of alpha1-adrenergic receptors in cardiac pathophysiology. // Am Heart J. 2006 Nov;152(5):842-50.
10. Triposkiadis F. / The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications. / Triposkiadis F, Karayannis G, Giamouzis G, Skoularigis J, Louridas G, Butler J. // J Am Coll Cardiol 2009 Nov 3;54(19):1747-62.
11. Wright CD. Nuclear alpha1-adrenergic receptors signal activated ERK localization to caveolae in adult cardiac myocytes. / Wright CD, Chen Q, Baye NL, Huang Y, Healy CL, Kasinathan S, et al. // Circ Res 2008 Oct 24;103(9):992-1000.

Надійшла до редакції: 26.10.2012