

## ВЛИЯНИЕ СТИМУЛЯЦИИ $\alpha 1$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕДСЕРДИЙ КРЫСЫ

© 2023 г. Н. Мансур\*,#, Н.И. Зиятдинова\*, А.М. Галиева\*, Р.Р. Шакиров\*, Т.Л. Зефирова\*

\*Казанский федеральный университет, Кремлевская ул., 18, Казань, 420008, Россия

#E-mail: nourm94@mail.ru

Поступила в редакцию 16.02.2023 г.

После доработки 28.03.2023 г.

Принята к публикации 05.04.2023 г.

Изучено влияние агониста  $\alpha 1$ -адренорецепторов метоксамина на частоту спонтанной активности и параметры электрической активности миокарда предсердий в условиях навязанного ритма и с сохраненным синусовым узлом у крыс. Метоксамин оказывал двоякое влияние на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов. При навязанном ритме метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия, при собственном ритме — уменьшал.

*Ключевые слова:*  $\alpha 1$ -адренорецептор, метоксамин, потенциал действия, сердце.

DOI: 10.31857/S0006302923040154, EDN: KMWXBE

Адренергические рецепторы (АР) представляют собой гликопротеины клеточной поверхности, которые распознают и избирательно связывают катехоламины, высвобождаемые из окончаний симпатических нервов и мозгового вещества надпочечников [1]. Всего существует три семейства АР и девять подтипов ( $\alpha 1A$ ,  $\alpha 1B$ ,  $\alpha 1D$ ,  $\alpha 2A$ ,  $\alpha 2B$ ,  $\alpha 2C$ ,  $\beta 1$ ,  $\beta 2$  и  $\beta 3$ ), которые демонстрируют сходную аффинность связывания, но вызывают разные физиологические эффекты для одних и тех же эндогенных катехоламинов. Избирательность передачи сигналов достигается за счет связывания с различными G-белками и эффекторными системами как во времени, так и в пространстве [2]. В 1948 г Р. Ахлакиест ввел понятие различных типов адренергических рецепторов и присвоил им подтипы  $\alpha$  и  $\beta$  [3]. Первоначально существовала классификация  $\alpha$ -адренорецепторов на  $\alpha 1$ - и  $\alpha 2$ -подтипы. Затем на основе фармакологических данных подтип  $\alpha 1$ -АР дополнительно подразделили на  $\alpha 1A$ - и  $\alpha 1B$ -АР [4]. Несколько лет спустя был клонирован другой рецептор, который показал новую фармакологию по сравнению с двумя предыдущими подтипами и был назван  $\alpha 1D$ -АР [5]. Альтернативная классификация  $\alpha 1$ -адренорецепторов в гладких мышцах, основанная на их сродстве, в частности, к празозину, подтвердила существование  $\alpha 1L$ -ад-

ренорецептора, который представляет собой просто нативный  $\alpha 1A$ -адренорецептор с низким сродством к празозину и является вариантом модификации  $\alpha 1A$  [6].

Текущие данные о связывании радиолиганда АР в сердце предполагают доминирование  $\beta$ -АР, включающее 90%  $\beta$ -АР, присутствующих в соотношении 8 : 2 ( $\beta 1$  :  $\beta 2$ ), и 10%  $\alpha 1$ -АР, присутствующих в соотношении 6 : 4 ( $\alpha 1A$  :  $\alpha 1B$ ). [7, 8]. Первоначально  $\alpha 1$ -АР были идентифицированы как постсинаптические  $\alpha$ -адренорецепторы на основании их уникальных фармакологических характеристик [9]. АР регулируют как сократительную способность, так и рост миокарда. В то время как  $\beta$ -АР преобладают в регуляции функции сердца в нормальных физиологических условиях, считается, что  $\alpha 1$ -АР играют более важную роль при патологических состояниях и заболеваниях, таких как гипертрофия, сердечная недостаточность и ишемическая болезнь [10]. Все три подтипа  $\alpha 1$ -адренорецепторов ( $\alpha 1A$ -,  $\alpha 1B$ -,  $\alpha 1D$ -) связаны с Gq/11-белком. Внутриклеточные механизмы передачи сигнала при активации мембранных  $\alpha 1$ -адренорецепторов хорошо изучены. Согласно общей классической схеме, Gq/11-субъединица активированного адренорецептора связывается с фосфолипазой C (PLC- $\beta$ ) и стимулирует ее, что ведет к гидролизу фосфолипидного компонента клеточной мембраны фосфатидилинозитол-4,5-бисфосфата на инозитолтрифосфат и диацилгли-

Сокращения: АР — адренергические рецепторы, ДПД — длительность потенциала действия.

перол, которые известны как вторичные посредники [11].

Активация  $\alpha 1$ -АР затрагивает большое число компонентов регулирующих работу миокарда, в том числе, происходит увеличение  $\text{Ca}^{2+}$ -тока L-типа, также увеличивается активность  $\text{Na}^+/\text{Ca}^{2+}$ -обменника [12, 13] и  $\text{Na}^+-\text{H}^+$ -обменника [14], депо-зависимого входа  $\text{Ca}^{2+}$  [15]. На основании полученных результатов исследователи отмечают, что физиологические функции подтипов  $\alpha 1$ -АР могут существенно отличаться при развитии механизмов регуляции сердца [16].

В целом следует отметить что активация  $\alpha 1$ -АР может приводить к разнонаправленным изменениям как силы сокращений в препаратах сердца так и их частоты, в зависимости от видовых, тканевых и возрастных особенностей животных а также от фармакологических свойств используемых агонистов [12, 14, 17, 18]. Таким образом, исследование механизмов  $\alpha 1$ -АР сигнализации в сердце остается актуальной задачей.

Целью нашего исследования было изучение роли агониста  $\alpha 1$ -адренорецепторов метоксамин-а в регуляции электрической активности миокарда предсердий у взрослых крыс.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследование выполнено на белых беспородных крыс. Подопытные животные находились в одинаковых условиях, по три-четыре крысы в клетке со свободным доступом к воде и корму. Эксперименты проводились на взрослых крысах. Для наркоза внутрибрюшинно вводили 25%-й раствор уретана из расчета 1.2 г/кг массы животного. После инъекции уретана вскрывали грудную клетку, вырезали сердце и перемещали его в чашку Петри с раствором Тироде, содержащим (в mM)  $\text{NaCl}$  – 133.47,  $\text{KCl}$  – 4.69,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4$  – 1.35,  $\text{NaHCO}_3$  – 16.31,  $\text{MgSO}_4$  – 1.18,  $\text{CaCl}_2$  – 2.5, глюкоза – 7.77, и насыщали карбогеном (95%  $\text{O}_2$ , 5%  $\text{CO}_2$ ), pH при температуре  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  поддерживали на уровне 7.3–7.4 добавлением к раствору основного буфера Trizma и кислотного буфера. В чашке Петри готовили изолированный миокард правого предсердия с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. Влияние стимуляции альфа-1-адренорецепторов изучали на предсердиях с собственным и навязанным ритмом. Длительность периода адаптации препарата составляла 40 мин. В ходе экспериментов с навязанным ритмом стимулировали предсердия платиновыми электродами (150 имп/мин). Внутриклеточный

потенциал действия регистрировали стеклянными микроэлектродами сопротивлением 25–60 МОм. Сигналы записывали с помощью программы Elph 3.0. Данные обрабатывались с помощью Excel. Регистрацию мембранного потенциала, потенциала действия, длительности деполяризации, амплитуды потенциала действия, длительности потенциала действия (ДПД) определяли при уровнях реполяризации 20% (ДПД 20%), 50% (ДПД 50%) и 90% (ДПД 90%). Использовали неселективный агонист альфа-1-адренорецепторов метоксамин (Токрис) в концентрации  $10^{-8}$  М и  $10^{-7}$  М. Его растворяли в растворе Тироде и наносили после записи контроля.

Результаты экспериментов выражены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка среднего. Статистическую значимость оценивали по критерию Стьюдента для сравнения двух групп. Достоверными считались значения при  $p < 0.05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

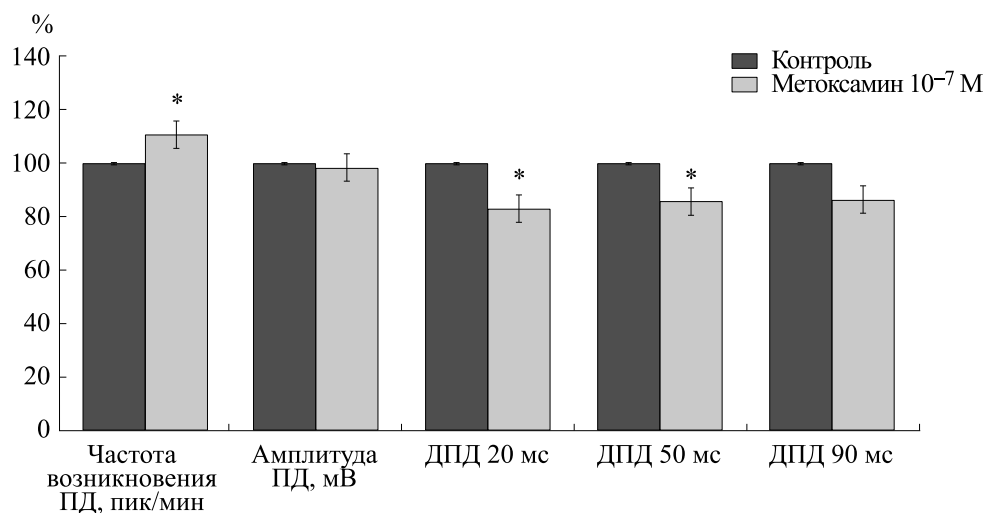
Влияние метоксамин на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов взрослых крыс с сохраненным синусовым узлом, обладающих спонтанной активностью.

Метоксамин в концентрации  $10^{-7}$  М (рис. 1) уменьшал длительность потенциала действия на уровне ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% на 17.0% ( $p < 0.05$ ), 14.0% ( $p < 0.05$ ), и 13.0% соответственно, при этом длительность фазы деполяризации не изменялась. Также не изменялись значения амплитуды потенциала действия, мембранного потенциала и овершута. Метоксамин в концентрации  $10^{-7}$  М у взрослых крыс вызывал увеличение частоты генерации потенциала действия на 10,3% ( $p < 0.05$ ).

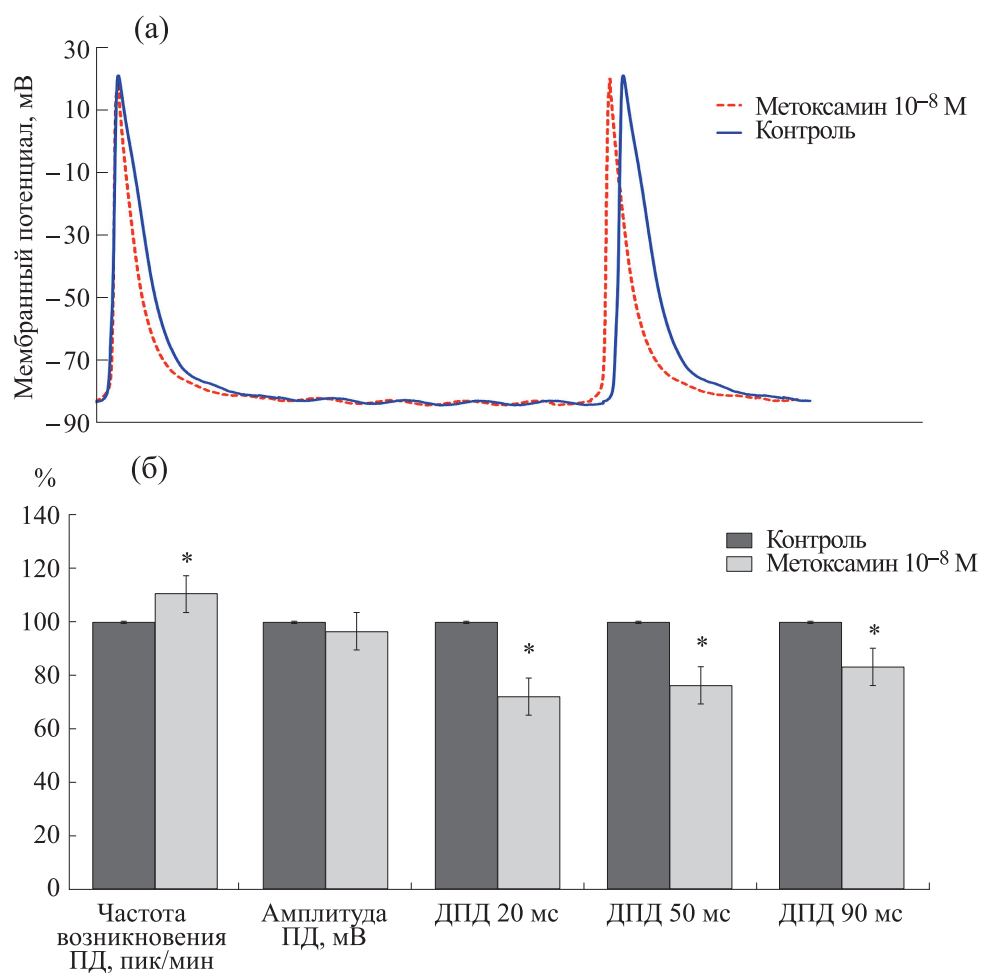
Аппликация метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М (рис. 2) у взрослых животных вызывала увеличение частоты возникновения потенциала действия на 10.9% ( $p < 0.05$ ), при этом достоверно не изменялись мембранный потенциал и амплитуда потенциала действия. Длительность потенциала действия на уровне 20, 50 и 90% реполяризации уменьшалась на 27.4% ( $p < 0.05$ ), 23% ( $p < 0.05$ ) и 16% ( $p < 0.05$ ) соответственно.

Далее было изучено влияние метоксамин на параметры электрической активности работающих кардиомиоцитов при навязанном ритме взрослых крыс.

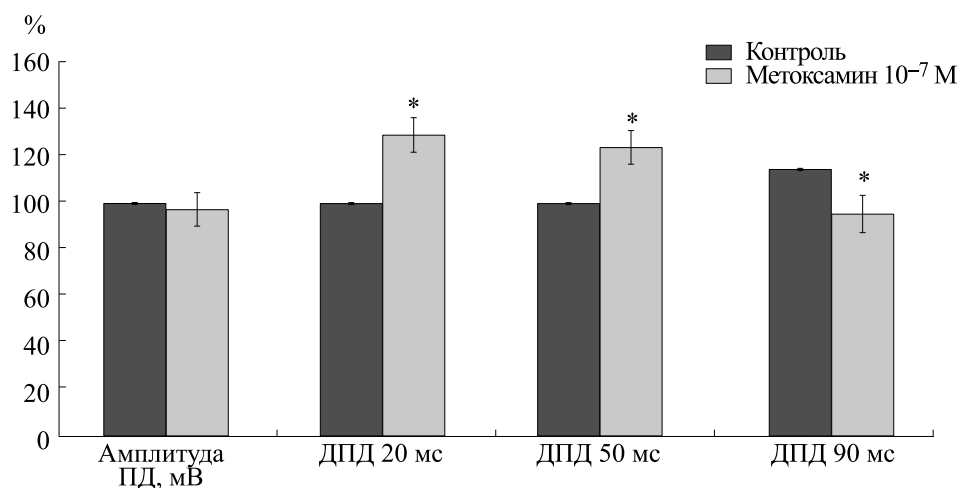
Метоксамин в концентрации  $10^{-7}$  М (рис. 3) увеличивал длительность потенциала действия на уровне ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% на 29.0% ( $p < 0.05$ ), 23.9% ( $p < 0.05$ ) и 10.0% соответственно, при этом длительность фазы деполяризации не изменялась. Также не изменялись значения ам-



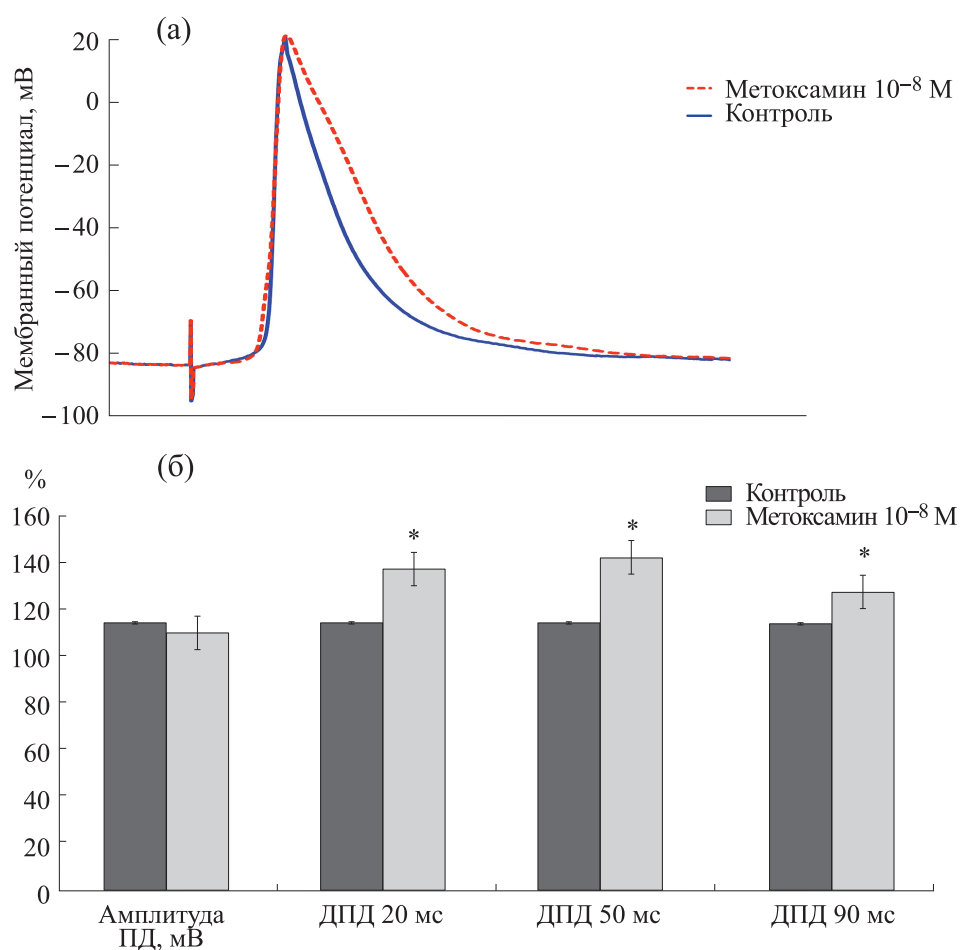
**Рис. 1.** Влияние метоксалина ( $10^{-7}$  М) на амплитудно-временные параметры ПД у взрослых крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью; \* —  $p < 0.05$  ( $n = 10$ ).



**Рис. 2.** Влияние метоксалина ( $10^{-8}$  М) на амплитудно-временные параметры у взрослых крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью: (а) — оригинальная запись; (б) — величина эффекта в процентах, \* —  $p < 0.05$  ( $n = 10$ ).



**Рис. 3.** Влияние метоксалина ( $10^{-7}$  М) на амплитудно-временные параметры у взрослых крыс с навязанным ритмом; \* —  $p < 0.05$  ( $n = 10$ ).



**Рис. 4.** Влияние метоксалина ( $10^{-8}$  М) на амплитудно-временные параметры у взрослых крыс с навязанным ритмом: (а) — оригинальная запись; (б) — величина эффекта в процентах, \* —  $p < 0.05$  ( $n = 10$ ).

плитуды потенциала действия и мембранного потенциала.

Применение метоксамина в концентрации  $10^{-8}$  М (рис. 4) у взрослых животных не изменяло мембранный потенциал и амплитуду потенциала действия. Длительность потенциала действия на уровне 20, 50 и 90% реполяризации увеличивалась на 20.0% ( $p < 0.05$ ); 24.0% ( $p < 0.05$ ); 11.0% ( $p < 0.05$ ) соответственно.

Итак, в наших экспериментах мы наблюдали двоякое влияние метоксамина на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов. При навязанном ритме метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия, при собственном ритме — уменьшал. Возможно, что в экспериментах с собственным ритмом, именно частота генерации потенциала действия регулировала длительность фазы реполяризации. Таким образом, было обнаружено, что стимуляция  $\alpha 1$ -адренорецепторов метоксamiном влияет на электрическую активность сердца взрослых крыс и увеличивает частоту генерации потенциалов действия, приводя к изменению длительности реполяризации на препаратах миокарда предсердий. Электрическая активность миокарда проявляется в виде потенциалов действия, отражающих активацию (и инактивацию) деполяризующих ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$ ) и реполяризующих ( $\text{K}^+$ ) каналов тока. Существует несколько типов миокардиальных  $\text{K}^+$ -каналов, которые вносят вклад в региональные различия в форму волн потенциала действия и в генерацию нормальных сердечных ритмов [19]. Известно, что длительность фазы реполяризации ПД в кардиомиоцитах определяется выходящими калиевыми токами:  $I_{\text{Kur}}$  (сверхбыстрый выходящий ток задержанного выпрямления),  $I_{\text{to}}$  (транзиторный выходящий ток),  $I_{\text{Kr}}$  и  $I_{\text{Ks}}$  (быстрый и медленный компоненты токов задержанного выпрямления),  $I_{\text{K1}}$  (ток аномального выпрямления) и некоторыми другими [20]. У человека и крысы длительность фазы реполяризации ПД в основном определяется током  $I_{\text{Kr}}$  и  $I_{\text{Ks}}$  [21, 22]. Данные изменения могут быть связаны с влиянием метоксамина на кинетику  $\text{K}^+$ -токов, в первую очередь  $I_{\text{Kr}}$  и  $I_{\text{Ks}}$ . Изменения длительности фазы реполяризации рабочих кардиомиоцитов непременно сказываются на их сократительной функции, что подтверждается литературными данными, согласно которым метоксамин в концентрации  $10^{-8}$  М,  $10^{-7}$  М у взрослых крыс снижал силу сокращения полосок предсердного миокарда [23].

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На основании полученных результатов можно сделать заключение, что стимуляция  $\alpha 1$ -адренорецепторов рабочих кардиомиоцитов правого предсердия крыс с собственным и навязанным ритмом не вызывает изменений мембранного потенциала, амплитуды и длительности фазы деполяризации потенциала действия. В то же время метоксамин оказывал влияние на длительность реполяризации потенциала действия взрослых крыс. Необходимо отметить, что в экспериментах с навязанным ритмом метоксамин приводил к увеличению длительности фазы реполяризации потенциала действия, а при собственном ритме — к ее уменьшению.

## ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (грант № 21-15-00121, <https://rscf.ru/project/21-15-00121>).

## КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

## СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Все эксперименты на животных проводили в соответствии с национальными и международными руководящими принципами по уходу и гуманному использованию животных.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. R. M. Graham, Cleve Clin. J. Med., **57** (5), 481 (1990).
2. D. M. Perez, Front. Pharmacol., **29**, 11 (2020).
3. R. P. Ahlquist, Am. J. Physiol., **153** (3), 586 (1948).
4. A. L. Morrow and I. Creese, Mol. Pharmacol., **29** (4), 321 (1986).
5. D. M. Perez, M. T. Piascik, and R. M. Graham, Mol. Pharmacol., **40** (6), 876 (1991).
6. J. R. Docherty, Eur. J. Pharmacol., **855**, 305 (2019).
7. A. J. Baker, Pflugers Arch., **466** (6), 1139 (2014).
8. T. L. Zefirov, et al., Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki, **160** (4), 613 (2018).
9. S. Z. Langer, Biochem. Pharmacol., **23** (13), 1793 (1974).
10. K. B. Lai, J. E. Sanderson, and C. M. Yu, Cardiovasc. Drugs Ther., **23** (4), 271 (2009).
11. T. D. O'Connell, B. C. Jensen, A. J. Baker, and P. C. Simpson, Pharmacol. Rev., **66** (1), 308 (2014).
12. K. Nishimaru, M. Kobayashi, T. Matsuda, et al., AJP Heart Circ. Physiol., **280** (1), H132 (2001).

13. M. Stengl, K. Mubagwa, E. Carmeliet, and W. Flameng, *Cardiovasc. Res.*, **38** (3), 703 (1998).
14. G. Gambassi, H. A. Spurgeon, E. G. Lakatta, et al., *Circ. Res.*, **71**(2), 870 (1992).
15. A. S. Averin, L. A. Andreeva, S. S. Popova, et al., *J. Comp. Physiol. B*, **191**, 927 (2021).
16. S. H. Woo and C. O. Lee, *Pflugers Arch.*, **437** (3), 335 (1999).
17. T. L. Zefirov, I. I. Khabibrakhmanov, N. I. Ziyatdinova, and A. L. Zefirov, *Bul. Exp. Biol. Med.*, **162** (1), 4 (2016).
18. S. Zhang, R. Takahashi, N. Yamashita, et al., *Eur. J. Pharmacol.*, **839**, 82 (2018).
19. J. M. Nerbonne and R. S. Kass, *Physiol. Rev.*, **85** (4), 1205 (2005).
20. S. A. Kodirov, V. L. Zhuravlev, T. A. Safonova, et al., *Rev. Clin. Pharmacol. Drug Therapy*, **3** (4), 27 (2004) [in Russian].
21. L. Virág, N. Iost, M. Opincariu, et al., *Cardiovasc. Res.*, **49** (4), 790 (2001).
22. E. Grandi, M. C. Sanguinetti, D. C. Bartos, et al., *J. Physiol.*, **595** (7), 2209 (2017).
23. I. I. Khabibrakhmanov, N. I. Ziyatdinova, and T. L. Zefirov, *Russ. J. Cardiol.*, **26** (5), 53 (2021).

## Effect of $\alpha 1$ -Adrenoreceptors Stimulation on Electrical Activity of Rat Atria

N. Mansour\*, N.I. Ziyatdinova\*, A.M. Gallieva\*, R.R. Shakirov\*, and T.L. Zefirov\*

*\*Kazan Federal University, Kremlevskaya ul. 18, Kazan, 420008 Russia*

The effect of methoxamine, an agonist at  $\alpha 1$ -adrenergic receptors, on the frequency of spontaneous activity and parameters of the electrical activity of the atrial myocardium was investigated in rats with normal sinus rhythm and in normal rats under continuous electrical pacing. Methoxamine exerted dual effects on the duration of repolarization of working cardiomyocytes. Methoxamine increased the duration of the repolarization phase of the action potential in normal rats under continuous electrical pacing but decreased it in rats with normal sinus rhythm.

*Keywords:  $\alpha 1$ -adrenoreceptor, methoxamine, frequency of spontaneous activity, heart*