

УДК 612.17

ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ АДРЕНО- И ПУРИНОРЕЦЕПТОРОВ В РЕГУЛЯЦИИ СОКРАТИМОСТИ МИОКАРДА КРЫС В ПОСТНАТАЛЬНОМ ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2013 г. Т. А. Аникина, А. А. Зверев, Ф. Г. Ситдииков, И. Н. Анисимова

Казанский (Приволжский) федеральный университет

420008, г. Казань, ул. Кремлевская, д. 18

E-mail: Aleksei5@rambler.ru

Поступила в редакцию 26.04.12 г.

Окончательный вариант получен 28.12.12 г.

Агонист бета адренорецепторов изопроterenол и агонист пуринорецепторов 2-метилтио-АТФ оказывают положительное влияние на силу сокращения миокарда и проявляют разную эффективность в зависимости от возраста животных. Максимальный инотропный эффект агонистов на сократимость миокарда желудочков наблюдается у 21-суточных крысят. При изучении совместного влияния изопроterenола и 2-метилтио-АТФ выявлено, что у животных 21-суточного возраста при повышении симпатических регуляторных влияний на сердце, на фоне высокой функциональной активности β -адренорецепторов и P2X-рецепторов сердца совместное влияние агонистов приводит к развитию дополняющего друг друга эффекта в увеличении сократимости миокарда.

Ключевые слова: P2-пуринорецепторы, адренорецепторы, миокард, сократимость, онтогенез, АТФ.

DOI: 10.7868/S0475145013060025

Недавно установленные функции внеклеточной АТФ как трансмиттера и котрансммиттера, регулирующего разнообразные функции организма, в настоящее время находят все новые подтверждения и общее признание. Сегодня трудно найти клетку, в которой нет рецепторов для внеклеточной АТФ. В начале 70-х годов было установлено, что АТФ выделяется из нервных окончаний и взаимодействуют с пуриновыми рецепторами, обнаруженными во многих органах и тканях, в том числе сердечной мышце. Свое влияние АТФ реализуют через инотропные P2X и метаболитные P2Y-рецепторы. Разнообразие пуринорецепторов так велико, что оно превышает все подтипы рецепторов для классических гормонов и нейромедиаторов. Влияние АТФ может быть реализовано как ее прямым влиянием на кардиомиоциты, так и изменением активности регуляторных каналов сердца. Известно, что АТФ находится в везикулах вместе с классическими медиаторами: ацетилхолином или норадреналином и участвует в передаче нервных импульсов, выполняя функции котрансммиттера (Ralevik, Burnstock, 1991; A. Pelleg et al., 1997; G. Burnstock et al., 2006, 2009).

В сердечно-сосудистой системе P2-пуринорецепторы присутствуют на поверхности кардиомиоцитов предсердий, желудочков, проводящей

системы сердца, в эндотелии и гладкомышечных клетках стенок сосудов. Методами иммуногистохимии и полимеразно-цепной реакции с обратной транскрипцией показано присутствие P2X₂, P2X₅ подтипов инотропных P2-рецепторов на сарколемме кардиомиоцитов, P2X₁ и P2X₃ подтипов вблизи синаптических контактов нейронов с кардиомиоцитами (M. Hansen et al., 1999), P2X₁, P2X₂, P2X₄ – пуринорецепторов в предсердиях и желудочках (G. Vassort, 2001). А также P2Y_{1, 2, 4, 6, 11, 13, 14} подтипов рецепторов в целом сердце, на кардиомиоцитах (Webb et al., 1996; G. Vassort, 2001; Burnstock, 2009), сердечных миофибробластах (G. Vassort, 2001; Burnstock, 2009; Talasila et al., 2009); эндотелии и гладкомышечных стенках сосудов (Wang et al., 2002). Экспрессия P2Y-рецепторов в миокарде меняется в онтогенезе и усиливается для P2Y_{1, 2, 6}-подтипа рецепторов (Webb et al., 1996).

Положительные хронотропные и инотропные влияния экзогенной АТФ реализуются при участии P2X-рецепторов через кальций-зависимый механизм. Возбуждение P2X-рецепторов приводит к активации неселективных катионных каналов с преобладанием проницаемости для ионов кальция. Вызванная деполяризация клеточной мембраны приводит к дополнительному току Ca²⁺ внутрь клетки через потенциал-зависимые

кальциевые каналы L-типа и дополнительному поступлению кальция из саркоплазматического ретикулаума. Свободный кальций саркоплазмы соединяется с регуляторным белком тропонином, увеличивая образование актомиозиновых комплексов, запуская сократительный ответ. В ряде работ показана значительная роль внеклеточной АТФ в появлении кальциевых токов и развитии потенциала действия в клетках синусно-предсердного узла (F. Scamps, G. Vassort, 1990; A. Christie, 1992; Y. Qi and Y. Kwan, 1996). Большая часть P2Y-рецепторов (P2Y_{1,2,4,6,11}) связаны с Gq₁₁-белком, который активизирует фосфолипазу C с образованием инозитолфосфата, увеличением Ca²⁺ в клетке и последующим увеличением силы сокращения миокарда (Abbracchio et al., 2006; Talasila et al., 2009).

Исследования подтверждают наличие совместной секреции норадреналина, ацетилхолина и АТФ из симпатических и парасимпатических нервов и способность АТФ модулировать нервную передачу в сердце, увеличивая или ослабляя эффекты, производимые классическими медиаторами (S. Ennion 2000; C. Sesti et al., 2002; S. Boehm et al., 2002; Burnstock, 2006). Онтогенетический аспект пуринергической регуляции сердца практически не изучен и рассматривался только на взрослых организмах и в период их неонатального развития (Webb et al., 1996; Bogdanov et al., 1998; Hansen et al., 1999; Cheung et al., 2003). Можно предположить, что на ранних этапах постнатального онтогенеза, в условиях незрелости симпатических и парасимпатических регуляторных влияний на сердце, его рецепторного аппарата, возможны разные механизмы влияния АТФ на эффекты основных медиаторов.

Становление парасимпатических и симпатических влияний на сердце в постнатальном онтогенезе происходит постепенно: раньше обнаруживаются холинергические и позже, например, к концу 3-й недели у крыс, адренергические регуляторные влияния (Ф.Г. Ситдилов, Т.Л. Зефирова, 2006). По другим данным становление симпатической регуляции сердца у крыс продолжается с 3 по 6 неделю (S. Rockson et al., 1981; R. Xiao et al., 1995). Однако сердце имеет возможность адекватного реагирования и при незрелости этих механизмов регуляции. В связи с этим необходимы механизмы, которые могли бы компенсировать недостаточность симпатической регуляции сердца.

В жизненном цикле крыс от рождения до 100-суточного возраста осуществляются значительные структурно-функциональные и регуляторные изменения сердечно-сосудистой системы, происходит созревание рецепторного аппарата сердца, перестраиваются симпато-адреналовая и эндокринная системы. В своих экспериментах мы придерживались общепринятой в настоящее время классификации постнатального развития бе-

лых лабораторных крыс (И.П. Западнюк и др., 1983). Крысы в возрасте 14-, 21-, 100-суток соответствуют среднемолочному, молочному и половозрелому периодам развития и имеют разную степень зрелости и активности регуляторных влияний на сердце. У 14-суточных крысят симпатическая иннервация сердца еще не сформирована. Для этого возраста характерно ее минимальное присутствие в сердце. 21-суточные крысят характеризуются повышением активности симпатической нервной системы. У 21- и 28-суточных животных зафиксированы максимальные значения ЧСС (Т.А. Аникина, Г.А. Билалова 2004; Т.Л. Зефирова, Ф.Г. Ситдилов, 2006). С 21 по 30 день постнатального развития крыс установлены максимальные среднесуточные приросты массы сердца (Р.Р. Нигматуллина, 1991). При таком подходе, на наш взгляд, удастся охватить основные периоды развития крыс и проследить формирование регуляции сердечной деятельности в разные этапы постнатального онтогенеза.

Целью исследования является изучение совместного влияния агонистов адрено- и пуринорецепторов на сократимость миокарда крыс 14-, 21- и 100-суточного возраста.

МЕТОДИКА ИССЛЕДОВАНИЯ

Эксперименты проводили на 238 белых лабораторных крысах 14-, 21- и 100-дневного возраста в соответствии с «Правилами проведения работ с использованием экспериментальных животных». Наркотизировали животных 25%-ным раствором уретана из расчета 1.2 г/кг массы тела. Регистрировали амплитуду изометрического сокращения полосок миокарда на установке «PowerLab» с программным обеспечением «Chart 5.0» препарат фиксировали вертикально одним концом к датчику силы MLG 050/D, другим – к точке опоры, затем каждый препарат погружали в отдельный резервуар объемом 10 мл, в который подавался рабочий раствор Кребса следующего состава: (в мМ) NaCl – 133, KCl – 4.7, MgCl₂ – 0.6, NaH₂PO₄ – 1.35, CaCl₂ – 2.5, глюкоза – 7,8 и карбоген (95% O₂ и 5% CO₂). Для поддержания pH в пределах 7.35–7.40 в раствор добавляли основной и кислотный буферы Trizma («Sigma»). Препараты стимулировали через платиновые электроды. В качестве агонистов P2X и P2Y₁-рецепторов использовали 2-метилтио-АТФ (2-м-АТФ), а β_{1,2}-адренорецепторов изопротеренол. Регистрировали амплитуду сокращения полосок миокарда предсердий и желудочков и рассчитывали реакцию силы сокращения в ответ на действие агонистов в абсолютных значениях и в процентах от исходного. За 100%, принимали исходные сокращения полосок миокарда, относительно них рассчитывали влияние используемых фармакологических агентов.

Сократимость миокарда 14–100-сут крыс при действии изопротеренола разных концентраций

Возраст (<i>n</i>)	Концентрация	Сила сокращения (в % от исх.)	
		предсердия	желудочки
14 суток (<i>n</i> = 4) (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 4)	Изопротеренол 10^{-4} М	103.6 ± 3.9*	102.1 ± 3.7*
	Изопротеренол 10^{-3} М	222.5 ± 9.4*	196.9 ± 25.5*
	Изопротеренол 10^{-2} М	162.1 ± 10.2*	156.6 ± 23.1*
21 сутки (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 10)	Изопротеренол 10^{-13} М	106.3 ± 5.8*	107.1 ± 7.2*
	Изопротеренол 10^{-12} М	143.9 ± 4.7*	129.3 ± 1.9*
	Изопротеренол 10^{-11} М	156.2 ± 5.9*	136.6 ± 3.7*
56 суток (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 10)	Изопротеренол 10^{-12} М	103.4 ± 5.4	104.7 ± 6.8
	Изопротеренол 10^{-11} М	140.8 ± 14.6*	151.4 ± 9.0
	Изопротеренол 10^{-10} М	158.0 ± 10.2*	163.0 ± 13.1
100 суток (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 10) (<i>n</i> = 10)	Изопротеренол 10^{-7} М	101.3 ± 3.7	102.6 ± 4.2
	Изопротеренол 10^{-6} М	123.1 ± 3.2*	154.6 ± 6.7*
	Изопротеренол 10^{-5} М	122.6 ± 4.1*	154.2 ± 6.7*

Примечание. * – достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0.05$, ** – достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0.01$.

Для определения модулирующего влияния 2-м-АТФ на эффект изопротеренола записывали контрольное действие изопротеренола в течение 20 мин. Затем полоски отмывали и записывали исходную сократимость миокарда в течение 10 мин, вновь добавляли изопротеренол и на 10 мин добавляли 2-м-АТФ. Также проводили эксперимент с обратной последовательностью подачи веществ, когда изопротеренол на 10 мин добавляется на фоне положительного эффекта агониста Р2-пуринорецепторов. Используемые реактивы производства “Sigma”.

Достоверность различий рассчитывали по парному и непарному *t* критерию Стьюдента ($p \leq 0.05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Для определения возрастных особенностей чувствительности $\beta_{1,2}$ -адренорецепторов миокарда изучали влияние стойкого агониста этих рецепторов – изопротеренола в диапазоне концентраций 10^{-13} – 10^{-2} М. Чувствительность адрено-, и пуринорецепторов миокарда определяли величиной пороговой дозы вводимых агонистов. Повышение чувствительности органа к вводимому веществу может быть вызвано повышением эндогенного количества этого вещества и достаточно небольших экзогенных доз для того, чтобы вызвать пороговую реакцию. Известно, что изменение чувствительности сердца к норадреналину зависит от состояния мембранных рецепторов кардиомиоцитов, их плотности на поверхности мембраны и степени сопряжения рецепторов с аденилатциклазой. Плотность β -адренорецепторов в клеточной мембране кардиомиоцитов зависит от различных факторов. Например, она нахо-

дится в обратно-пропорциональной зависимости от количества катехоламинов. При усилении активности симпатического отдела вегетативной нервной системы, т.е. увеличении концентрации НА в сердце количество и чувствительность β -адренорецепторов снижается с возрастом (Ф.Г. Ситдиков, Т.Л. Зефилов, 2006; Е. Lakatta, 1993).

В наших экспериментах на изолированных полосках миокарда предсердий и желудочков изопротеренол оказывает дозозависимое влияние и проявляет разную эффективность в зависимости от возраста животных. Пороговая концентрация изопротеренола, вызывающая достоверное увеличение силы сокращения миокарда предсердий и желудочков у 14-суточных составила 10^{-3} М. Сократимость желудочков возрастает на $122.5 \pm 9.40\%$, предсердий на $96.96 \pm 25.5\%$. Агонист в концентрации 10^{-2} М увеличивает сократимость предсердий на $62.1 \pm 10.2\%$, желудочков на $56 \pm 23.1\%$. В концентрации 10^{-4} М сократимость миокарда достоверно не изменялась. У 21-суточных животных пороговая концентрация изопротеренола составила 10^{-12} М. Сократимость предсердий увеличивается на $43.9 \pm 4.7\%$, желудочков на $29.31 \pm 1.85\%$. У животных этого возраста изопротеренол оказывал эффективное влияние на сократимость миокарда также в концентрациях 10^{-11} – 10^{-5} М. У 100 сут крыс концентрация изопротеренола 10^{-6} М является пороговой величиной. Сократимость предсердий увеличивается на $23.10 \pm 3.20\%$, желудочков на $54.60 \pm 6.70\%$. Концентрация 10^{-7} М была не эффективной, а изопротеренол в концентрации 10^{-5} М увеличивал сократимость миокарда предсердий и желудочков на 22.6 ± 4.1 и 54.2 ± 6.7 соответственно (таблица).

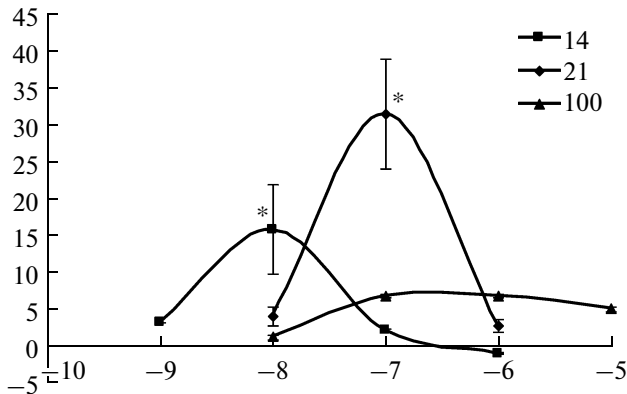


Рис. 1. Дозозависимый эффект 2-метилтио-АТФ на сократимость миокарда предсердий растущих крыс. Примечание: * – достоверность по сравнению с исходным значением: $p < 0.05$.

Реакция силы сокращения миокарда предсердий в ответ на пороговые концентрации изопротеренола снижается от 21- к 100-суточному возрасту ($p < 0.05$), а сила сокращения миокарда желудочков, наоборот, от 21- к 100-суточному возрасту повышается ($p < 0.05$).

Ранее нами проведены исследования по определению дозозависимого эффекта агониста пуринорецепторов, стойкого аналога АТФ – 2-м-АТФ на силу сокращения миокарда (Аникина и др. 2008). Пороговая концентрация 2-м-АТФ, вызывающая положительный инотропный эффект миокарда предсердий и желудочков у 14-суточных составила 10^{-8} М, у 21-суточных животных

10^{-7} М, у 100-суточных – 10^{-6} М. Концентрация агониста пуринорецепторов, вызывающая положительный инотропный эффект от 14- к 100-суточному возрасту повышается, что указывает на более высокую чувствительность пуринорецепторов миокарда на ранних этапах онтогенеза. У 14-суточных крысят агонист пуринорецепторов увеличивает силу сокращения миокарда предсердий на $15.4 \pm 2.06\%$ и миокарда желудочков на $25.8 \pm 6.1\%$ ($p < 0.01$; $n = 10$). У 21-дневных агонист в концентрации 10^{-7} М увеличивает силу сокращения миокарда предсердий и желудочков приблизительно на $31.3 \pm 5.8\%$ ($p < 0.01$; $n = 10$). У 100-суточных крыс агонист в концентрации 10^{-6} М увеличивает силу сокращения на $6.5 \pm 0.2\%$ ($n = 10$). Максимальная реакция силы сокращения миокарда предсердий и желудочков при действии пороговой концентрации 2-м-АТФ наблюдается у 21- и 14-сут крысят (рис. 1).

У крыс развитие миокарда происходит в ранние сроки постнатального онтогенеза (Швалев и др., 2007). С 3-х недельного возраста совершенствуется сократительный аппарат миокарда крыс. Деление кардиомиоцитов полностью прекращается к 21- суткам жизни, и в период с 21 по 30 день идет их усиленный рост. В этом возрасте в кардиомиоцитах преобладает Ca^{2+} -индуцированное освобождение Ca^{2+} из СПР, необходимого для активации сокращения (Escobar et al., 2004) и в желудочках крыс Ca^{2+} каналы Т-типа заменяются на Ca^{2+} -каналы L-типа (Ferron et al., 2002). Таким образом, функциональные системы кардиомиоцитов начинают выходить на определенный ста-

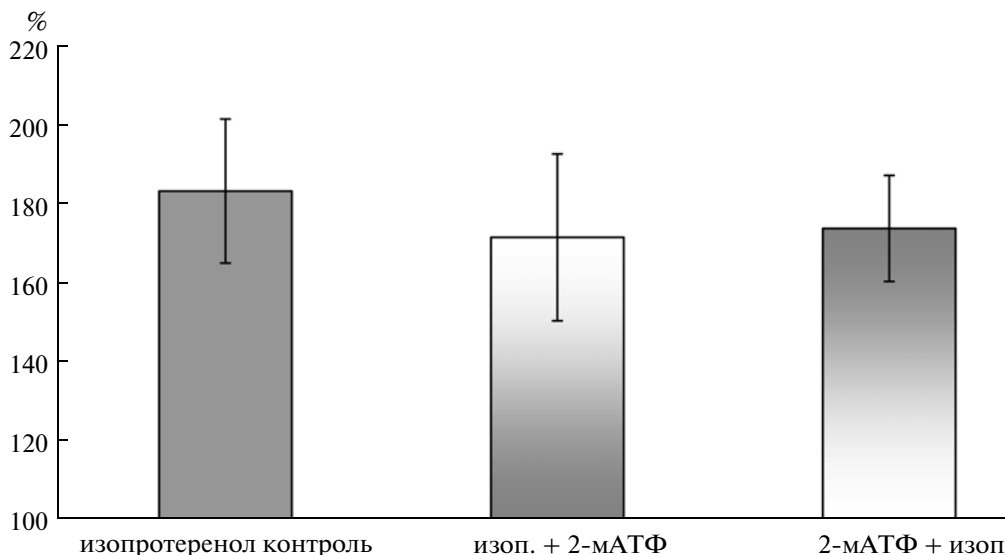


Рис. 2. Совместное влияние изопротеренола и 2-метилтио-АТФ на силу сокращения миокарда желудочков у 14-суточных крыс.

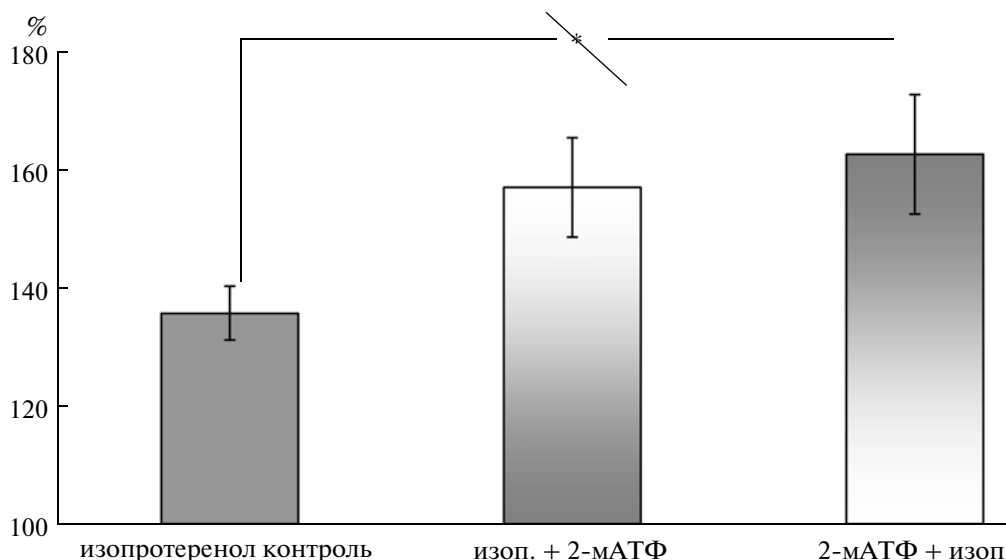


Рис. 3. Совместное влияние изопротеренола и 2-метилтио-АТФ на силу сокращения миокарда предсердий у 21-суточных крыс.

бильный уровень, характерный для взрослого организма. Возможно, поэтому максимальный инотропный эффект миокарда желудочков на действие изопротеренола и 2-м-АТФ проявляется у 21-суточных крысят.

Изучение взаимодействия адренорецепторов и пуринорецепторов сердца является необходимым, так как исследуемые системы функционируют одновременно и имеют ярко выраженные возрастные особенности на ранних этапах постнатального онтогенеза.

Совместное влияние изопротеренола и 2-м-АТФ изучали при последовательном добавлении стойкого аналога P2X- и P2U₁-рецепторов — 2-м-АТФ на фоне действия изопротеренола. Также проводились эксперименты с обратной последовательностью подачи веществ, когда изопротеренол добавляется на фоне эффекта агониста P2-пуринорецепторов. В эксперименте использовали пороговые концентрации агонистов для каждого возраста.

У 14-суточных животных в миокарде желудочков добавление 2-м-АТФ в концентрации 10^{-8} М уменьшает положительный инотропный эффект изопротеренола (10^{-3} М) на 6.3%. Сократимость желудочков к 30 мин снижается и эффект обоих агонистов составляет $171.31 \pm 21.11\%$, что меньше положительного эффекта одного изопротеренола в контроле ($181.03 \pm 18.02\%$). Усиливающие влияние 2-м-АТФ на сократимость миокарда желудочков, которое в контроле составляло 25.8% не сохраняется. При обратной последовательности подачи веществ общее увеличение сократимости миокарда составило $173.56 \pm 13.46\%$. У 14-суточных крысят в предсердиях при добавлении 2-м-АТФ на фоне развивающегося положительного действия изопротеренола, общий эффект обоих агонистов

при совместном влиянии составляет сумму влияний изопротеренола и 2-м-АТФ при независимой активации рецепторов.

У 21-суточных животных в контроле изопротеренол в концентрации 10^{-12} М увеличивает силу сокращения миокарда предсердий до $137.6 \pm 4.5\%$. При добавлении 2-м-АТФ (10^{-7} М) на фоне изопротеренола сила сокращения увеличивается до $156.8 \pm 8.4\%$, что превышает действие одного изопротеренола в контроле ($p < 0.05$), но не достигает суммарного ответа агонистов при независимой активации рецепторов, который составляет 168.7% (рис. 3). Добавление 2-м-АТФ на фоне изопротеренола увеличивает сократимость желудочков до 139.3%, что превышает эффект одного изопротеренола в контроле (124.8 ± 1.7 ; $p < 0.05$). При обратной последовательности подачи веществ общий эффект влияния обоих агонистов не изменяется и составляет $141.6 \pm 4.0\%$.

У 100-суточных животных добавление 2-м-АТФ в присутствии изопротеренола в предсердиях и желудочках мало изменяет его действие в контроле. в контроле изопротеренол в концентрации 10^{-6} М увеличивает силу сокращения миокарда предсердий до $124.7 \pm 4.8\%$. При добавлении 2-м-АТФ (10^{-6} М) на фоне изопротеренола сила сокращения увеличивается до $134.9 \pm 4.3\%$. При обратной последовательности подачи веществ общий эффект влияния обоих агонистов не изменяется и составляет $135.3 \pm 3\%$. Добавление 2-м-АТФ на фоне изопротеренола увеличивает сократимость желудочков до $144.6 \pm 6.7\%$, что соответствует эффекту одного изопротеренола в контроле ($141.9 \pm 5.6\%$). При обратной последовательности подачи веществ общий эффект влияния обоих агонистов не изменяется и составляет $145.0 \pm 6.9\%$. У 100-суточных

животных в предсердиях добавление 2-МАТФ мало изменяет эффект изопротеренола в контроле, а в желудочках усиливающее влияние изопротеренола при добавлении 2-м-АТФ не наблюдается.

Таким образом, у 21-суточных животных положительный инотропный эффект совместного влияния агонистов P2-пуринорецепторов 2-м-АТФ и β -адренорецепторов изопротеренола является дополняющим т.е. аддитивным. При повышении уровня симпатической активности, на фоне высокой функциональной активности β -адренорецепторов и P2X-рецепторов сердца крыс 21-суточного возраста совместное действие агонистов приводит к развитию дополняющего друг друга эффекта в увеличении сократимости миокарда.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аникина Т.А., Билалова Г.А., Ситдигов Ф.Г. Влияние блокады бета адренорецепторов на сердечную деятельность крыс в постнатальном онтогенезе // Бюлл. exper. биол. мед. 2004. Т. 136. № 9. С. 265–268.
- Аникина Т.А., Ситдигов Ф.Г. Пуринорецепторы сердца в онтогенезе. Казань, 2011. 166 с.
- Аникина Т.А., Ситдигов Ф.Г., Зверев А.А., Билалова Г.А., Хамзина Е.Ю. Пуринергическая регуляция деятельности сердца крысы в онтогенезе // Онтогенез. 2008. Т. 39. № 5. С. 333–339.
- Западнюк И.П., Западнюк И.В., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Развитие содержание, использование в эксперименте. Учебное пособие для студентов биол. вузов. Киев, 1983. 383 с.
- Нигматуллина Р.Р. Регуляция сердечного выброса крыс, развивающихся в условиях различных двигательных режимов. Автореф дис. ... канд. биол. наук. Казань: КГПИ, 1991. 40 с.
- Ситдигов Ф.Г., Зефирова Т.Л. Лекции по возрастной физиологии сердца. Казань, 2006. 102 с.
- Швалев В.Н. Возрастные изменения регуляторных механизмов сердечно-сосудистой системы и значение синтазы оксида азота в норме и при патологии // Кардиология. 2007. Т. 47. № 5. С. 67–72.
- Abbracchio M.P. Update and subclassification of the P2Y G protein-coupled nucleotide receptors: from molecular mechanisms and pathophysiology to therapy // Rev. Pharmacol. 2006. 58. P. 281–341.
- Boehm S., Kubista H. Fine tuning of sympathetic transmitter release via ionotropic and metabotropic presynaptic receptors // Pharmacol. Rev. 2002. V. 54. № 1. P. 43–99.
- Bogdanov Y., Rubino A., Burnstock G. Characterization of subtypes of the P2X and P2Y families of ATP receptors in the foetal human heart // Life Sci. 62. 1998. P. 697–703.
- Burnstock G. Purinergic signaling // Brit. J. Pharmacol. 2006. V. 147. P. 172–187.
- Burnstock G. Purines and Purinoceptors: Molecular Biology Overview. Encyclopedia of Neuroscience // Oxford: Academic Press. 2009. V. 7. P. 1253–1262.
- Christie A., Sharma V.K., Sheu S.S. Mechanism of extracellular ATP-induced increase of cytosolic Ca^{2+} concentration in isolated rat ventricular myocytes // J. Physiol. (Lond.). 1992. V. 445. P. 369–438.
- Cheung K.K., Ryten M., Burnstock G. Abundant and dynamic expression of G protein-coupled P2y receptors in mammalian development // Developmental dynamics. 2003. V. 228. P. 254–266.
- Ennion S., Hagan S., Evans R.J. The role of positively charged amino acids in ATP recognition by human P2X1 receptors // J. Biol. Chem. 2000. V. 275. P. 29361–29367.
- Escobar A.L., Ribeiro-Costa R., Villalba-Galea C., Zoghbi M.E., Pérez C.G., Mejna-Alvarez R. Developmental changes of intracellular Ca^{2+} transients in beating rat hearts // Am. J. Physiol. Heart. Circ. Physiol. 2004. V. 286. P. 971–978.
- Ferron L., Capuano V., Deroubaix E., Coulombe A., Renaud J.F. Functional and molecular characterization of a T-type Ca^{2+} channel during fetal and postnatal rat heart development // J. Mol. Cell Cardiol. 2002. V. 34(5). P. 533–546.
- Hansen M.A., Bennett M.R., Barden J.A. Distribution of purinergic P2X receptors in the rat heart // J. Auton. Nerv. Syst. 1999. V. 78:1. P. 1–9.
- Lakatta E.G. Cardiovascular regulatory mechanisms in advanced age // Physiol. Rev. 1993. V. 73. P. 413–467.
- Pelleg A., Katchanov G., Xu J. Autonomic neural control of cardiac function: modulation by adenosine and adenosine 5'-triphosphate // Am. J. Cardiol. 1997. V. 79 (12A). P. 11–14.
- Qi A.D., Kwan Y.W. Modulation by extracellular ATP of L-type calcium channels in guinea pig single sinoatrial nodal cell // Br. J. Pharmacol. 1996. V. 119. P. 1454–1462.
- Ralevic V., Burnstock G. Roles of P2-purinoceptors in the cardiovascular system // Circulation. 1991. V. 84. P. 1–14.
- Rockson S., Homsy C., Quinn P., Manders W., Haber E. Cellular mechanisms of impaired adrenergic responsiveness in neonatal dogs // J. Clin. Invest. 1981. V. 67. P. 308–312.
- Scamps F., Vassort G. Mechanism of extracellular ATP-induced depolarization in rat isolated ventricular cardiomyocytes // Pflugers. Arch. 1990. V. 417. P. 309–316.
- Sesti C., Broekman M.J., Drosopoulos J.H., Islam N., Marcus A.J., Levi R. EctoNucleotidase in cardiac sympathetic nerve endings modulates ATP-mediated feedback of norepinephrine release // J. Pharmacol. Exp. Ther. 2002. V. 300 (2). P. 605–611.
- Talasila A., Germack R., Dickenson J.M. Characterization of P2Y receptor subtypes functionally expressed on neonatal rat cardiac myofibroblasts // Br. J. Pharmacol. 2009. 158(1). P. 339–353.
- Vassort G. Adenosine 5'-triphosphate: a P2-purinergic agonist in the myocardium // Physiol. Rev. 2001. V. 81. № 2. P. 767–806.
- Wang, Z., Wilson, G.F., Griffith, L.C. Calcium/calmodulin-dependent protein kinase II phosphorylates and regulates the Drosophila eag potassium channel // J. Biol. Chem. 2002. P. 24022–24029.
- Webb T.E., Boluyt M.O., Barnard E.A. Molecular biology of P2Y purinoceptors: expression in heart // J. Auton. Pharmacol. 1996. V. 16. P. 303–307.
- Xiao R.P., Ji X., Lakatta E.G. Functional coupling of the b2-adrenoceptor to a pertussis toxin-sensitive G protein in cardiac myocytes // Mol. Pharmacol. 1995. 47. P. 322–329.

Interaction of Adrenergic and Purinergic Receptors in the Regulation of Rat Myocardial Contractility in Postnatal Ontogeny

T. A. Anikina, A. A. Zverev, F. G. Sitdikov, and I. N. Anisimova

Kazan (Volga) Federal University, ul. Kremlevskaya 18, Kazan, 420008 Tatarstan, Russia

e-mail: Aleksei5@rambler.ru

Received April 26, 2012; in final form, December 28, 2012

Abstract— β -Adrenergic receptor agonist isoproterenol and purinergic receptor agonist 2-methylthio-ATP have a positive effect on the myocardial contractile force and show different efficiencies depending on the age of animals. The maximum inotropic effect of agonists on the ventricular myocardial contractility was observed in 21-day-old rat pups. The study of a combined effect of isoproterenol and 2-methylthio-ATP showed that an increase in the sympathetic regulatory effects on the heart of 21-day-old animals, against the background of a high functional activity of β -adrenergic receptors and P2X receptors of the heart, a combined administration of the agonists led to a mutually complementing effect of an increase in the myocardial contractility.

Keywords: P2 purinergic receptors, adrenergic receptors, myocardium, contractility, ontogeny, ATP