
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

СТИМУЛЯЦИЯ АЛЬФА₂-АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ НА ФОНЕ БЛОКАДЫ If НА
ЭТАПАХ ФОРМИРОВАНИЯ АДРЕНЕРГИЧЕСКОЙ ИННЕРВАЦИИ СЕРДЦА

© 2025 г. А. М. Купцова^{1, *}, Н. И. Зиятдинова¹, А. Л. Зефирова²,

Н. Г. Искаков³, Т. Л. Зефирова¹

¹Казанский (Приволжский) федеральный университет, Казань, Россия,

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия,

³Поволжский государственный университет физической культуры, спорта и туризма,
Казань, Россия

*E-mail: anuta0285@mail.ru

Поступила в редакцию 12.06.2025 г.

После доработки 07.08.2025 г.

Принята к публикации 31.08.2025 г.

В разные периоды постнатального развития компоненты вегетативной нервной системы, включая специфические рецепторы и нейромедиаторы, принимающие участие в контроле функций сердечно-сосудистой системы, характеризуются значительной динамикой и вариабельностью. В организме человека и животных α_2 -адренорецепторы (α_2 -АР) и ток, активируемый гиперполяризацией (If), широко распространены и участвуют в регуляции многих функций, однако их модулирующая роль на этапах становления и развития адренергической регуляции развивающегося сердца изучена недостаточно. Исследование проводилось на изолированном сердце 1-, 3-недельных и взрослых половозрелых белых крыс. Изучались частота сердечных сокращений (ЧСС) и коронарный поток (КП) изолированного по Лангендорфу сердца крыс при активации α_2 -АР клонидином гидрохлоридом (10^{-6} М) на фоне введения блокатора If ZD7288 (10^{-9} М, 10^{-5} М). В группе новорожденных крысят активация α_2 -АР вызывала разнонаправленное изменение КП, на фоне действия блокатора If (10^{-9} М) достоверно увеличивался КП, а на фоне блокады If (10^{-5} М) наблюдалась разнонаправленная динамика изменения КП. В группе 3-недельных крысят стимуляция α_2 -АР уменьшала КП, а на фоне предварительной блокады If динамика КП изменялась на положительную. У взрослых крыс активация α_2 -АР на фоне блокады If вызывала уменьшение КП. Агонист α_2 -АР приводил к разнонаправленному изменению ЧСС в группах новорожденных и взрослых крыс, лишь у 3-недельных крысят наблюдалось урежение ЧСС. Стимуляции α_2 -АР на фоне блокады If не изменяла динамики ЧСС в группе 3-недельных крыс и отменяла разнонаправленные изменения ЧСС у взрослых и новорожденных животных, вызывая только уменьшение ЧСС у взрослых и увеличение ЧСС у новорожденных. Полученные результаты показали, что α_2 -адренергическая регуляция сердца модулируется If, степень и направленность эффектов зависят от уровня сформированности симпатической иннервации сердца.

Ключевые слова: альфа₂-адренорецептор, ток, активируемый гиперполяризацией, изолированное сердце, онтогенез, крыса

DOI: 10.7868/S2658655X25110057

ВВЕДЕНИЕ

Развитие сердца представляет собой многоступенчатый процесс, контролируемый нервными и гуморальными механизмами регуляции организма. В разные периоды постнатального развития компоненты вегетативной нервной системы, включая специфические рецепторы и нейромедиаторы, принимающие участие в контроле функций сердечно-сосудистой системы, характеризуются значительной динамикой и вариабельностью [1–2]. Обзор современной литературы представлен широкой палитрой результатов о становлении, формировании и росте симпатических и парасимпатических нервных волокон в сердце [3–4]. Методом флуоресцентной микроскопии в тканях сердца крысят в период с 1-го по 21-й день после рождения симпатические волокна не обнаруживаются. Способность поглощать норадреналин определяет функциональную зрелость симпатических нервов, которая наблюдается с 21-го дня после рождения, а затем к 30-му дню жизни достигает показателей зрелых животных [5]. В экспериментах с радиоактивно меченым норадреналином на 35-й день после рождения выявлено становление симпатической нервной системы [5–6].

Адренергическая регуляция сердечной деятельности реализуется через множество подтипов адренорецепторов [7]. В организме человека и животных α_2 -адренорецепторы (α_2 -АР) широко распространены в центральной и периферической нервной системе, вегетативных ганглиях, на пресинаптической мембране адренергических волокон, на постсинаптической мембране кардиомиоцитов, в гладких мышцах сосудов, кишечном и почечном эпителии [8–9]. α_2 -АР, локализованные на пресинаптических мембранах, участвуют в модуляции высвобождения норадреналина [10], торможении выделения ацетилхолина из холинергических синапсов, стимуляции агрегации тромбоцитов и вазоконстрикции [11]. Активация постсинаптических α_2 -АР в центральной нервной системе вызывает седативный эффект, ингибирует симпатическую активность, снижая артериальное давление [12].

В ранее проведенных исследованиях выявлено участие α_2 -АР в регуляции показателей деятельности сердца на разных уровнях организации организма. В исследованиях *in vivo* активация α_2 -АР вызывает брадикардию и снижает систолическое давление у крыс; в сериях экспериментов *in vitro* – сократимость полосок миокарда желудочков крыс изменяется разнонаправленно по отношению к предсердиям [13]. В модели изолированного по Лангендорфу сердца крыс (*ex vitro*) активация α_2 -АР уменьшает давление, развиваемое левым желудочком, и вызывает разнонаправленные изменения частоты сердечных сокращений (ЧСС) и коронарного потока (КП) [14].

Особую роль играют α_2 -АР в развитии и течении заболеваний сердечно-сосудистой системы. У крыс с моделью спонтанной артериальной гипертензии наблюдается увеличение экспрессии подтипов α_2 -АР, нарушение их функций и снижение эффективности связанных с ними сигнальных каскадов [15]. Применение агониста α_2 -АР (дексмедетомидина) при дисфункции левого желудочка, вызванного гипоксией-оксигенацией, вызывает кардиозащитный эффект, проявляющийся симпатолитическими эффектами, стабилизацией гемодинамики, активацией эндотелиальной синтазы оксида азота (eNOS) [16].

Циклические нуклеотид-зависимые, активируемые гиперполяризацией каналы или сокращенно HCN-каналы (HCN), не селективно проводящие ионы Na^+ и K^+ , блокируются миллимолярными концентрациями внеклеточного Cs^+ и модулируются циклическими нуклеотидами, главным образом цАМФ [17]. В основе работы HCN-каналов лежит входящий ток, активируемый при гиперполяризации, который в клетках синусно-предсердного узла сердца называют “If” (“funny”, смешной ток), а в нервной системе и нервных клетках “Ih” [17].

С момента открытия и описания If в 1980-х годах DiFrancesco с соавт. [17] проведено большое количество исследований по выявлению участия данных токов в регуляции функций сердечно-сосудистой системы развивающегося организма в норме

и при патологических состояниях [18–20]. На ранних стадиях эмбрионального развития HCN-каналы обильно экспрессируются во всех отделах сердца, а к моменту рождения в рабочих кардиомиоцитах их экспрессия снижается и остается на низком уровне у взрослых особей, что необходимо для предотвращения патологического ремоделирования [21]. Выявлено увеличение экспрессии HCN-каналов при сердечной недостаточности и после инфаркта миокарда [22–23]. Установлено, что блокада If вызывает брадикардию и снижает КП у лабораторных крыс разного возраста [24–26]. Ингибирование If влияет на сократительную активность предсердного и желудочкового миокарда крыс в различные периоды онтогенеза [27].

Установлено, что активность If находится под контролем уровня цАМФ и регулируется влиянием симпатического и парасимпатического отделов вегетативной нервной системы [28]. Формирование нервных волокон играет ключевую роль в регуляции ионных токов клеток миокарда и развитии рефлекторных реакций сердечно-сосудистой системы [29]. If и α_2 -АР присутствуют в кардиомиоцитах на всех этапах становления и развития сердечно-сосудистой системы, а If может быть важным эффектором адренергической регуляции развивающегося сердца.

Цель исследования – изучение влияния стимуляции альфа₂-адренорецепторов на фоне блокады токов, активируемых гиперполяризацией, на параметры работы изолированного сердца крыс на этапах развития симпатической иннервации сердца.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Препараты, растворы, химические агенты

Исследования проведены на препаратах изолированного сердца белых беспородных крыс двух возрастных групп: в возрасте 1-й ($n = 22$) и 3-х недель ($n = 24$). У 1-недельных крысят симпатическая иннервация сердца отсутствует, а 3-недельный возраст является начальным этапом формирования симпатической иннервации сердца [30]. В качестве контрольной группы выбраны взрослые половозрелые животные (20-недельного возраста ($n = 24$)), имеющие сформированную систему регуляции сердечно-сосудистой системы.

В исследовании на изолированном по Лангендорфу сердце крыс использовали раствор Кребса–Хензеляйте для теплокровных животных следующего состава (ммоль/л): NaCl – 118.0, KCl – 4.7, NaHCO₃ – 25.0, MgSO₄ – 1.2, CaCl₂ – 2.5, KH₂PO₄ – 1.2, глюкоза – 5.5. Раствор насыщали карбогеном (95% O₂, 5% CO₂), pH раствора поддерживали на уровне 7.3–7.4 при температуре 37 °C.

Для стимуляции α_2 -АР использовали клонидин гидрохлорид (Sigma) в концентрациях 10⁻⁶ М, для блокады If – препарат ZD7288 (Tocris) в концентрациях 10⁻⁹ М и 10⁻⁵ М. После стабилизации параметров работы изолированного сердца добавляли в перфузируемый раствор блокатор If ZD7288. Через 5 мин в раствор добавляли агонист α_2 -АР клонидин гидрохлорид. Перфузию изолированного сердца записывали в течение 20 мин. В каждой серии экспериментов использовались разные животные. В графиках за 100% брали значение показателей изолированного сердца на 5-й минуте после добавления в перфузируемый раствор блокатора If токов препарата ZD7288, исходное 2 (табл. 1).

Приготовление препарата изолированного по Лангендорфу сердца. Крысы обоих полов анестезировались 25%-ным раствором уретана (в дозе 800 мг/кг массы), затем им вскрывали грудную клетку. Сердце изолировали и промывали ледяным рабочим раствором Кребса–Хензеляйте (около 2 °C). Изолированное сердце фиксировали за аорту на канюле и подавали оксигенированный рабочий раствор на установке Лангендорфа (ADInstruments) при температуре 37 °C. Осуществлялась гравитационная ретроградная перфузия под постоянным гидростатическим давлением 70–75 мм рт. ст. Для регистрации ЧСС у крыс в течение эксперимента записывали электрограмму сердца с использованием

атравматических электродов, которые накладывали непосредственно на сердце. Регистрировали изменения КП в ответ на фармакологические воздействия. Сигналы записывали на установке PowerLab 8/35 (ADInstruments) при помощи программы LabChartPro.

Статистика

Статистическую обработку полученных результатов проводили в программе MS Excel (Microsoft Corp.) и с использованием однофакторного дисперсного анализа (ANOVA) с последующим применением *t*-критерия для независимых переменных и *t*-критерия для зависимых выборок в программе Statistica 13.0 (StatSoft, Inc.). Данные представлены в виде среднего значения и ошибки среднего ($M \pm SEM$). Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

В группе 1-недельных крысят ($n = 8$) добавление агониста α_2 -АР в концентрации 10^{-6} М оказывало разнонаправленное влияние на ЧСС изолированного сердца: у части крыс наблюдали уменьшение на 11% ($n = 4$, $p < 0.05$); у другой части крыс наблюдали увеличение на 30% ($n = 4$, $p < 0.05$, рис. 1а). В группе 3-недельных крысят добавление агониста α_2 -АР в концентрации 10^{-6} М уменьшало ЧСС на 31% ($n = 10$, $p < 0.01$) от исходного значения. В контрольной группе взрослых крыс наблюдали разнонаправленное изменение ЧСС на стимуляцию α_2 -АР (увеличение на 10%, $n = 4$, $p < 0.05$; уменьшение на 25%, $n = 4$, $p < 0.05$, рис. 1а).

Добавление агониста α_2 -АР (10^{-6} М) на фоне предварительной блокады I_f (10^{-9} М) у 1-недельных крысят к 5-й минуте эксперимента увеличивало ЧСС с 192.4 ± 19.3 до 220.8 ± 22.8 уд/мин. К 15-й минуте ЧСС увеличилась до 225.8 ± 21.4 уд/мин ($p < 0.05$) и к 20-й минуте составляло 232.9 ± 29.9 уд/мин ($n = 7$, $p < 0.05$, рис. 1б, 2б, табл. 1). Увеличение ЧСС составило 20% от исходного значения. Добавление агониста α_2 -АР на фоне предварительной блокады I_f (10^{-9} М) в группе 3-недельных крысят к 5-й минуте эксперимента уменьшало ЧСС с 176.7 ± 17.6 до 152.9 ± 17.0 уд/мин ($p < 0.05$). К 15-й минуте ЧСС уменьшилась до 145.0 ± 18.3 уд/мин ($p < 0.01$), и на 20-й минуте составляло 142.6 ± 20.9 уд/мин ($n = 7$, $p < 0.01$). Уменьшение ЧСС составило 19% (рис. 1б, 2а). В группе взрослых крыс агонист α_2 -АР на фоне предварительной блокады I_f (10^{-9} М) уменьшал ЧСС на 52% ($n = 8$, $p < 0.01$).

У новорожденных крыс неселективная стимуляция клонидином гидрохлоридом на фоне блокады ZD7288 (10^{-5} М) уменьшала ЧСС к 5-й минуте эксперимента с 204.3 ± 14.4 до 182.2 ± 10.5 уд/мин. На 15-й минуте наблюдения ЧСС уменьшилась до 170.9 ± 11.8 уд/мин ($p < 0.05$). К заключительной 20-й минуте наблюдения ЧСС составила 170.3 ± 12.2 уд/мин ($n = 7$, $p < 0.05$, рис. 1с), т. е. уменьшение на 15% от исходного значения. У 3-недельных крысят неселективная стимуляция клонидином гидрохлоридом на фоне блокады ZD7288 (10^{-5} М) уменьшала ЧСС к 5-й минуте эксперимента с 218.1 ± 8.7 до 189.2 ± 10.3 уд/мин ($p < 0.05$). На 15-й минуте наблюдения ЧСС уменьшилась до 187.7 ± 13.2 уд/мин ($p < 0.05$). К заключительной 20-й минуте наблюдения ЧСС уменьшилась до 184.2 ± 7.1 уд/мин ($n = 6$, $p < 0.01$), уменьшение составляло 16% от исходного значения. В группе взрослых крыс агонист α_2 -АР на фоне предварительной блокады I_f (10^{-5} М) уменьшал ЧСС на 25% ($n = 8$, $p < 0.01$, рис. 1с).

КП в группе 1-недельных крысят ($n = 8$) при активации α_2 -АР изменялся разнонаправленно. У части крыс ($n = 5$) наблюдали незначительное уменьшение КП на 5%; у другой части крыс увеличение КП составило 4% от исходного значения ($n = 3$, рис. 3а). КП в группе 3-недельных крысят при активации α_2 -АР уменьшился на 11% ($n = 10$, $p < 0.05$) от исходного значения. В контрольной группе взрослых крыс наблюдали уменьшение КП на 45% ($n = 8$, $p < 0.001$, рис. 3а) при стимуляции α_2 -АР.

Таблица 1. Влияние стимуляции альфа₂-адренорецепторов (10⁻⁶ M) на фоне блокады If (10⁻⁹ M, 10⁻⁵ M) на ЧСС и коронарный поток изолированного сердца крыс разного возраста

ЧСС							
ZD7288 (10 ⁻⁹ M) + клонидин			ZD7288 (10 ⁻⁵ M) + клонидин				
Возраст	1 неделя (n = 7)	3 недели (n = 7)	взрослые (n = 7)	1 неделя (n = 7)		3 недели (n = 6)	взрослые (n = 8)
Исходное 1							
1 мин	216.4 ± 19.2	222.2 ± 24.2	181.2 ± 22.0	199.1 ± 9.5	246.6 ± 10.2	154.6 ± 25.9	
5 мин исходное 2							
1 мин	204.5 ± 15.2	199.7 ± 17.3	164.9 ± 18.7	201.4 ± 13.7	246.3 ± 10.2	148.8 ± 25.3*	
5 мин	192.4 ± 19.3	176.7 ± 17.6	148.0 ± 18.4	204.3 ± 14.4	218.1 ± 8.7	143.6 ± 25.7*	
5 мин	220.8 ± 22.8	152.9 ± 17.0*	124.3 ± 21.2	182.2 ± 10.5	189.2 ± 10.3*	142.4 ± 25.5*	
15 мин	225.8 ± 21.4*	145.0 ± 18.3**	71.2 ± 16.0*	170.9 ± 11.8*	187.7 ± 13.2*	127.1 ± 25.8*	
20 мин	232.9 ± 29.9	142.6 ± 20.9**	70.9 ± 15.9*	170.3 ± 12.2*	184.2 ± 7.1**	110.3 ± 23.9**	
Коронарный поток							
ZD7288 (10 ⁻⁹ M) + клонидин			ZD7288 (10 ⁻⁵ M) + клонидин				
Возраст	1 неделя (n = 7)	3 недели (n = 7)	взрослые (n = 7)	1 неделя (n = 7)		3 недели (n = 6)	взрослые (n = 8)
Исходное 1				(n = 4)	(n = 3)		
1 мин	0.6 ± 0.1	1.6 ± 0.1	11.6 ± 2.2	0.9 ± 0.1	1.8 ± 0.1	1.8 ± 0.1	7.3 ± 2.4
5 мин исходное 2							
1 мин	0.6 ± 0.1	1.5 ± 0.1	11.2 ± 2.2	0.9 ± 0.1	1.7 ± 0.1	1.7 ± 0.1	7.2 ± 2.5
5 мин	0.6 ± 0.1	1.3 ± 0.1	9.3 ± 2.1	0.8 ± 0.1	1.5 ± 0.1	1.5 ± 0.1	6.9 ± 2.6
5 мин	0.6 ± 0.1	1.3 ± 0.1	7.5 ± 1.8*	0.8 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.5 ± 0.1	6.9 ± 2.7
15 мин	0.7 ± 0.1	1.4 ± 0.1*	6.1 ± 1.8*	1.0 ± 0.1	1.4 ± 0.1	1.9 ± 0.1	6.0 ± 2.2
20 мин	0.8 ± 0.1*	1.5 ± 0.1**	5.8 ± 1.8**	1.0 ± 0.1*	1.3 ± 0.1*	2.1 ± 0.1***	6.1 ± 2.3*

* – $p < 0.05$; ** – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$ – по сравнению с исходными значениями (исходное 2), Данные представлены как $M \pm SEM$.

Исходное 1 – контрольные значения ЧСС и коронарного потока до введения ZD7288.

Исходное 2 – контрольные значения ЧСС и коронарного потока до введения клонидина на фоне блокатора If ZD7288.

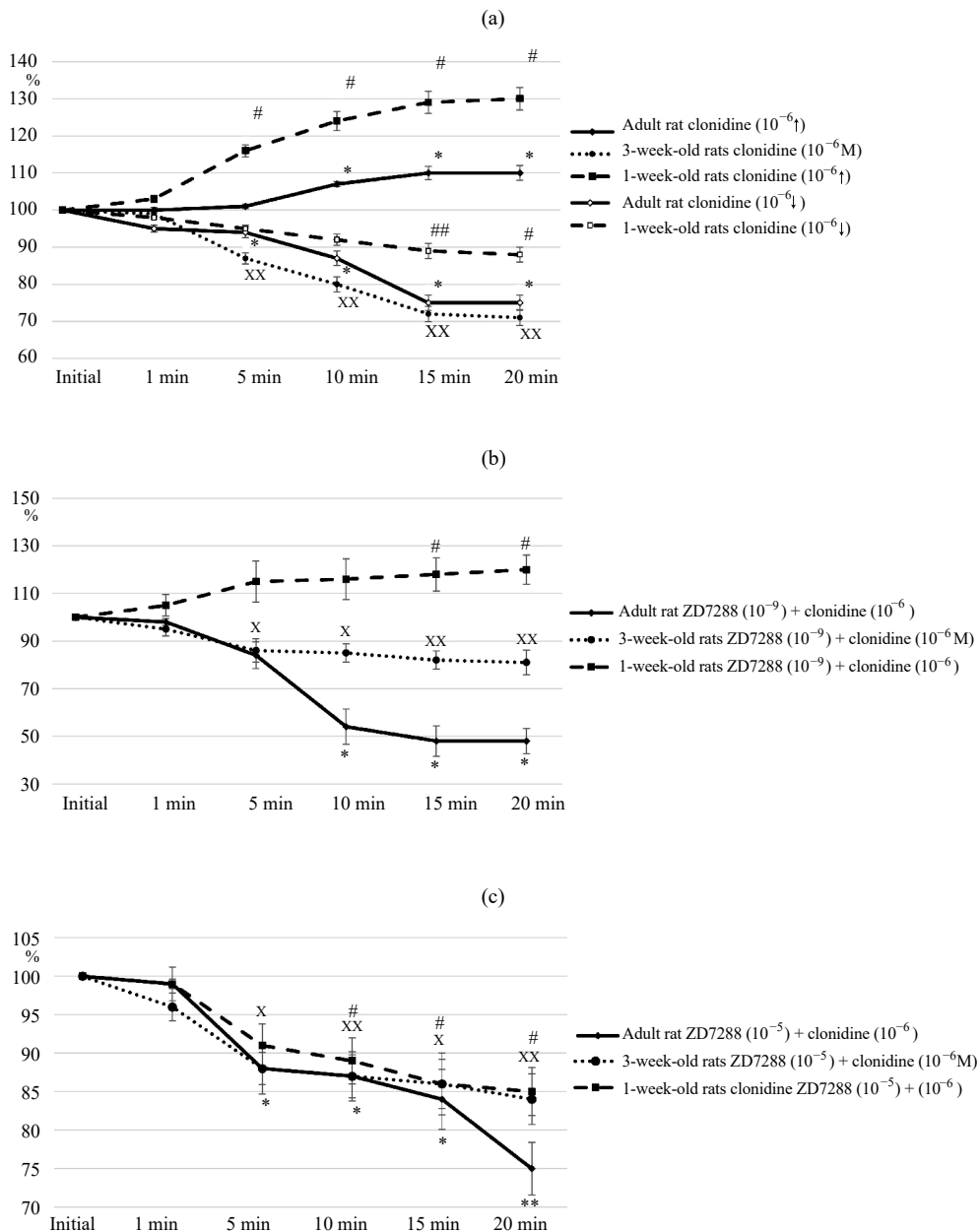


Рис. 1. Влияние стимуляции агонистом альфа₂-адренорецепторов клонидином гидрохлоридом (10^{-6} M) (a) и стимуляции агонистом альфа₂-адренорецепторов клонидином гидрохлоридом (10^{-6} M) на фоне блокады If ZD7288 (10^{-9}) M (b), 10^{-5} M (c) на ЧСС изолированного сердца крыс разного возраста. Ось ординат – частота сердечных сокращений (ЧСС, в %), ось абсцисс – время эксперимента, в минутах. Достоверность указана по сравнению с исходными значениями: *X# – $p < 0.05$; **XX – $p < 0.01$. * – для группы взрослых крыс; X – для группы 3-недельных крыс; # – для новорожденных крыс.

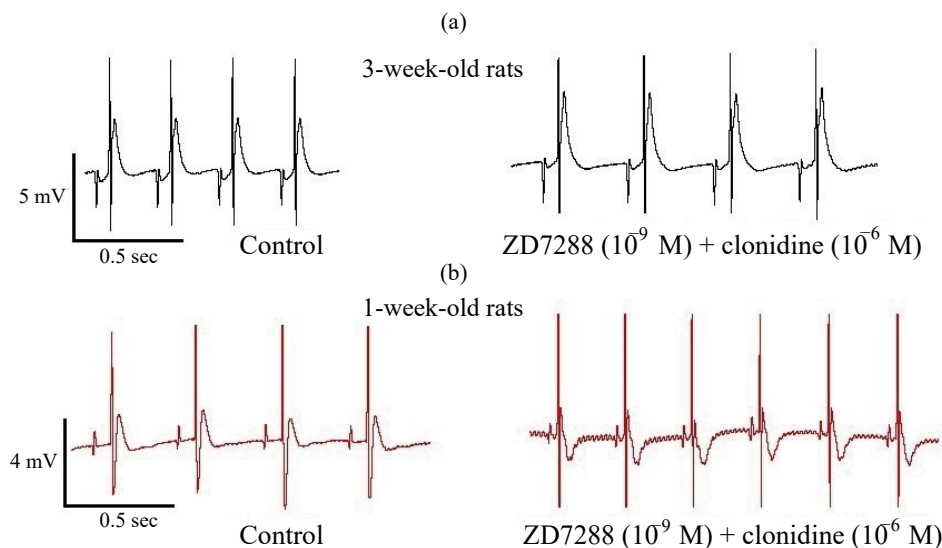


Рис. 2. Оригинальные записи электрокардиограммы изолированного сердца 3-недельных (а) и 1-недельных крыс (б) в контроле и при стимуляции альфа₂-адренорецепторов (10^{-6} M) на фоне блокады If (10^{-9} M).

Активация α_2 -АР изменяла КП на фоне предварительной блокады If (10^{-9} M) у 1-недельных крысят с 0.5 ± 0.1 до 0.6 ± 0.1 мл/мин на 5-й минуте наблюдения. На 20-й минуте эксперимента КП увеличился до 0.8 ± 0.1 мл/мин ($n = 7$, $p < 0.01$, рис. 3б). Активация α_2 -АР изменяла КП на фоне предварительной блокады If (10^{-9} M) у 3-недельных крысят с 1.3 ± 0.1 до 1.4 ± 0.1 мл/мин на 10-й минуте. На 20-й минуте эксперимента КП увеличился до 1.5 ± 0.1 мл/мин ($n = 7$, $p < 0.05$, рис. 3б). Изменение коронарного потока составило 15%. В группе взрослых животных активация α_2 -АР на фоне блокады If (10^{-9} M) уменьшала КП на 38% ($n = 8$, $p < 0.05$).

Введение клонидина гидрохлорида на фоне предварительной блокады If (10^{-5} M) оказывало разнонаправленное изменение КП у новорожденных крысят ($n = 7$). У части крыс исходное значение КП составило 0.8 ± 0.1 мл/мин, а на 10-й минуте наблюдения – 0.9 ± 0.1 мл/мин. Затем к 20-й минуте увеличился на 24% от исходного значения и составил 1.1 ± 0.1 мл/мин ($n = 3$, $p < 0.05$). У другой части крыс исходное значение КП составило 1.5 ± 0.1 мл/мин, а к 5-й минуте эксперимента – 1.4 ± 0.1 мл/мин. Далее КП изменился к 15-й минуте до 1.4 ± 0.1 мл/мин, а на 20-й минуте до 1.3 ± 0.1 мл/мин ($n = 4$, $p < 0.05$, рис. 3с). Уменьшение составило до 12% от исходного значения. Введение клонидина гидрохлорида на фоне предварительной блокады If (10^{-5} M) у 3-недельных крыс увеличивало коронарный поток с 1.5 ± 0.1 до 1.9 ± 0.1 мл/мин ($p < 0.01$) на 15-й минуте наблюдения. Затем к 20-й минуте он увеличился до 2.1 ± 0.1 мл/мин ($n = 6$, $p < 0.01$, рис. 3с). КП увеличился на 40% от исходного значения. В группе взрослых животных активация α_2 -АР на фоне блокады If (10^{-5} M) уменьшала КП на 17% ($n = 8$, $p < 0.05$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Проведенное исследование по изучению моделирующего влияния стимуляции α_2 -АР на фоне блокады If выявило изменение динамики ЧСС и КП на этапах становления адренергической иннервации изолированного сердца крыс. В группе 3-недельных крысят вазоконстрикция коронарных сосудов, наблюдаемая при стимуляции α_2 -АР,

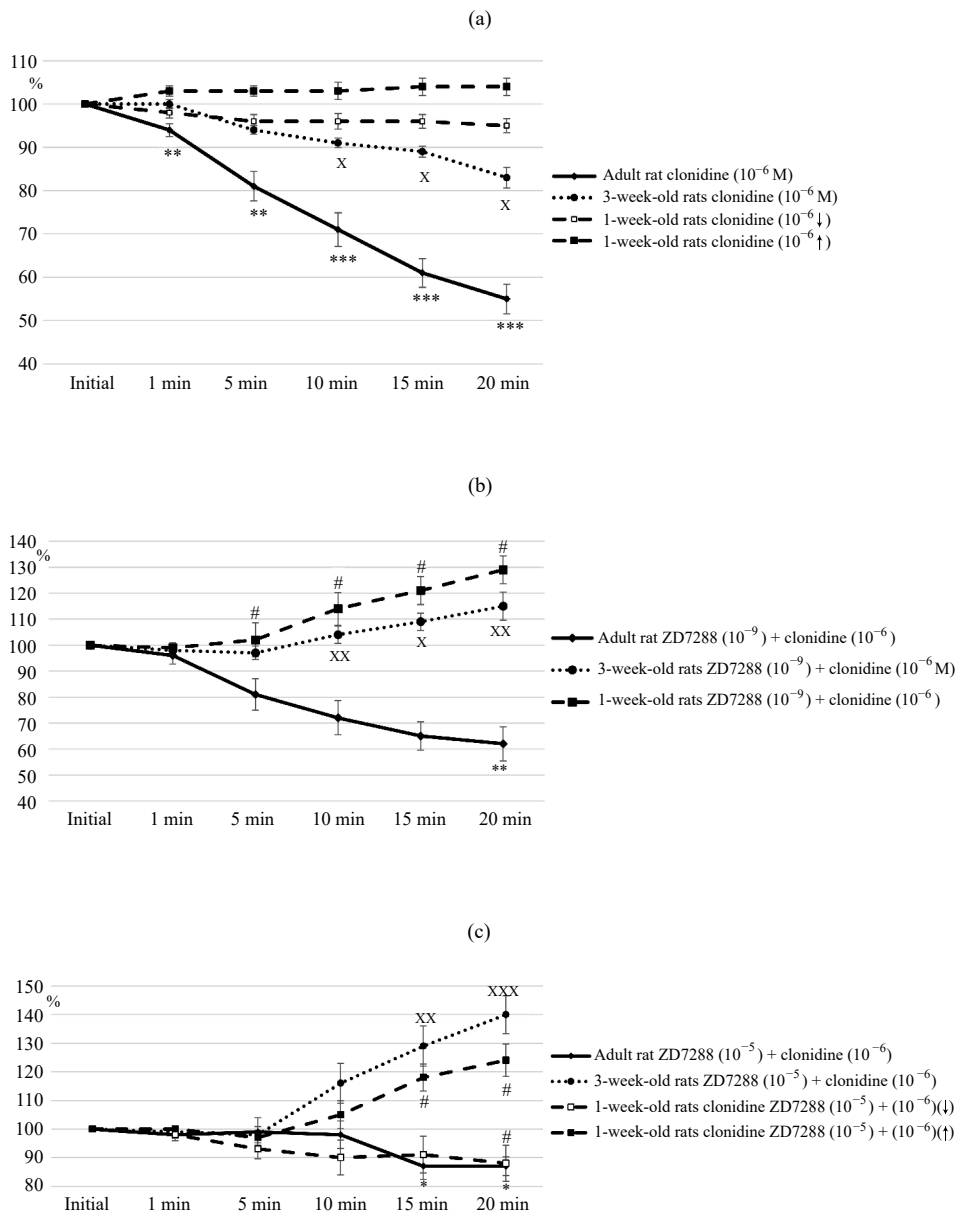


Рис. 3. Влияние стимуляции агонистом альфа₂-адренорецепторов клонидином гидрохлоридом (10^{-6} М) (а) и стимуляции агонистом альфа₂-адренорецепторов клонидином гидрохлоридом (10^{-6} М) на фоне блокады If ZD7288 (10^{-9}) М (b), 10^{-5} М (c) на коронарный поток изолированного сердца крыс разного возраста. Ось ординат – частота сердечных сокращений (в %), ось абсцисс – время эксперимента в минутах. Достоверность указана по сравнению с исходными значениями: *X# – $p < 0.05$; **XX – $p < 0.01$; *** – $p < 0.001$. * – для группы взрослых крыс; X – для 3-недельных крыс; # – для новорожденных крыс.

изменяется на вазодилатацию при стимуляции α_2 -АР клонидином гидрохлоридом на фоне блокады If ZD7288 (10^{-9} М, 10^{-5} М), наиболее выраженный эффект наблюдался при использовании блокатора в высокой концентрации. Возможно, становление адренергических волокон и рецепторов в данный возрастной период связано с активной регуляцией коронарного русла и участием α_2 -АР, расположенных как в гладкомышечных, так и эндотелиальных клетках сосудов [31]. В группе новорожденных крысят активация α_2 -АР вызывала недостоверное разнонаправленное изменение КП. Стимуляции α_2 -АР на фоне блокады If (ZD7288, 10^{-9} М) приводила к достоверному увеличению КП, а на фоне блокады If (ZD7288, 10^{-5} М) наблюдалась разнонаправленная динамика изменения КП. Однако эффект вазодилатации более выражен, чем эффект вазоконстрикции. Таким образом, α_2 -адренергическая регуляция КП изолированного сердца крыс зависит от уровня сформированности симпатической иннервации сердца. Максимальное влияние активации α_2 -АР на КП наблюдается в группе половозрелых животных, наименьшее – у новорожденных крысят. Но если заблокировать If, то эффект стимуляции α_2 -АР у новорожденных и 3-недельных крысят меняет динамику и выраженность изменения КП. Возможно, регуляция просвета коронарных сосудов у животных данного возраста требует вовлечения не только α_2 -АР, но и токов, активируемых гиперполяризацией. Хотя их присутствие в коронарных артериях вызывает вопросы, поскольку в настоящее время имеются данные о наличии HCN-каналов только в гладкомышечных клетках лимфатических сосудов, воротной вены [32].

Агонист α_2 -АР вызывает разнонаправленное изменение ЧСС в группах новорожденных и взрослых крыс, лишь у 3-недельных крысят наблюдается снижение частоты сокращения. Стимуляция α_2 -АР на фоне блокады If (ZD7288, 10^{-9} М) не изменяет динамики ЧСС в группе 3-недельных крыс и отменяет разнонаправленные изменения ЧСС у взрослых крыс, вызывая уменьшение ЧСС, а у новорожденных крысят – увеличение ЧСС. Поскольку 3-недельный возраст характеризуется максимальной ЧСС на протяжении всего постнатального развития [24], моделирующее влияние α_2 -АР через If также направлено только на снижение ЧСС и может быть связано с предварительной блокадой If, вызвавшей брадикардию. Отсутствие симпато-парасимпатических взаимодействий у новорожденных животных требует включения различных уровней модуляции α_2 -АР в обеспечение адаптации сердца к меняющимся условиям.

По данным литературы, можно предположить несколько механизмов взаимодействия α_2 -АР и HCN-каналов. Клонидина гидрохлорид непосредственно ингибирует If [32], хотя наши эксперименты демонстрируют наличие существенных изменений ЧСС и КП и на фоне блокады HCN-каналов. С другой стороны, показано, что активация α_2 -АР через G-белки ведет к ингибированию токов, активируемых гиперполяризацией. Также возможно, что α_2 -АР могут быть связаны не только с цАМФ-путем, но и в некоторых клетках одновременно с инозитол-фосфатным путем. Соответственно, высвобождение Ca^{2+} при активации α_2 -АР может быть также связано с активацией протеинкиназы С. Кроме того, ингибирующее действие клонидина на токи, активируемые гиперполяризацией, связано не с уровнем цАМФ, а с активацией протеинкиназы С [33–34]. На этом фоне не совсем понятным является факт положительного хронотропного эффекта клонидина, который у новорожденных крысят не отменяется даже после блокады HCN-каналов. Таким образом, путь активации того или иного рецептора, по всей видимости, зависит от метаболических потребностей сердца и концентрации биологически активных веществ.

ВКЛАД АВТОРОВ

Идея работы и планирование эксперимента (К. А. М., З. Н. И., З. Т. Л.), сбор данных (К. А. М., И. Н. Г.), обработка данных (К. А. М., И. Н. Г.), написание и редактирование манускрипта (К. А. М., З. Н. И., З. А. Л., З. Т. Л.).

ИСТОЧНИКИ ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена за счет средств Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета (ПРИОРИТЕТ-2023).

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

Эксперименты с животными проводились в соответствии с международными рекомендациями по проведению биомедицинских исследований с лабораторными животными и были одобрены Этическим комитетом Казанского федерального университета, протокол № 39 от 22.12.2022 г.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Zefirov TL, Ziatdinova NI, Khisamieva LI, Zefirov AL (2011) Comparative analysis of the impact of α_1 - and α_2 -adrenoreceptor blockade on cardiac function in rats during postnatal ontogeny. *Bull Exp Biol Med* 151(6): 664–666.
<https://doi.org/10.1007/s10517-011-1410-0>
2. Зефирова ТЛ, Зиятдинова НИ, Хабибрахманов ИИ, Зефиров АЛ (2015) Возрастные особенности холинергической регуляции сердца крысы. *Рос физиол журн им ИМ Сеченова* 101(2): 189–199. [Zefirov TL, Ziatdinova NI, Khabibrakhmanov II, Zefirov AL (2015) Age-dependent peculiarities of the rat's heart cholinergic regulation. *Russ J Physiol* 101(2): 189–199. (In Russ)].
3. Taylor EW, Leite CAC, Sartori MR, Wang T, Abe AS and Crossley DA (2014) The phylogeny and ontogeny of autonomic control of the heart and cardiorespiratory interactions in vertebrates. *J Exp Biol* 217: 690–703.
<https://doi.org/10.1242/jeb.086199>
4. Maltsev AV, Evdokimovskii EV, Kokoz YM (2019) α_2 -Adrenoreceptor signaling in cardiomyocytes of spontaneously hypertensive rats starts to impair already at early age. *Biochem Biophys Res Commun* 512: 908e913.
<https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2019.03.117>
5. Robinson RB (1997) Developmental change in the voltage dependence of the pacemaker current, *if*, in rat ventricle cells. *Pflügers Arch* 433(4): 533–535.
<https://doi.org/10.1007/s004240050309>
6. Lipp JA, Rudolph AM (1982) Sympathetic nerve development in the rat and guinea-pig heart. *Biol Neonate* 21: 76–82.
<https://doi.org/10.1159/000240497>
7. Hongo M, Fujisawa S, Adachi T, Shimbo T, Shibata S, Ohba T, Ono K (2016) Age-related effects of dexmedetomidine on myocardial contraction and coronary circulation in isolated guinea pig hearts. *J Pharmacol Sci* 131(2): 118–125.
<https://doi.org/10.1016/j.jphs.2016.05.002>
8. Maltsev AV, Kokoz YM, Evdokimovskii EV, Pimenov OY, Reyes S, Alekseev AE (2014) Alpha-2 Adrenoreceptors and Imidazoline Receptors in Cardiomyocytes Mediate Counterbalancing Effect of Agmatine on NO Synthesis and Intracellular Calcium Handling. *J Mol Cell Cardiol* 68: 66–74.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2013.12.030>
9. Bao N, Tang B (2020) Organ-Protective Effects and the Underlying Mechanism of Dexmedetomidine. *Mediat Inflamm* 6136105.
<https://doi.org/10.1155/2020/6136105>
10. Rump LC, Riera-Knorrenschild G, Schwertfeger E, Bohmann C, Spillner G, Schollmeyer P (1995) Dopaminergic and α -adrenergic control of neurotransmission in human right atrium. *J Cardiovasc Pharmacol* 26: 462–470.
<https://doi.org/10.1097/00005344-199509000-00017>

11. Dudek M, Knutelska J, Bednarski M, Nowiński L, Zygmunt M, Mordyl B, Gluch-Lutwin M, Kazek G, Sapa J, Pytka K (2015) Comparison of the anorectic effect and safety of the alpha2-adrenoceptor ligands guanfacine and yohimbine in rats with diet-induced. PLoS One 10(10): 1327–1371. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0141327>
12. Knaus AE, Muthig V, Schickinger S, Moura E, Beetz N, Gilsbach R, Hein L (2007) Alpha2-adrenoceptor subtypes-unexpected functions for receptors and ligands derived from gene-targeted mouse models. Neurochem Int 51(5): 277–281. <https://doi.org/10.1016/j.neuint.2007.06.036>
13. Zefirov TL, Ziyatdinova NI, Khisamieva LI, Zefirov AL (2014) Effect of α_2 -adrenoceptor stimulation on cardiac activity in rats. Bull Exp Biol Med 157(2): 154–157. <https://doi.org/10.1007/s10517-014-2523-z>
14. Ziyatdinova NI, Kuptsova AM, Faskhutdinov LI, Zefirov AL, Zefirov TL (2018) Effect of α_2 -adrenoceptor stimulation on functional parameters of langendorff-isolated rat heart. Bull Exp Biol Med 165(5): 593–596. <https://doi.org/10.1007/s10517-018-4220-9>
15. Kokoz YM, Evdokimovskii EV, Maltsev AV (2019) Upregulation of α_2 -adrenoceptor synthesis in SHR cardiomyocytes: Recompense without sense – Increased amounts, impaired commands. Arch Biochem Biophys 674: 108109. <https://doi.org/10.1016/j.abb.2019.108109>
16. Yoshikawa Y, Hirata N, Kawaguchi R, Tokinaga Y, Yamakage M (2018) Dexmedetomidine maintains its direct cardioprotective effect against ischemia/reperfusion injury in hypertensive hypertrophied myocardium. Anesthesia and Analgesia 126(2): 443–452. <https://doi.org/10.1213/ANE.0000000000002452>
17. DiFrancesco D (2010) The role of the funny current in pacemaker activity. Circ Res 106(3): 434–446. <https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.109.208041>
18. Stillitano F, Lonardo G, Zicha S, Varro A, Cerbai E, Mugelli A, and Nattel S (2008) Molecular basis of funny current (If) in normal and failing human heart. J Mol Cell Cardiol 45: 289–299. <https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.04.013>
19. Sartiani L, Mannaioni G, Masi A, Romanelli MN, Cerbai E (2017) The Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide-Gated Channels: from Biophysics to Pharmacology of a Unique Family of Ion Channels. Pharmacol Rev 69: 354–395. <https://doi.org/10.1124/pr.117.014035>
20. Romanelli MN, Sartiani L, Masi A, Mannaioni G, Manetti D, Mugelli A, Cerbai E (2016) HCN Channels Modulators: The Need for Selectivity. Current Top Med Chem 16: 1764–1791. <https://doi.org/10.2174/1568026616999160315130832>
21. Schweizer PA, Yampolsky P, Malik R, Thomas D, Zehelein J, Katus HA, Koenen M (2009) Transcription profiling of HCN-channel isoforms throughout mouse cardiac development. Basic Res Cardiol 104: 621–629. <https://doi.org/10.1007/s00395-009-0031-5>
22. Mackiewicz U, Gerges JY, Chu S, Duda M, Dobrzynski H, Lewartowski B, Mączewski M (2014) Ivabradine protects against ventricular arrhythmias in acute myocardial infarction in the rat. J Cell Physiol 229: 813–823. <https://doi.org/10.1002/jcp.24507>
23. Yampolsky P, Nauck S, Koenen M, Mosqueira M, Witzemberger M, Brueh C, Schwoerer AP, Ehmke H, Thomas D, Katus HA, Schweizer PA, Geschwill P, Seyler C, Fink T, Kruska M, Fink RHA, Draguhn A (2019) Augmentation of myocardial If dysregulates calcium homeostasis and causes adverse cardiac remodeling. Nature Commun 10: 3295. <https://doi.org/10.1038/s41467-019-11261-2>
24. Zefirov TL, Ziyatdinova NI, Zefirov AL (2003) Effects of blockade of hyperpolarization-activated ion currents (Ih) on autonomic control of the heart in rats: Age-related peculiarities. Neurophysiology 35(6): 415–421. <https://doi.org/10.1023/B:NEPH.0000024602.05250.f1>
25. Ziyatdinova N, Kuptsova A, Sungatullina M, Galieva A, Zefirov T (2019) Comparative analysis of the influence of If blockade on newborn and adult rats Langendorff-isolated heart. Eur J Clin Inv 49: 144.
26. Купцова АМ, Зиятдинова НИ, Зефирова ТЛ (2019) Влияние блокады пейсмейкерных токов на сердце крыс при формировании адренергической иннервации. Рос физиол журн им ИМ

- Сеченова 105(10): 1294–1304. [Kuptsova AM, Ziyatdinova NI, Zefirov TL (2019) The Effect of the Pacemaker Current Blockade on the Rat Heart during the Formation of the Adrenergic Innervation. *Russ J Physiol* 105(10): 1294–1304. (In Russ)].
<https://doi.org/10.1134/S0869813919100042>
27. Zefirov TL, Gibina AE, Sergejeva AM, Ziyatdinova NI, Zefirov AL (2007) Age-Related Peculiarities of Contractile Activity of Rat Myocardium during Blockade of Hyperpolarization-Activated Currents. *Bull Exp Biol Med* 144(3): 273–275.
<https://doi.org/10.1007/s10517-007-0308-3>
 28. Bucchi A, Baruscotti M, Robinson RB, DiFrancesco D (2007) Modulation of rate by autonomic agonists in SAN cells involves changes in diastolic depolarization and the pacemaker current. *J Mol Cell Cardiol* 43: 39–48.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2007.04.017>
 29. Qu J, Cohen IS, Robinson RB (2000) Sympathetic innervation alters activation of pacemaker current (If) in rat ventricles. *J Physiol* 526: 561–569.
<https://doi.org/10.1111/j.1469-7793.2000.t01-1-00561.x>
 30. Robinson RB (1996) Autonomic receptor–effector coupling during postnatal development. *Cardiovasc Res* 31: 68–76.
 31. Козловский ВИ (2010) Роль эндотелия в вазодилатации, опосредованной различными подтипами адренорецепторов Журнал ГрГМУ 1: 32–35. [Kozlovsky VI (2010) The role of the endothelium in vasodilation mediated by various subtypes of adrenergic receptors. *J GrSMU* 1: 32–35. (In Russ)].
 32. Benzoni P, Bertoli G, Giannetti F, Piantoni C, Milanesi R, Pecchiari M, Barbuti A, Baruscotti M, Bucchi A (2021) The funny current: Even funnier than 40 years ago. Uncanonical expression and roles of HCN/f channels all over the body. *Progr Biophys Mol Biol* 166: 189e204.
<https://doi.org/https://doi.org/10.1016/j.pbiomolbio.2021.08.007>
 33. Knaus A, Zong X, Beetz N, Jahns R, Lohse M.J, Biel M, Hein L (2007) Direct Inhibition of Cardiac Hyperpolarization-Activated Cyclic Nucleotide–Gated Pacemaker Channels by Clonidine. *Arrhythmia/Electrophysiol* 115: 872–880.
<https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.106.667675>
 34. Ying-cong Y, Qing-tao M, Xia P, Zhong-yuan X, Xiang-dong C (2014) Dexmedetomidine produced analgesic effect via inhibition of HCN currents. *Eur J Pharmacol* 740: 560–564.
<http://dx.doi.org/10.1016/j.ejphar.2014.06.031>

Stimulation of Alpha-2 Adrenoreceptors against the Background of Hyperpolarization-Activated Current Blockade at Different Formation Stages of Cardiac Adrenergic Innervation

A. M. Kuptsova^{a, *}, N. I. Ziyatdinova^a, A. L. Zefirov^b,
N. G. Iskakov^c, and T. L. Zefirov^a

^aKazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia,

^bKazan State Medical University, Kazan, Russia,

^cVolga Region State University of Physical Culture, Sports and Tourism, Kazan, Russia

*e-mail: anuta0285@mail.ru

In different periods of postnatal development, the components of the autonomic nervous system, including specific receptors and neurotransmitters involved in controlling the functions of the cardiovascular system, are characterized by significant dynamics and variability. In humans and animals, α_2 -adrenergic receptors (α_2 -AR) and hyperpolarization-activated current (I_f) are widespread and participate in the regulation of many functions, but their modulating role at the stages of formation and development of adrenergic regulation of the developing heart has not been sufficiently studied. The study was conducted on isolated hearts of 1-, 3-week-old and adult sexually mature white rats. The heart rate and coronary flow (CF) of a Langendorff isolated rat heart were studied upon activation of α_2 -AR clonidine hydrochloride (10^{-6} M) against the background of I_f block ZD7288 (10^{-9} M, 10^{-5} M). In the group of newborn rat pups, α_2 -AR activation causes a multidirectional change in CF, and against the background of I_f blockade (10^{-9} M) causes a significant increase in CF, and against the background of I_f blockade (10^{-5} M), a multidirectional change in CF is observed. In the group of 3-week-old rat pups, α_2 -AR stimulation reduces CF, and against the background of preliminary I_f blockade, CF dynamics changes to positive. In adult rats, activation of α_2 -AR against the background of I_f blockade causes a decrease in CF. The α_2 -AR agonist causes a multidirectional change in heart rate in groups of newborn and adult rats, only in 3-week-old rats there is a decrease in heart rate. Stimulation of α_2 -AR against the background of I_f blockade does not change the dynamics of heart rate in the group of 3-week-old rats, and cancels only multidirectional changes in adult and newborn rat's heart rate, causing a decrease in heart rate, and an increase in heart rate in newborn rats. The obtained results show that α_2 -adrenergic regulation of the heart is modulated by I_f , the degree and direction of effects depends on the level of formation of sympathetic innervation of the heart.

Keywords: α_2 -adrenergic receptor, hyperpolarization-activated current, isolated heart, ontogenesis, rat