

# БЮЛЛЕТЕНЬ ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ И МЕДИЦИНЫ

2023 Том 175 № 5

МАЙ

## СОДЕРЖАНИЕ

### Обзоры

#### Моделирование острого перитонита

*Андреев А.А., Глухов А.А., Остроушко А.П., Боев С.Н., Аралова М.В.,  
Лаптийёва А.Ю., Григорьева Е.В., Коновалов П.А., Михайлов Н.О.* ..... 532

### Физиология

#### Активность протеолитического фермента трипсина в сыворотке крови у крыс в условиях водной и пищевой депривации

*Кузьмина И.В., Овчинникова Н.В., Толтыго С.М.* ..... 540

### Общая патология и патологическая физиология

#### Блокада $\alpha_{2C}$ -адренорецепторов ингибирует работу изолированного по Лангендорфу сердца крысы

*Зефиоров Т.Л., Хисамиева Л.И., Хабибрахманов И.И.,  
Зиятдинова Н.И., Зефиоров А.Л.* ..... 545

#### Применение микроинкапсулированных аутологичных тромбов для моделирования хронической тромбоэмболической лёгочной гипертензии у крыс

*Карпов А.А., Михайлова А.М., Черепанов Д.Е., Чефу С.Г.,  
Шиленко Л.А., Ваулина Д.Д., Буцких М.Г., Черваев Х.А.,  
Сидорова Е.Е., Ивкин Д.Ю., Галагудза М.М.* ..... 549

#### Модифицированный ишемией альбумин и антиоксидантная защита у новорождённых с асфиксией разной степени тяжести

*Дельсуз С.Ф., Шалина Р.И., Караганова Е.Я., Курцер М.А.,  
Бабенкова И.В., Теселкин Ю.О., Осипов А.Н., Владимиров Ю.А.* ..... 554

#### Особенности функционального фенотипа альвеолярных макрофагов у крыс с метаболическим синдромом

*Воронкова О.В., Бирулина Ю.Г., Есимова И.Е., Хасанова Р.Р.,  
Иванов В.В., Буйко Е.Е., Чернышов Н.А., Мотлохова Е.А.* ..... 559

#### Ассоциации жирно-кислотного профиля с абдоминальным ожирением у мужчин

*Шрамко В.С., Щербакоева Л.В., Капитанова Е.В.,  
Стахнёва Е.М., Полоцкая Я.В., Рагино Ю.И.* ..... 563

## ОБЩАЯ ПАТОЛОГИЯ И ПАТОЛОГИЧЕСКАЯ ФИЗИОЛОГИЯ

### БЛОКАДА $\alpha_{2C}$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ ИНГИБИРУЕТ РАБОТУ ИЗОЛИРОВАННОГО ПО ЛАНГЕНДОРФУ СЕРДЦА КРЫСЫ

Т.Л.Зефирова<sup>1</sup>, Л.И.Хисамиева<sup>1</sup>, И.И.Хабибрахманов<sup>1</sup>,  
Н.И.Зиятдинова<sup>1</sup>, А.Л.Зефирова<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Кафедра охраны здоровья человека (зав. — д-р мед. наук, проф. Т.Л.Зефирова) ФГАОУ ВО Казанского (Приволжского) федерального университета, Казань, Республика Татарстан, РФ; <sup>2</sup>Кафедра нормальной физиологии (зав. — д-р мед. наук, проф. М.А.Мухамедьяров) ФГБОУ ВО Казанского государственного медицинского университета, Казань, Республика Татарстан, РФ

Изучали влияние селективного антагониста  $\alpha_{2C}$ -адренорецепторов JP-1302 в концентрациях  $10^{-9}$ - $10^{-6}$  М на инотропию, хронотропию и коронарный поток изолированного по Лангендорфу сердца крыс. Сила сокращения миокарда левого желудочка, ЧСС и коронарный поток уменьшались после применения всех исследуемых концентраций антагониста. Максимальный инотропный, хронотропный и сосудистый эффект наблюдался при аппликации антагониста в перфузируемый раствор в концентрации  $10^{-7}$  М. Наименее выраженное уменьшение значений исследуемых параметров наблюдалось при использовании JP-1302 в концентрациях  $10^{-8}$  и  $10^{-9}$  М. Полученные данные свидетельствуют об участии данного подтипа  $\alpha_2$ -адренорецепторов в регуляции деятельности изолированного сердца взрослых крыс.

**Ключевые слова:** сердце;  $\alpha_{2C}$ -адренорецептор; миокард; JP-1302; крыса

В настоящее время различают девять подтипов адренорецепторов (АР) —  $\alpha_{1A}$ ,  $\alpha_{1B}$ ,  $\alpha_{1D}$ ,  $\alpha_{2A/D}$ ,  $\alpha_{2B}$ ,  $\alpha_{2C}$ ,  $\beta_1$ ,  $\beta_2$  и  $\beta_3$  [1]. Показано участие  $\alpha_2$ -АР в различных физиологических функциях, в частности, в регуляции сердечно-сосудистой системы, а также в деятельности ЦНС [2].

Все три подтипа  $\alpha_2$ -АР были обнаружены методом иммуноблоттинга в сердечной ткани крыс, а именно в правом предсердии и левом желудочке. Уровень мРНК трёх подтипов  $\alpha_2$ -АР, обнаруженных в правом предсердии и левом желудочке, существенно не различается [3]. Экспрессия  $\alpha_2$ -АР максимальна в сердечной ткани плода крыс, хотя с увеличением гестационного возраста она уменьшается. Методом непрямой иммунофлюоресцентной микроскопии с подтип-

специфическими антителами и вестерн-блоттинга было показано наличие в популяции фетальных кардиомиоцитов  $\alpha_{2A/D}$ -АР и  $\alpha_{2C}$ -АР [4]. В человеческом сердце с помощью ПЦР были обнаружены мРНК всех трёх подтипов  $\alpha_2$ -АР [5].

Ранее считалось, что  $\alpha_2$ -АР в сердце млекопитающих только модулируют регуляторные влияния, располагаясь пресинаптически и регулируя высвобождение норадреналина. В настоящее время известно, что  $\alpha_2$ -АР присутствуют в гладких мышцах сосудов, на пресинаптических мембранах адренергических волокон и на постсинаптических мембранах кардиомиоцитов [6-8]. Вопрос о наличии и функциональном значении  $\alpha_2$ -АР в сердце человека и животных остаётся предметом активных исследований [1,8,9]. Дальнейшие исследования роли разных подтипов  $\alpha_2$ -АР помогут уточнить их функциональное значение в регуляции сердца.



Целью данной работы являлось изучение влияния селективной блокады  $\alpha_{2C}$ -АР (JP-1302) на показатели работы изолированного сердца крыс.

## МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование выполнено в соответствии с принципами Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментов или в иных научных целях (Страсбург, 1986 г.), и рекомендациями локального биоэтического комитета КФУ (Протокол № 39 от 22.12.22 г.). Эксперименты проводили на препаратах сердца белых беспородных 20-недельных ( $n=32$ ) крыс обоих полов.

В исследовании на изолированном по Лангендорфу сердце использовали раствор Кребса—Хензеляйта для теплокровных животных. Растворы насыщали карбогеном (95%  $O_2$ , 5%  $CO_2$ ), pH растворов поддерживали на уровне 7.3–7.4 при 37°C. Блокатор  $\alpha_{2C}$ -АР JP-1302 (Tocris) применяли в концентрациях  $10^{-9}$ ,  $10^{-8}$ ,  $10^{-7}$ ,  $10^{-6}$  М. Данные концентрации блокатора выбраны исходя из данных литературы и результатов проведённых нами ранее исследований [10,11].

Крыс анестезировали 25% раствором уретана (800 мг/кг массы) и вскрывали грудную клетку. Сердце изолировали и промывали ледяным рабочим раствором Кребса—Хензеляйта (2°C). Изолированное сердце фиксировали за аорту на канюле и подавали оксигенированный рабочий раствор на установке Лангендорфа (ADInstruments) при 37°C. Осуществлялась гравитационная ретроградная перфузия под постоянным гидростатическим давлением 60–65 мм рт. ст. Для измерения давления в полость левого желудочка (ЛЖ) через отверстие, сделанное за левым ушком, помещали латексный баллончик, заполненный дистиллированной водой. Изменение давления внутри ЛЖ регистрировали с помощью датчика давления ML T844 (ADInstruments). По кривой подсчитывали ЧСС (уд/мин), давление, развиваемое ЛЖ (ДРЛЖ, мм рт. ст.) и коронарный поток (КП, мл/мин). Запись регистрировали на установке PowerLab 8/35 (ADInstruments) с помощью программы LabChart Pro (ADInstruments). Перфузию раствором JP-1302 проводили в течение 20 мин.

Статистический анализ полученных на изолированном сердце результатов проводили в программе LabChart Pro 8. Данные представлены в виде среднего значения ( $M$ ) ± стандартная ошибка среднего ( $SEM$ );  $n$  — количество неза-

висимых экспериментов. В каждой серии экспериментов с определённой концентрацией блокатора было 8 животных, общее количество опытных животных составило 32. Достоверность различий оценивали с использованием однофакторного дисперсионного анализа (ANOVA) с последующим применением апостериорных тестов (тест Тьюки) для связанных групп и внесением поправок на множественность сравнений, также использовали парный и непарный  $t$  критерий Стьюдента. Различия считали статистически значимыми при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Перфузия изолированного сердца 20-недельных крыс блокатором  $\alpha_{2C}$ -АР в концентрации  $10^{-9}$  М уменьшала ДРЛЖ с  $88.63 \pm 5.1$  до  $81.33 \pm 3.9$  мм рт. ст. ( $p < 0.05$ ) на 10-й минуте эксперимента. Максимальное уменьшение ДРЛЖ с  $88.63 \pm 5.1$  до  $75.30 \pm 4.09$  мм рт. ст. наблюдалось к 19-й минуте и составило  $13.72 \pm 6.08\%$  от исходного значения ( $p < 0.05$ ; рис. 1). Блокада  $\alpha_{2C}$ -АР также снижала ЧСС с  $247.06 \pm 8.98$  до  $237.86 \pm 7.94$  уд/мин ( $p < 0.01$ ) к 12-й минуте. Максимальное снижение ЧСС на  $6.61 \pm 2.34\%$  ( $p < 0.01$ ; рис. 2) наблюдалось на 16-й минуте — до  $230.13 \pm 7.73$  уд/мин ( $p < 0.05$ ). КП изолированного сердца крыс на фоне блокады снижался с  $11.68 \pm 0.58$  до  $10.68 \pm 0.45$  мл/мин ( $p < 0.05$ ) к 16-й минуте эксперимента — на  $7.97 \pm 3.15\%$  от исходного значения ( $p < 0.05$ , рис. 3). В дальнейшем КП не изменялся.

При добавлении блокатора JP-1302 в концентрации  $10^{-8}$  М наблюдали уменьшение силы сокращения ЛЖ с  $83.99 \pm 6.09$  до  $78.42 \pm 4.99$  мм рт. ст., что соответствует  $5.96 \pm 2.74\%$  ( $p < 0.05$ ; рис. 1). У части животных ( $n=4$ ) блокада приводила к брадикардии, у другой части ( $n=4$ ) — к тахикардии. Через 10 мин после введения блокатора наблюдалась брадикардия, ЧСС снижалась с  $217.45 \pm 12.22$  до  $210.04 \pm 10.54$  уд/мин ( $p < 0.05$ ). Максимальное снижение ЧСС до  $204.24 \pm 9.11$  уд/мин ( $5.86 \pm 1.62\%$ ) наблюдали на 19-й минуте эксперимента ( $p < 0.01$ ; рис. 2). Увеличение ЧСС с  $229.12 \pm 27.56$  до  $241.44 \pm 27.68$  уд/мин (на  $5.54 \pm 1.97\%$ ,  $p < 0.05$ ; рис. 2) фиксировали на 18-й минуте наблюдения. КП при перфузии блокатором уменьшался с  $9.25 \pm 1.02$  до  $7.85 \pm 0.9$  мл/мин ( $p < 0.01$ ) к 17-й минуте — на  $14.05 \pm 4.81\%$  от исходного значения ( $p < 0.01$ ; рис. 3).

Добавление JP-1302 в концентрации  $10^{-7}$  М уменьшало ДРЛЖ с  $71.42 \pm 10.55$  до  $55.67 \pm 6.76$  мм рт. ст. ( $p < 0.05$ ) к 15-й минуте эксперимента. На 20-й минуте блокада  $\alpha_{2C}$ -АР приводила к мак-



симальному уменьшению ДРЛЖ до  $54.43 \pm 7.06$  мм рт. ст. ( $p < 0.05$ ), что составило  $21.07 \pm 5.68\%$

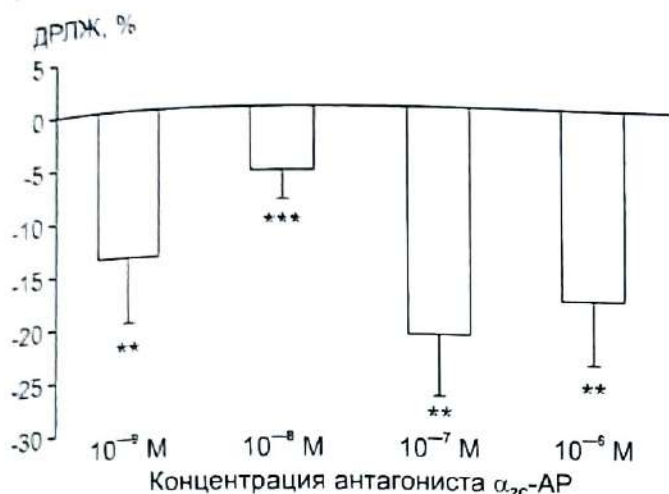


рис. 1. Влияние антагониста  $\alpha_{2c}$ -АР (JP-1302) на ДРЛЖ сердца 20-недельных крыс.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  по сравнению с исходным значением.

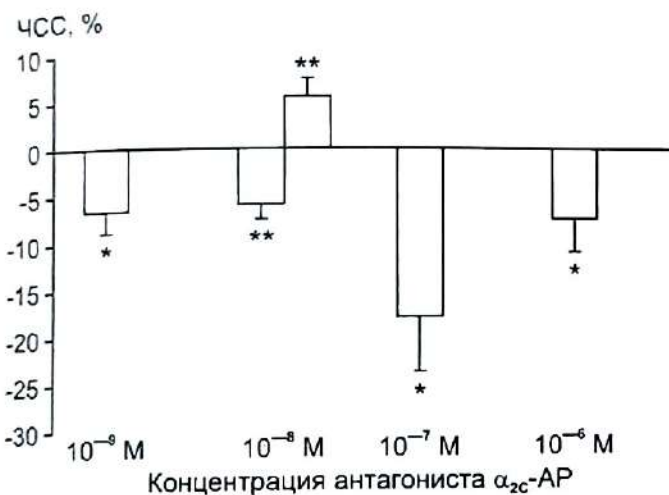


рис. 2. Влияние антагониста  $\alpha_{2c}$ -АР (JP-1302) на ЧСС 20-недельных крыс.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  по сравнению с исходным значением.

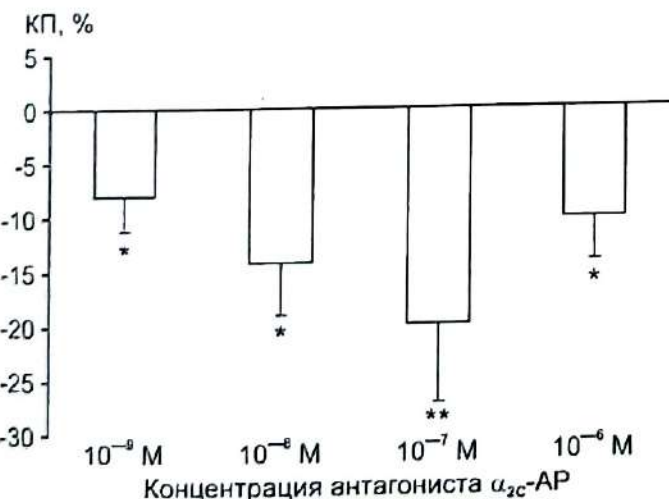


рис. 3. Влияние антагониста  $\alpha_{2c}$ -АР (JP-1302) на КП сердца 20-недельных крыс.

\* $p < 0.05$ , \*\* $p < 0.01$  по сравнению с исходным значением.

от исходного значения ( $p < 0.01$ ; рис. 1). Максимальный хронотропный эффект при перфузии JP-1302 наблюдался на 20-й минуте. ЧСС уменьшалась с  $227.98 \pm 7.58$  до  $185.47 \pm 9.64$  уд/мин ( $p < 0.01$ ) — на  $17.91 \pm 5.85\%$  ( $p < 0.01$ ; рис. 2). К 19-й минуте эксперимента КП при добавлении блокатора уменьшался с  $7.93 \pm 1.17$  до  $6.25 \pm 1.04$  мл/мин ( $p < 0.05$ ) — на  $19.82 \pm 7.28\%$  от исходного значения ( $p < 0.05$ ; рис. 3).

Перфузия изолированного сердца половозрелых крыс блокатором  $\alpha_{2c}$ -АР в концентрации  $10^{-6}$  M уменьшала ДРЛЖ с  $96.96 \pm 8.86$  до  $81.83 \pm 10.88$  мм рт. ст. ( $p < 0.01$ ) на 15-й минуте эксперимента — на  $17.71 \pm 5.96\%$  ( $p < 0.01$ ; рис. 1). К 11-й минуте блокада снижала ЧСС с  $237.9 \pm 14.67$  до  $227.98 \pm 15.17$  уд/мин ( $p < 0.05$ ). Максимальное снижение ЧСС до  $220.56 \pm 16.62$  уд/мин наблюдалось на 18-й минуте —  $7.47 \pm 3.47\%$  ( $p < 0.05$ ; рис. 2). Блокада снижала КП изолированного сердца крыс с  $8.35 \pm 0.98$  до  $7.42 \pm 0.85$  мл/мин ( $p < 0.05$ ) — на  $10.16 \pm 3.93\%$  ( $p < 0.05$ ; рис. 3).

Таким образом, блокада  $\alpha_{2c}$ -АР в концентрациях  $10^{-9}$ - $10^{-6}$  M влияет на инотропию, хронотропию и КП изолированного сердца взрослых крыс. Сила сокращения миокарда ЛЖ, ЧСС и КП уменьшались после применения всех исследуемых концентраций антагониста  $\alpha_{2c}$ -АР (JP-1302). Однако его использование в концентрации  $10^{-8}$  M приводило как к брадикардии, так и к тахикардии. В ранее проведенных нами исследованиях *in vivo* показано, что внутривенное введение антагониста  $\alpha_{2c}$ -АР приводит к учащению сердечных сокращений животных 20-недельного возраста [11]. В экспериментах на полосках миокарда правого предсердия наблюдался отрицательный инотропный эффект, а в желудочках — положительный во всех исследованных концентрациях антагониста JP-1302 [12]. Результаты проведенных исследований подтверждают значительную роль  $\alpha_{2c}$ -АР в регуляции изолированного сердца.

Исследование животных с генетическим прерыванием экспрессии *Adra2C* показало, что  $\alpha_{2c}$ -изоформа преимущественно контролирует секрецию катехоламинов из хромаффинных клеток надпочечника по  $Ca^{2+}$ -зависимому механизму обратной связи [13,14]. Следовательно, в целостном организме блокада  $\alpha_{2c}$ -АР приводит к тахикардии, что мы ранее и показали экспериментально. Но результаты, полученные на изолированном по Лангендорфу сердце и на полосках сердца, указывают на возможность иного механизма регуляции сердечной деятельности. Некоторыми исследователями на отдельных кардиомиоцитах было обнаружено, что NO



и циклический гуанозинмонофосфат (сGMP) являются центральными внутриклеточными мессенджерами  $\alpha_2$ -АР-сигнализации в вентрикулярных миоцитах. Агонист  $\alpha_2$ -АР гуанабенз стимулировал продукцию NO, активируя изоформу eNOS, через PI3K-Акт/ПКВ-сигнальный путь. Известно, что активация Акт/ПКВ и eNOS вызывает фосфорилирование и S-нитролизирование фосфоламбана и  $\text{Ca}^{2+}$ -АТФазы саркоплазматического ретикулума (SERCA), активируя закачку  $\text{Ca}^{2+}$  в ретикулум [15]. Возможно, при блокаде  $\alpha_{2C}$ -АР подавляется eNOS, следствием чего будет уменьшение ДРЛЖ. Полученные результаты свидетельствуют о том, что наиболее выраженный эффект наблюдается при использовании блокатора JP-1302 в концентрации  $10^{-7}$  М, и данная концентрация является наиболее адекватной для экспериментов по изучению динамики ДРЛЖ. Результаты проведенных нами исследований показывают, что эффекты блокады  $\alpha_{2C}$ -АР зависят от присутствия различных уровней регуляции сердечной деятельности, что следует учитывать при применении лекарственных препаратов в клинике.

Работа выполнена при поддержке РФФ (проект № 21-15-00121, <https://rscf.ru/project/21-15-00121/>).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Brodde O.E., Bruck H., Leineweber K. Cardiac adrenoceptors: physiological and pathophysiological relevance // *J. Pharmacol. Sci.* 2006. Vol. 100, N 5. P. 323-337. doi: 10.1254/jphs.crj06001x
2. Civantos Calzada B., Aleixandre de Artiñano A. Alpha-adrenoceptor subtypes // *Pharmacol. Res.* 2001. Vol. 44, N 3. P. 195-208. doi: 10.1006/phrs.2001.0857
3. El-Ayoubi R., Menaouar A., Gutkowska J., Mukaddam-Daher S. Imidazoline receptors but not alpha 2-adrenoceptors are regulated in spontaneously hypertensive rat heart by chronic moxonidine treatment // *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2004. Vol. 310, N 2. P. 446-451. doi: 10.1124/jpet.104.067595
4. Porter A.C., Svensson S.P., Stamer W.D., Bahl J.J., Richman J.G., Regan J.W. Alpha-2 adrenergic receptors stimulate actin organization in developing fetal rat cardiac myocytes // *Life Sci.* 2003. Vol. 72, N 13. P. 1455-1466. doi: 10.1016/s0024-3205(02)02381-0
5. Brodde O.E., Michel M.C. Adrenergic and muscarinic receptors in the human heart // *Pharmacol. Rev.* 1999. Vol. 51, N 4. P. 651-690.
6. Maltsev A.V., Kokoz Y.M., Evdokimovskii E.V., Pimenov O.Y., Reyes S., Alekseev A.E. Alpha-2 adrenoceptors and imidazoline receptors in cardiomyocytes mediate counterbalancing effect of agmatine on NO synthesis and intracellular calcium handling // *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2014. Vol. 68. P. 66-74. doi: 10.1016/j.yjmcc.2013.12.030
7. Gyires K., Zádori Z.S., Török T., Mátyus P. alpha(2)-Adrenoceptor subtypes-mediated physiological, pharmacological actions // *Neurochem. Int.* 2009. Vol. 55, N 7. P. 447-453. doi: 10.1016/j.neuint.2009.05.014
8. Philipp M., Hein L. Adrenergic receptor knockout mice: distinct functions of 9 receptor subtypes // *Pharmacol. Ther.* 2004. Vol. 101, N 1. P. 65-74. doi: 10.1016/j.pharmthera.2003.10.004
9. Maltsev A.V., Evdokimovskii E.V., Kokoz Y.M.  $\alpha_2$ -adrenoceptor signaling in cardiomyocytes of spontaneously hypertensive rats starts to impair already at early age // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2019. Vol. 512, N 4. P. 908-913. doi: 10.1016/j.bbrc.2019.03.117
10. Evdokimovskii E.V., Jeon R., Park S., Pimenov O.Y., Alekseev A.E. Role of  $\alpha_2$ -adrenoceptor subtypes in suppression of L-type  $\text{Ca}^{2+}$  current in mouse cardiac myocytes // *Int. J. Mol. Sci.* 2021. Vol. 22, N 8. ID 4135. doi: 10.3390/ijms22084135.
11. Zefirov T.L., Khisamieva L.I., Ziyatdinova N.I., Zefirov A.L. Selective blockade of  $\alpha_2$ -adrenoceptor subtypes modulates contractility of rat myocardium // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2016. Vol. 162, N 2. P. 177-179. doi: 10.1007/s10517-016-3569-x
12. Zefirov T.L., Khisamieva L.I., Ziyatdinova N.I., Zefirov A.L. Effect of selective blockade of  $\alpha_{2C}$ -adrenoceptors on cardiac activity in growing rats // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2015. Vol. 159, N 6. P. 697-699. doi: 10.1007/s10517-015-3051-1
13. Brede M., Nagy G., Philipp M., Sorensen J.B., Lohse M.J., Hein L. Differential control of adrenal and sympathetic catecholamine release by alpha 2-adrenoceptor subtypes // *Mol. Endocrinol.* 2003. Vol. 17, N 8. P. 1640-1646. doi: 10.1210/me.2003-0035
14. Moura E., Afonso J., Hein L., Vieira-Coelho M.A. Alpha2- adrenoceptor subtypes involved in the regulation of catecholamine release from the adrenal medulla of mice // *Br. J. Pharmacol.* 2006. Vol. 149, N 8. P. 1049-1058. doi: 10.1038/sj.bjp.0706950
15. Пименов О.Ю., Галимова М.Х., Евдокимовский Э.В., Аверин А.С., Накипова О.В., Рейес С., Алексеев А.Е. Миокардиальные  $\alpha_2$ -адренорецепторы — потенциальные мишени для защиты от гипертрофии и сердечной недостаточности // *Биофизика.* 2019. Т. 64, № 5. С. 917-932.