

*Н.И. Зиятдинова, Л.И. Фасхутдинов, Т.Л. Зефиров*

## **ВЛИЯНИЕ БЛОКАДЫ $\alpha_{1D}$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ХРОНОТРОПИЮ СЕРДЦА КРЫС РАЗНОГО ВОЗРАСТА**

*Казанский (Приволжский) федеральный университет, Россия*

**Реферат.** Проведены исследования *in vivo* по изучению влияния  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов (AP) на сердечный ритм крыс 1, 3, 6 и 20 недельного возраста. Блокада IAD-AP BMY 7378 приводила к урежению ритма сердца крыс всех возрастных групп. Однако брадикардия взрослых крыс была наиболее выраженной. Таким образом, выявлена существенная роль  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов в регуляции ритма сердца крыс, как новорожденного периода, так и взрослого.

**Ключевые слова:** сердце,  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторы, симпатическая регуляция, крыса, онтогенез

Адренергическая регуляция вегетативных функций осуществляется через несколько типов адренорецепторов:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{1D}$ ,  $\alpha_{2A}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$ . Известно, что в сердце катехоламиновые амины активируют два типа миокардиальных адренергических рецепторов (AP), альфа-1-AP ( $\alpha_1$ -AP) и бета-AP ( $\beta$ -AP). Более всего в сердце представлены  $\beta_1$ -AP.  $\beta_2$ - и  $\alpha_1$ -AP присутствуют в сердце в меньшем количестве, но играют значительную функциональную роль. Все адренорецепторы являются метаботропными и связаны с G-протеинами:  $\beta$ -AP активируют преимущественно Gs,  $\alpha_1$ -AP - Gq,  $\beta_2$  - Gi [10].

Роль  $\beta$ -AP в регуляции сердечного ритма, сократимости миокарда и патологических процессов изучена довольно хорошо [3, 7, 11, 15];  $\alpha_1$ -AP в сердце являются предметом менее интенсивного исследования. Выделяют три подтипа  $\alpha_1$ -AP:  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ , и  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторы [13]. Все три подтипа активируются адреналином и норадреналином и блокируются празозином [4]. Все  $\alpha_1$ -AP в паре с Gq-белком активируют фосфолипазу С $\beta$ 1, что сопровождается увеличением диацилглицерола и активацией протеинкиназы С. Известно, что 1-AP присутствуют в сердце и схожи у различных видов животных, за исключением крысы [10]. Показано, что  $\alpha_{1A}$  и  $\alpha_{1B}$  подтипы в сердце миоцитов расположены главным образом на ядерной мемbrane, а не на сарколемме [14]. В самом сердце  $\alpha_{1A}$  и  $\alpha_{1B}$  подтипы наиболее плотно представлены в миокарде, тогда как  $\alpha_{1D}$ -подтип имеет преобладающее и функциональное значение в эпикардиальных коронарных артериях и в клетках гладких мышц [8, 9, 10]. Возможно, что  $\alpha_1$ -AP сердца контролируют многочисленные адаптивные процессы, включая позитивную инотропию, транскрипцию генов, белковый синтез, метаболизм глюкозы и ингибирование клеточной смерти [12]. *In vitro* и *in vivo* предположено, что  $\alpha_{1A}$  и  $\alpha_{1B}$  подтипы в кардиомиоцитах крысы могут иметь различную регуляцию при хронической стимуляции [10]. Таким образом, вопрос о роли  $\alpha_{1D}$ -AP в регуляции работы сердца остается открытым, и особенно интересным является вопрос о роли данного подтипа  $\alpha_1$ -AP в развитии механизмов регуляции ритма сердца в постнатальном онтогенезе.

Целью наших исследований было проведение сравнительного анализа влияния блокады  $\alpha_{1D}$ -подтипа адренорецепторов у крыс разного возраста.

### Материалы и методы

В качестве объекта исследования в эксперименте использовались белые беспородные крысы в возрасте от 1 до 20 недель. Всего в работе представлены данные, полученные при исследовании 31 животного. Крысы 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 крысях в возрасте 1, 3, 6 и 20 недель. Использование в экспериментах и самок, и самцов было основано на данных, свидетельствующих об отсутствии 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 недельный возраст – период молочного кормления; 4-5 недельные животные являются неполовозрелыми; 6- 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 (Urethane, Sigma), вводимый внутрибрюшинно 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. Селективный блокатор (Сигма) 1D-AP BMY 7378 вводили в дозе 1 мг/кг. Введение препаратов осуществлялось при помощи инсулиновых

шприцев, позволяющих производить достаточно точную дозировку вводимых веществ.

Метод регистрации кардиоинтервалов и реограммы при помощи электрокардиографа ЭК 1Т- 03М (Россия)

На протяжении всех экспериментов у крыс регистрировалась электрокардиограмма. Стальные игольчатые электроды в количестве семи штук 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 поступали в осциллограф С1-83 (Россия), а затем на компьютер, где осуществлялась программная обработка.

Метод математического анализа кардиоинтервалов

Мы использовали метод математического анализа кардиоинтервалов, в основе которого лежат известные разработки математического анализа сердечного ритма, выполненные под руководством Р.М. Баевского и позволяющие оценивать функциональное состояние различных систем регуляции сердечной деятельности [6].

Усредненные значения параметров сердечной деятельности крыс регистрировались оригинальной программой, разработанной на базе программы Р.М. Баевского и дающей 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 ( $X_{ср.}$ ), моды ( $Mo$ ), амплитуды моды ( $AMo$ ), вариационного размаха ( $\Delta X$ ), среднего квадратического отклонения (сигма). Статистическая обработка результатов серий экспериментов проводилась на персональном компьютере Pentium2 с использованием программы Microsoft Excel 2003.

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

Среднее квадратическое отклонение значения динамического ряда кардиоинтервалов является одним из основных показателей вариабельности ритма сердечных сокращений. Предполагается, что динамика значений данного параметра отражает суммарный эффект влияния симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы на синусно-предсердный узел проводящей системы сердца, характеризуя, та-

ким образом, состояние важнейших механизмов регуляции. Предполагается, что увеличение или уменьшение среднего квадратического отклонения свидетельствует о смещении вегетативного гомеостаза в сторону преобладания одного из отделов вегетативной нервной системы.

Мода является числовым значением диапазона наиболее распространенного по своей величине кардиоинтервала в популяции. В стационарных процессах значение моды может совпадать с значением  $X_{ср.}$ , однако в реальных экспериментах, проводимых на лабораторных животных, подобное явление практически исключено. Считается, что значение моды характеризует активность гуморального канала регуляции сердечного ритма и поэтому меняется сравнительно медленно.

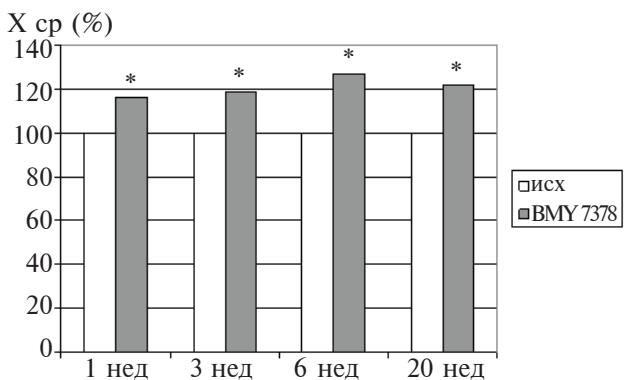
Амплитуда моды является числом кардиоинтервалов, значения которых соответствуют диапазону моды. Данный показатель отражает стабилизирующий эффект централизации управления сердечным ритмом. Известно, что данный эффект обусловлен влиянием симпатического отдела вегетативной нервной системы, отражая его 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 трактует увеличение значений вариационного размаха как феномен, характеризующий преобладание парасимпатического отдела вегетативной нервной системы.

В ходе экспериментов мы обычно использовали популяции 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.

#### Р е з у ль т а т ы и о б с у ж д е н и е

Внутривенное болюсное введение селективного блокатора  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов взрослым крысам приводило к снижению у них частоты сердечных сокращений. На первой минуте эксперимента нами было зафиксировано увеличение значения среднего кардиоинтервала с  $185 \pm 9,6$  мс до  $197,3 \pm 15,6$  мс. Наиболее выраженной брадикардии была через 5 минут после введения препарата. При этом значение  $X_{ср.}$  составило  $226,3 \pm 13,2$  мс, что достоверно ( $p=0,03$ ) превысило исходную величину среднего кардиоинтервала (Рис.). В дальнейшем выраженность урежения сердечного ритма снижалась. Через 15 минут после введения ВМY 7378 длительность  $X_{ср.}$  равнялась  $213,8 \pm 18,5$  мс, а через 30 минут она составила  $205,6 \pm 14,5$  мс.



**Рисунок.** Влияние блокады 1D-адренорецепторов на сердечную деятельность крыс на разных этапах постнатального онтогенеза. Примечание: \* -  $p < 0,05$ .

	1 нед	3 нед	6 нед	20 нед
исх	100	100	100	100
BMY 7378	116	119	127	122

Анализ динамики показателей вариабельности сердечного ритма позволил сделать предположение о том, что блокада  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов у взрослых крыс приводит к снижению уровня симпатических регуляторных влияний. Об этом свидетельствует уменьшение значений амплитуды моды, индекса вегетативного равновесия, вегетативного показателя ритма и показателя адекватности процессов регуляции. Наиболее выраженными изменениями всех этих параметров были на 5-й минуте эксперимента. Следует отметить, что в этот промежуток времени наблюдалось достоверное увеличение значения моды ( $p=0,03$ ). В то же время увеличение вариационного размаха, отражающего, как известно, активность парасимпатического канала регуляции сердечной деятельности, на всем протяжении эксперимента было недостоверным.

У 6 недельных крыс селективная блокада  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов, как и у взрослых животных, приводила к урежению работы сердца. Однако временное развитие брадикардии носило совершенно иной характер. Через одну минуту после введения BMY 7378 наблюдалось незначительное увеличение величины среднего кардиоинтервала. Его длительность возросла с  $155,2 \pm 7,3$  мс до  $168,2 \pm 5,7$  мс. Через 5 минут после инъекции значение  $X_{ср}$  увеличилось до  $180 \pm 9,4$  мс, однако это увеличение было недостоверным. Только через 15 минут, когда значение  $X_{ср}$  составило  $191,8 \pm 9,6$  мс, оно достоверно превысило исходную величину данного показателя ( $p=0,03$ ). В дальнейшем брадикардия продолжала развиваться, и через 30 минут величина среднего кардиоинтервала составила  $196,7 \pm 12$  мс,  $p=0,03$  (Рис.). При анализе динамики показателей вариабельности сердечного ритма мы также обнаружили серьезные отличия от результатов экспериментов на взрослых животных. В наибольшей степени изменились значения вариационного размаха, отражающего активность парасимпатического канала регуляции работы сердца. Следует отметить, что значения данного показателя достоверно превышали исходные значения на всем протяжении эксперимента, начиная с 1-й минуты после введения препарата. Увеличение моды приобрело достоверный характер

лишь через 15 минут после начала эксперимента. Динамика прочих исследуемых нами параметров вариационной пульсограммы, за исключением сигмы, была недостоверной. Таким образом, можно констатировать, что процесс развития урежения сердечных сокращений у 6 недельных животных существенно отличается от такового у взрослых крыс и связан с модуляцией активности различных каналов вегетативной регуляции сердца.

Введение селективного блокатора  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов BMY 7378 трех недельным крысятам вызывало наименее выраженную брадикардию, по сравнению с другими изученными нами возрастными группами животных. На первой минуте эксперимента величина среднего кардиоинтервала возросла с  $125,5 \pm 4,2$  мс до  $129,3 \pm 0,89$  мс. В дальнейшем увеличение значения  $X_{ср}$  развивалось плавно. Через 5 минут его длительность составила  $131,5 \pm 2,9$  мс, а через 15 минут -  $138 \pm 5,8$  мс, однако достоверное ( $p=0,05$ ) увеличение длительности  $X_{ср}$  до  $149 \pm 4,9$  мс мы зафиксировали лишь на 30-й минуте эксперимента (Рис.). Динамика параметров вариационной пульсограммы имела существенные отличия от динамики, наблюдавшейся у животных 6 и 20 недельного возраста. На фоне отсутствия достоверных изменений частоты сердечных сокращений уже на первой минуте эксперимента наблюдались достоверные изменения показателей вариабельности сердечного ритма. Причем, в данной возрастной группе животных мы зафиксировали и достоверное увеличение значения вариационного размаха ( $p=0,032$ ), и существенное снижение величины амплитуды моды ( $p=0,01$ ). Следует отметить, что, в отличие от других параметров, увеличение моды становилось достоверным лишь к 30 минуте наблюдений ( $p=0,043$ ). В это же время наблюдалось максимальное уменьшение величины амплитуды моды ( $p=0,007$ ), индекса вегетативного равновесия и индекса напряжения. Полученные результаты позволяют утверждать, что в 3 недельном возрасте на фоне максимальной частоты сердечных сокращений механизмы адренергической регуляции работы сердца существенно отличаются от механизмов, действующих на других этапах постнатального онтогенеза.

Селективная блокада  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов BMY 7378 приводила к урежению работы сердца и у новорожденных крысят. Картина развития брадикардии во времени при этом напоминала таковую у животных 3 и 6 недельного возраста, то есть наблюдалось плавное, постепенное увеличение значения среднего кардиоинтервала. Интересно, что на первой минуте наблюдений величина  $X_{ср}$  практически не менялась. Исходное значение этого показателя в данной возрастной группе животных равнялось  $155,2 \pm 4,1$  мс. Через минуту оно составило  $156,5 \pm 4,7$  мс. В дальнейшем развитие брадикардии становилось более интенсивным. Через 5 минут после инъекции BMY 7378 величина  $X_{ср}$  составила  $164,5 \pm 5,8$  мс. Достоверным увеличение  $X_{ср}$  стало через 15 минут после начала эксперимента, достигнув значения  $174,7 \pm 6,6$  мс ( $p=0,03$ ). Далее урежение сердцебиений продолжало нарастать, и через 30 минут длительность среднего кардиоинтервала составила  $180,7 \pm 7,9$  мс (Рис.).

Таким образом, селективная блокада  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторов BMY 7378 приводила к достоверному урежению сердечной деятельности крыс всех исследованных возрастных групп, даже у новорожденных животных, в условиях отсутствия у них симпатической иннервации сердца.

Таким образом, на основании полученных результатов следует отметить, что разные подтипы  $\alpha_1$ -адренорецепторов имеют противоположное функциональное значение при развитии механизмов регуляции сердечной деятельности. Ранее нами были показаны возрастные особенности реакции сердечной деятельности на блокаду  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов препаратом WB 4101, а именно: учащение работы сердца на селективную блокаду  $\alpha_{1A}$ -адренорецепторов новорожденных животных [5]. Считается, что  $\alpha_{1D}$ -подтип имеет преобладающее функциональное значение и в эпикардиальных коронарных артериях, и в клетках гладких мышц. Полученные нами результаты свидетельствуют о том, что  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторы имеют серьезное функциональное значение для адренергической регуляции ритма сердца на всех этапах постнатального онтогенеза крыс, хотя в литературе функциональная роль этого подтипа в сердце является спорной [8, 10].

N.I. Ziyatdinova, L.I. Faskhutdinov, T.L. Zefirov

### Influence of $\alpha_{1D}$ -adrenoreceptors Blockade on Heart Chronotropia of the Rats of Different Age

The researches *in vivo* on studying of  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptors influence on a heart rhythm of rats 1, 3, 6 and 20 week age are carried out. Blockade of  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptors BMY 7378 led to an decrease of a heart rhythm of rats of all age groups. However bradycardia of adult rats was the most expressed. Thus, the essential role of  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptors in regulation of a heart rhythm of rats, both the newborn period, and the adult is revealed. (Neuroscience: Theor. Clin. Asp. — 2012. — Vol. 8, № 2. — P.32-35).

**Key words:** heart,  $\alpha_{1D}$ -adrenoceptors, sympathetic regulation, rat, ontogenesis

Н.І. Зіятдинова, Л.І. Фасхутдинов, Т.Л. Зефіров

### Вплив блокади $\alpha_{1D}$ -адренорецепторів на хронотропію серця пацюків різного віку

Проведено дослідження *in vivo* по вивченю впливу  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторів на серцевий ритм пацюків 1, 3, 6 і 20 тижневого віку. Блокада  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторів BMY 7378 приводила до зниження ритму серця пацюків усіх вікових груп. Однак брадикардія дорослих пацюків була найбільш вираженою. Таким чином, виявлено

істотна роль  $\alpha_{1D}$ -адренорецепторів у регуляції ритму серця пацюків, як періоду немовлят, так і дорослого. (Нейронауки: теор. клін. асп.— 2012. — Т. 8, № 2. — С.32-35.)

**Ключові слова:** серце,  $\alpha_{1D}$ -адренорецептори, симпатична регуляція, пацюк, онтогенез

### ЛІТЕРАТУРА:

1. Баевский Р.М. Математический анализ изменений сердечного ритма при стрессе. Р.М. Баевский, О.И.Кириллов, С.М.Клецкин — М: Наука, 1984, 221 с.
2. Западнюк И.П. Лабораторные животные. Развитие содержания, использование в эксперименте: учебное пособие для студентов биологических ВУЗов/ И.П. Западнюк, И.В. Западнюк, Б.В. Западнюк. — Киев,1983. — 383с.
3. Блокады каналов, активируемых гиперполяризацией, изменяет эффект стимуляции бета-адренорецепторов / Т.Л. Зефиров, Н.И. Зиятдинова, А.А. Гайнуллин и др. // Бюлл. эксп. биол. и мед. — 2002. — №5. — С. 492-495.
4. Сравнительный анализ влияния блокады а1- и а2-адренорецепторов на сердечную деятельность крыс в постнатальном онтогенезе / Т.Л. Зефиров, Н.И. Зиятдинова, Л.И. Хисамиева и др. // Бюлл. Эксп.и биол. Мед. — 2011. — Т. 151, № 6. — С. 607-610.
5. Зиятдинова Н.И. Селективная блокада а1А-адренорецепторов вызывает противоположные изменения хронотропии сердца крыс разного возраста / Н.И. Зиятдинова, А.Л. Зефиров, Т.Л. Зефиров // Бюлл. Эксп.и биол. Мед. — 2011. — Т. 151, № 7. — С. 22-25.
6. Зефиров Т.Л. Установка для автоматизированной обработки электрокардиограммы / Т.Л. Зефиров, В.И. Тимофеев // Проблемы физиологии. — Казань, 1992. — 42с.
7. Therapeutic efficacy of a combination of a betal-adrenoreceptor (AR) blocker and beta2-AR agonist in a rat model of postmyocardial infarction dilated heart failure exceeds that of a beta1-AR blocker plus angiotensin-converting enzyme inhibitor / I. Ahmet, C. Morrell, E.G. Lakatta et al. // J. Pharmacol. Exp. Ther. — 2009. — Vol.33, №1. — P.178-185.
8. The alpha-1D is the predominant alpha-1-adrenergic receptor subtype in human epicardial coronary arteries / B.C. Jensen, P.M. Swigart, M.E. Laden et al. // J. Am. Coll. Cardiol. — 2009. — Vol.54, №13. — P.1137-1145.
9. *{Alpha1-Adrenergic receptor subtypes in nonfailing and failing human myocardium. / B.C. Jensen, P.M. Swigart, T. De Marco et al. // Circ. Heart Fail. — 2009. — Vol.2, №6. — P.654-653.}*
10. *Jensen B.C. Alpha-1-adrenergic receptors: targets for agonist drugs to treat heart failure B.C. Jensen, T.D. O'Connell, P.C. Simpson // J. Mol. Cell Cardiol. — 2011. — Vol.51, №4. — P.518-528.*
11. *The sympathetic nervous system in heart failure physiology, pathophysiology, and clinical implications / F. Triposkiadis, G. Karayannidis, G. Giamouzis et al. // Am. Coll. Cardiol. — 2009. — Vol.54, №19. — P.1747-1762.*
12. *Simpson P. Lessons from knockouts: the alpha1-ARs / Perez DM, editor.// The Adrenergic Receptors in the 21st Century / P. Simpson // Totowa, New Jersey: Humana Press, 2006. — P. 207-240.*
13. *Shannon R. Effect of alpha1-adrenergic receptors in cardiac pathophysiology/ R.Shannon, M.Chaudhry // Am. Heart J. 2006. — Vol.152, №5, — P.842-850.*
14. *Nuclear alpha1-adrenergic receptors signal activated ERK localization to caveolae in adult cardiac myocytes/ C.D. Wright, Q. Chen, N.L. Baye et al. // Circ. Res. — 2008. — Vol.103, №9. — P. 992-1000.*
15. *Beta(2)-Adrenergic stimulation attenuates left ventricular remodeling, decreases apoptosis, and improves calcium homeostasis in a rodent model of ischemic cardiomyopathy/ S. Xydas, A.R. Kherani, J.S. Chang et al. // J. Pharmacol. Exp.Ther. — 2006. — Vol. 317, №2. — P.553-561.*

Надійшла до редакції: 07.10.2011 р.