

ФИЗИОЛОГИЯ РАЗВИТИЯ

УДК 612.17

ПУРИНЕРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ ДЕЯТЕЛЬНОСТИ СЕРДЦА КРЫСЫ В ОНТОГЕНЕЗЕ

© 2008 г. **Ф. Г. Ситдилов, Т. А. Аникина, А. А. Зверев, Г. А. Билалова, Е. Ю. Хамзина***

*Татарский государственный гуманитарно-педагогический университет
420021 Казань, ул. Татарстан, д.2*

**Федеральный центр токсикологической и радиационной безопасности животных – ВНИВИ
420075 Казань, Научный городок-2
E-mail: Alekcei5@rambler.ru*

Поступила в редакцию 31.10.07 г.
Окончательный вариант получен 13.12.07 г.

Исследовали влияние экзогенных АТФ и его аналогов на деятельность сердца крыс 14–100-суточного возраста. Показано, что внеклеточные пурины оказывают положительные хронотропный и кардиотропный эффекты на сердце. Внутривенное введение экзогенного АТФ и его стойких аналогов вызывает дозозависимое увеличение частоты сердечных сокращений в зависимости от возраста животных. При анализе изометрического сокращения полосок миокарда установлено, что АТФ также вызывает дозозависимый положительный инотропный эффект. Использование селективных агонистов и блокаторов позволило определить семейство и подтип P2-рецепторов, реализующих положительный хроно- и инотропный эффекты. Показано, что наибольшей чувствительностью P2X-рецепторы обладают на ранних этапах постнатального онтогенеза. Возрастные особенности реакции рецепторов на действие экзогенных пуринов указывают на гетерохронное созревание рецепторов P2X и P2Y в миокарде.

Ключевые слова: P2-рецепторы, миокард, АТФ, онтогенез.

АТФ является многофункциональным нуклеотидом, известным в биохимии как “энергетическая валюта клетки” (Champe, Hurvey, 2004) и обеспечивающим нормальное протекание процессов фотосинтеза, клеточного дыхания и фосфорилирования различных белков. АТФ – это один из мономеров, необходимых для синтеза нуклеиновых кислот, а также донатор фосфатных групп для молекул системы вторичных посредников, например протеинкиназ (Champe, Hurvey, 2004). За последние годы накопилось много данных о том, что АТФ кроме внутриклеточной роли макроэргического соединения может принимать участие в межклеточной передаче сигналов, где выступает в качестве трансмиттера или котрансмиттера (Ralevic, Burnstock, 1991). В 1970-е гг. Бернсток объединил все имеющиеся сведения о медиаторных свойствах АТФ и аденозина, опубликовав их в ставшем сегодня классическим обзоре (Burnstock, 1972). В дальнейших экспериментах было установлено, что АТФ и аденозин могут выделяться различными клетками, в первую очередь нервными (White, 1984; Zimmermann, 1994), было зарегистрировано также высвобождение этих пуринов из клеток сердечной мышцы (Forrester et al., 1990; Katsuragi et al., 1993.)

Участие АТФ в регуляции физиологических функций многих органов и систем осуществляется через специфические P2-рецепторы. Согласно современной классификации, имеются два их больших семейства: P2X- и P2Y-рецепторы. К настоящему времени описано семь подтипов P2X-рецепторов и восемь подтипов P2Y-рецепторов, отличающихся особенностями молекулярной структуры и чувствительностью к действию различных производных пуриновых и пиримидиновых нуклеотидов. (Abbracchio et al., 2003). P2X-рецепторы по механизму действия являются селективными ионными каналами с почти равной проницаемостью для ионов Na^+ , K^+ и значительной проницаемостью для Ca^{2+} , отвечающими за быстрые ответы АТФ. P2Y-рецепторы – медленно функционирующие рецепторы, связанные с G-белками. Возбуждение P2-рецепторов происходит с помощью микромолярных концентраций внеклеточной АТФ (Ralevic, 1998; Vassort, 2001). В кардиомиоцитах действуют и P2X-, и P2Y-рецепторы (Ralevic, Burnstock, 1991). Сердце находится под комплексным контролем симпатических и парасимпатических нервов, а P2-рецепторы функционируют и на вегетативных нервных окончаниях. Известно, что АТФ находится в везикулах вместе с ацетилхолином или норадреналином и участвует в передаче нервных импульсов, выделя-

ясы из нервных окончаний вместе с основными медиаторами, т.е. является котрансмиттером. Исследования подтверждают наличие совместной секреции норадреналина, ацетилхолина и АТФ из симпатических и парасимпатических нервов, что подтверждает способность АТФ модулировать нервную передачу в сердце (Ennion et al., 2000; Boehm, Kubista, 2002). Таким образом, действие АТФ может быть реализовано как напрямую на кардиомиоциты, так и изменением активности регуляторных каналов сердца.

Имеются убедительные данные о хронотропных, инотропных и аритмогенных эффектах воздействия АТФ на сердце. АТФ в небольших количествах вызывает кратковременную тахикардию, а в высоких замедляет работу сердца, вызывая атриовентрикулярную блокаду (Vassort, 2001). Существует ряд экспериментальных доказательств прямого действия АТФ на сердце, независимо от его превращения в аденозин. Результаты исследований, в которых изучалось влияние АТФ на функции сердца, носят противоречивый характер.

АТФ считается одним из наиболее филогенетически древних нейромедиаторов. Подтверждением этой гипотезы является тот факт, что внеклеточные эффекты АТФ обнаружены у примитивных организмов, включающих бактерии, диатомовые и морские водоросли (Burnstock, Kind, 1996). Более того, рецепторы к АТФ в развитии животных появляются одними из первых. Внеклеточные рецепторы к АТФ наряду с М-холинорецепторами являются первыми функционально активными мембранными рецепторами, выявляемыми уже в период формирования зародыша (Shachter et al., 1997). Следует отметить, что онтогенетический аспект проблемы практически не изучен, и пуринергическая регуляция сердца рассматривалась только на взрослых организмах и в период их неонатального развития (Browse, 2003). Можно предположить, что прямые и модулирующие эффекты АТФ определяются развитием центральных, эфферентных, симпатических и парасимпатических регуляторных влияний на сердце – его рецепторным аппаратом, т.е. зависят от этапов биологического созревания организма.

Цель настоящего исследования – изучение роли АТФ и его аналогов в деятельности сердца крыс в онтогенезе, а также определение типа, семейства и подтипов P2-рецепторов, участвующих в хронотропной и сократительной функциях сердца.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В жизненном цикле крыс выявлено три фазы: 1) прогрессивного роста – от рождения до 4 мес, 2) зрелости – до 20 мес, 3) старческая – до 40 мес (Западный и др., 1983). Спецификой первой фазы является половое созревание, которое обеспечи-

вается интенсивной деятельностью желез внутренней секреции, существенной перестройкой всех физиологических систем и органов. От рождения до 100-суточного возраста осуществляются значительные структурно-функциональные и регуляторные изменения сердечно-сосудистой системы, происходит созревание рецепторного аппарата сердца, перестраиваются симпатическая и адренальная и эндокринная системы. Использовали белых беспородных крыс в возрасте 14, 21, 56, 100 сут, соответствующих среднему, молочному, пубертатному и половозрелому периодам развития.

Наркотизировали белых беспородных крыс 25%-ным раствором уретана из расчета 1.2 г/кг массы тела. Общее число использованных животных составило 500. В опытах *in vitro* регистрировали амплитуду и длительность изометрического сокращения полосок миокарда предсердий и желудочков на установке PowerLab (“ADInstruments”, Австралия) с датчиком силы MLT 050/D. Полоски фиксировали вертикально одним концом к датчику силы, другим – к точке опоры. Исходные параметры сокращения регистрировали 10 мин в рабочем растворе Кребса, pH 7.35–7.4, а затем в течение 20 мин с добавлением одного из агонистов в последовательно возрастающих концентрациях. По окончании стимуляции АТФ или 2-метилтио-АТФ одной из концентраций препараты трехкратно отмывали раствором Кребса в течение 10 мин и регистрировали исходные показатели для следующей дозы. На одной полоске оценивали реакцию не более трех концентраций агониста. Рассчитывали реакцию силы и длительности сокращения в ответ на АТФ и 2-метилтио-АТФ в процентах от исходного.

Для анализа сердечной деятельности в экспериментах *in vivo* на комплексном электрофизиологическом оборудовании регистрировали электрокардиограмму и дифференцированную реограмму, а затем анализировали их с помощью программы Digger (Россия).

В экспериментах применяли следующие фармакологические препараты: АТФ, 2-метилтио-АТФ (2-м-АТФ), α , β -метилтен-АТФ (α , β -м-АТФ), β , γ -метилтен-АТФ (β , γ -м-АТФ), сурамин, тетраэтиловую соль пиродоксальфосфат-6-азофенил-2', 4'-дисульфоновую кислоту (Pyridoxal Phosphate-6-Azophenyl-2'-4'-Disulfonic Acid, PPADS), голубой реактив-2 (RB2), 2', 3'-O-(2, 4, 6-тринитрофенил) аденозин 5'-трифосфат (2',3'-O-(2,4,6-Trinitrophenyl) adenosine 5-triphosphate monolithium trisodium salt, TNP-ATP), аденозин, 8-фенилтиотеофелин (“Sigma”, США), а также обзидан и атропин (“Pharma”, Россия). Препараты вводили в бедренную или яремную вены. Статистическую обработку в опытах *in vitro* проводили с использованием парного и непарного t-критерия Стьюдента, в опытах *in vivo* – с по-

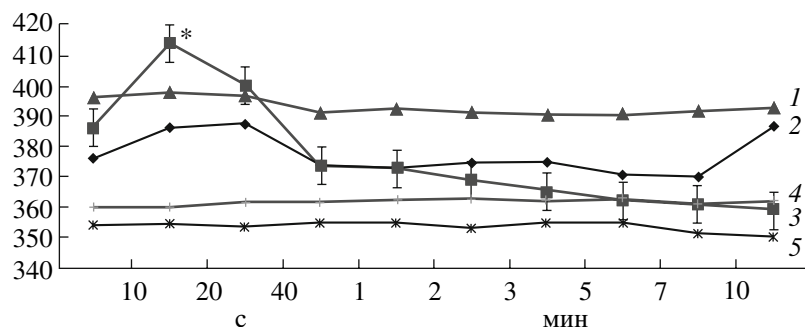


Рис. 1. Изменение частоты сердечных сокращений (по оси ординат, уд/мин) при внутривенном введении аденозина и АТФ разной концентрации 100-суточным крысам в зависимости от времени (по оси абсцисс).

Концентрация веществ, М: АТФ – 1 – 10^{-3} , 2 – 10^{-5} , 3 – 10^{-4} ; аденозин – 4 – 10^{-4} ; физиологический раствор – 5.

Здесь и далее: *статистически достоверное отличие от контроля, $p < 0.05$.

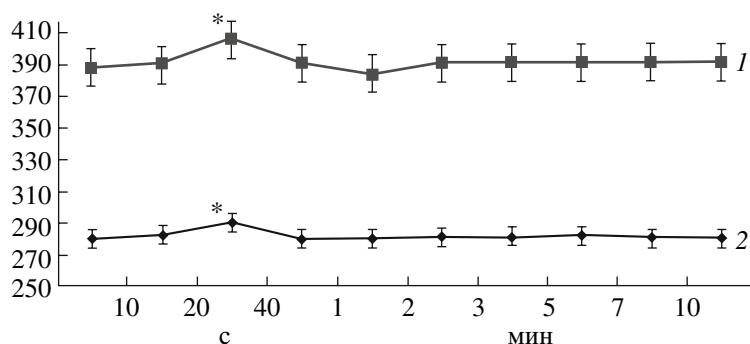


Рис. 2. Изменение частоты сердечных сокращений (по оси ординат, уд/мин) при введении 10^{-4} М АТФ на фоне блокады М-холинорецепторов (2) и β -адренорецепторов (1) сердца 100-суточных животных с помощью атропина и обзидана соответственно в зависимости от времени (по оси абсцисс).

мощью непараметрического критерия Вилкоксона, $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В первой серии экспериментов изучали влияние внутривенного введения АТФ на частоту сердечных сокращений (ЧСС). Определение зависимости доза–эффект показало, что введение АТФ в концентрации 10^{-4} М (0.02 мг/кг) на 30 с вызывает небольшое, в среднем 18 уд/мин, но достоверное увеличение ЧСС ($n = 12$, $p < 0.05$). При повторном введении АТФ его влияние на ЧСС полностью воспроизводилось. Введение эквивалентного количества физиологического раствора не изменяло работу сердца (рис. 1). Наблюдаемые изменения ЧСС могли быть связаны как с прямым эффектом АТФ на сердце, так и с действием аденозина, который образуется при гидролизе АТФ и может действовать через собственные P_1 -рецепторы. Было показано, что для этих рецепторов характерна чувствительность к следующим агонистам – аденозин $>$ АМФ $\gg$ АДФ = АТФ. Однако введение аденозина в такой же концентрации не привело к изменению основных показателей работы сердца (рис. 1), следовательно, уве-

личение ЧСС было вызвано прямым действием экзогенного АТФ, а не действием продукта его гидролиза аденозина.

Ускоряющее влияние АТФ на сердце могло быть обусловлено как прямым действием АТФ на миокард, так и изменением активности симпатических и парасимпатических нервов, регулирующих работу сердца. На фоне блокады М-холинорецепторов атропином и β -адренорецепторов – обзиданом положительный хронотропный эффект АТФ сохраняется, что говорит о прямом действии АТФ на кардиомиоциты ($n = 24$, $p < 0.05$) (рис. 2).

АТФ является нестойким веществом, быстро гидролизруется до аденозина в течение короткого времени, поэтому в следующей серии экспериментов использовали стойкий аналог АТФ – α , β -м-АТФ, являющийся агонистом P_2X -рецепторов. Введение α , β -м-АТФ в эквимоллярной дозе 56- и 100-суточным животным увеличивает ЧСС на 15 с. Дальнейшее определение зависимости доза–эффект показало, что у 21-суточных крысят положительный хронотропный эффект наблюдается при введении стойкого агониста в концентрации 10^{-7} , а у 14-суточных – 10^{-10} М ($n = 87$, $p < 0.05$). Эффект экзогенного α , β -м-АТФ был кратковременным, таким

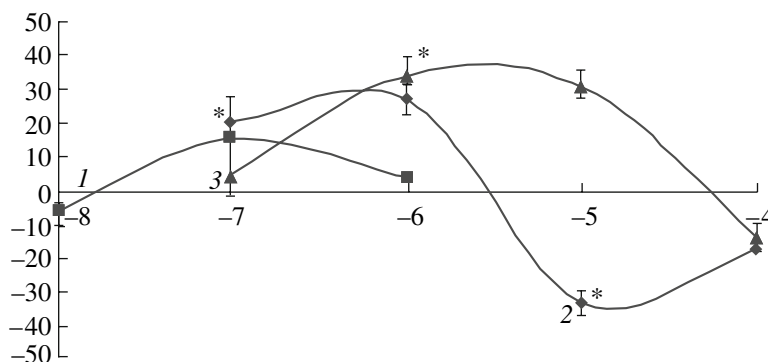


Рис. 3. Влияние АТФ на сократимость изолированных полосок желудочков сердца растущих крыс: 1 – 14, 2 – 56, 3 – 100-суточные животные.

Здесь и на рис. 4: по оси абсцисс – lg концентрации, по оси ординат – сила сокращения, %.

же как действие АТФ, что, возможно, вызвано быстрой десенситизацией P2-рецепторов миокарда. Известно, что этот препарат селективно снижает чувствительность P2-рецепторов. Определение дозозависимого эффекта АТФ и α, β -м-АТФ от 14- к 100-суточному возрасту указывает на высокую чувствительность P2-рецепторов сердца в раннем постнатальном онтогенезе.

Для подтверждения прямого влияния АТФ на P2-рецепторы был использован неселективный блокатор P2-рецепторов сурамин (McQueen et al., 1998). При введении экзогенных АТФ и α, β -м-АТФ на фоне сурамина изменений исследуемых показателей во всех возрастных группах не наблюдается, следовательно, действие пуринов происходит через P2-рецепторы сердца ($n = 33$, $p < 0.05$). Для определения семейства P2-рецепторов, участвующего в положительном хронотропном эффекте, использовали селективный блокатор P2Y-рецепторов RB2. Появление такого эффекта у крыс всех возрастных групп на фоне блокады P2Y-рецепторов подтверждает присутствие в сердце P2X-рецепторов, через которые АТФ и α, β -м-АТФ осуществляют свой эффект ($n = 28$, $p < 0.05$).

Для определения подтипа P2X-рецепторов использовали селективные блокаторы и агонисты этих рецепторов (Vassort, 2001; Xu et al., 2005). TNP-АТР является неконкурентным блокатором для нативных P2X₁- и P2X₂-рецепторов; введение АТФ и α, β -м-АТФ на его фоне не приводит к появлению положительного хронотропного эффекта. Таким образом, P2X₁- и P2X₂-рецепторы опосредуют положительный хронотропный ответ на введение экзогенных пуринов. Определение зависимости доза-эффект селективного агониста P2X₁-рецепторов β, γ -м-АТФ выявило следующую закономерность: у 100- и 56-суточных животных введение этого препарата вызывает положительный хронотропный эффект в концентрации 10^{-8} М, у 21-суточных – в концентрации 10^{-11} М, а у 14-суточных – 10^{-13} М. Таким образом, P2X₁-рецепторы

участвуют в положительном хронотропном эффекте на введение β, γ -м-АТФ, а увеличение концентрации агониста, вызывающего положительный эффект, подтверждает высокую чувствительность P2X-рецепторов в раннем постнатальном онтогенезе.

В опытах *in vitro* изучали влияние АТФ и его аналогов на сократимость миокарда и определяли, какие семейства P2-рецепторов участвуют в этом эффекте.

АТФ в концентрации 10^{-7} – 10^{-4} М вызывает дозозависимое сокращение полосок предсердий и желудочков миокарда ($n = 7$, $p < 0.01$). У 100- и 56-суточных крыс максимальный сократительный эффект наблюдался при действии АТФ в концентрации 10^{-6} М, а у 14-суточных – в концентрации на порядок выше: 10^{-7} М. При этом длительность сокращения у 56- и 14-суточных животных снижалась на 7–10% и не изменялась у 100-суточных.

Дальнейшее увеличение концентрации АТФ угнетает сократимость миокарда. Так, АТФ в концентрации 10^{-5} М у 100-суточных крыс вызывает двухфазный эффект: сначала сила сокращения миокарда желудочков повышается, а к 12-й мин снижается. АТФ в концентрации 10^{-4} М вызывает уменьшение силы сокращения миокарда. У 56-суточных крыс АТФ в концентрации 10^{-5} и 10^{-4} М вызывает только снижение силы и длительности сокращений миокарда желудочков (рис. 3).

Интерес к изучению влияния АТФ на деятельность сердца основывается на различных, нередко противоположных, результатах. По-прежнему неясно, какое именно соединение оказывает эффект на пуринорецепторы сердца: АТФ или продукт его гидролиза аденозин? Известно, что АТФ является нестойким веществом, в течение короткого времени под действием эктоАТФазы он гидролизруется до аденозина, который в свою очередь оказывает действие через собственные P1-рецепторы. Некоторые исследователи связывают влияние АТФ с

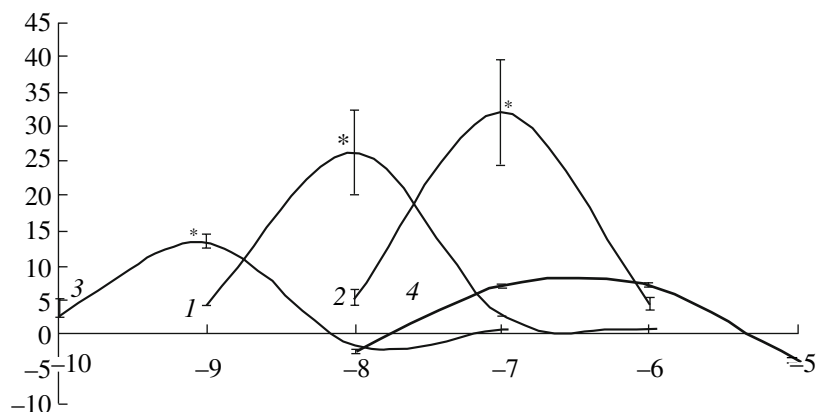


Рис. 4. Влияние 2-метилтио-АТФ на сократимость изолированных полосок желудочков сердца крыс: 1 – 14, 2 – 21, 3 – 56, 4 – 100-суточные животные.

его распадом до аденозина, оказывающего отрицательное хронотропное и инотропное действие, поэтому в следующей серии экспериментов изучали влияние АТФ на сократимость миокарда на фоне неселективного блокатора Р1-рецепторов. При блокаде Р1-рецепторов 8-фенилтеофелином отрицательный инотропный эффект, вызванный АТФ в концентрации 10^{-5} и 10^{-4} М, не сохраняется. Следовательно, АТФ увеличивает силу сокращений полосок миокарда, действуя через собственные Р2-рецепторы, а отрицательный инотропный эффект вызван влиянием аденозина, продукта гидролиза АТФ.

В следующей серии экспериментов изучали влияние 2-м-АТФ на сократимость миокарда крыс в онтогенезе. Этот препарат является стойким аналогом АТФ и агонистом как Р2Х-, так и Р2У-рецепторов сердца (Ralevic, 1998). Мы установили, что агонист Р2-рецепторов 2-м-АТФ вызывает дозозависимое увеличение сократимости миокарда предсердий и желудочков 14–100-суточных крыс ($n = 40$, $p < 0.05$). У 14-суточных крысят максимальный сократительный эффект наблюдался при действии 2-м-АТФ в концентрации 10^{-8} М (25.5%), у 21-суточных – 10^{-7} М (31.3%), у 56-суточных – 10^{-9} М (13.3%), у 100-суточных – 10^{-6} М (6.5%) (рис. 4).

Таким образом, повышение концентрации АТФ и его стойкого аналога 2-м-АТФ от 14- к 100-суточному возрасту вызывает положительный инотропный эффект и указывает на высокую чувствительность Р2-рецепторов миокарда в раннем постнатальном онтогенезе.

Для определения семейства Р2-рецепторов, участвующих в положительном сократительном эффекте, использовали селективные блокаторы Р2Х- и Р2У-рецепторов, а на фоне антагонистов исследовали влияние наиболее эффективных концентраций 2-м-АТФ. Для 14-суточных животных это

10^{-8} , 21-суточных – 10^{-7} , 56-суточных – 10^{-9} , 100-суточных – 10^{-6} М. Одним из наиболее широко используемых препаратов в качестве антагониста Р2-рецепторов является PPADS, которая проявляет выраженное блокирующее действие по отношению к Р2Х1-5-рецепторам сердца, не влияя на опосредуемые Р2У-рецепторами эффекты (Ralevic, 1998; Vassort, 2001).

Селективный блокатор Р2Х-рецепторов PPADS практически полностью предупреждает влияние 2-м-АТФ на сократимость миокарда 14, 21, 56-суточных крысят. У этих животных на фоне блокатора реакция предсердий и желудочков на 2-м-АТФ в рабочей концентрации исчезает ($n = 30$), только у 100-суточных крысят сократимость миокарда желудочков увеличивается до 21% ($n = 10$, $p < 0.05$) (рис. 5). Следовательно, только у 100-суточных крысят животных Р2У-рецепторы участвуют в положительной сократительной реакции миокарда желудочков, что, по-видимому, связано с большими регуляторными и функциональными возможностями сердца взрослых крыс по сравнению с неполовозрелыми. Физиологическая роль Р2У-рецепторов в сократимости миокарда предсердий и желудочков у 14- и 56-суточных крысят незначительна.

Для определения функциональной активности Р2Х-рецепторов проводили блокаду Р2У-рецепторов реактивом RB2 – антагонистом с преимущественным действием на Р2У-пуриновые рецепторы. Эксперименты на сердце крысы, изолированном по Лангендорфу, подтвердили существование эффективной блокады Р2У-рецепторов, осуществляемой RB2 (Norwood, 1987).

При блокаде Р2У-рецепторов 2-м-АТФ достоверно увеличивает силу сокращения предсердий и желудочков во всех возрастных группах ($n = 40$, $p < 0.05$): у 14-суточных – на 10.4 и 12.3, у 21-суточ-

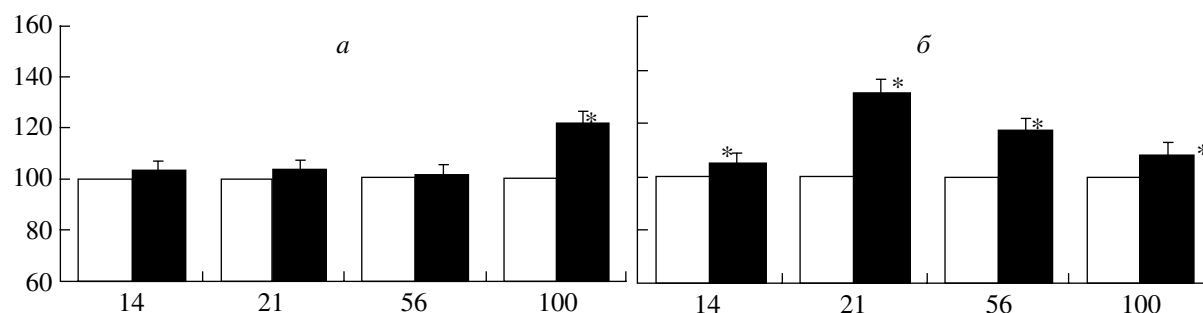


Рис. 5. Влияние 2-метилтио-АТФ на сократимость изолированных полосок желудочков (а) и предсердий (б) сердца крыс разного возраста (по оси абсцисс, сут) после блокады рецепторов P2X PPADS (а) и P2Y RB2 (б).

По оси ординат – сила сокращения, %.

Желудочки и предсердия: (□) – контрольные, (■) – блокированные PPADS + 2-м-АТФ и RB2 + 2-м-АТФ соответственно.

ных – на 40 и 20,2, у 56-суточных – на 17 и 28, у 100-суточных – на 23 и 27% соответственно.

Таким образом, в реализации положительного инотропного эффекта на действие 2-м-АТФ участвуют P2X-рецепторы. Иммуногистохимический анализ показал широкое распространение подтипов рецепторов P2X1-5 в синоатриальном узле и сарколемме кардиомиоцитов (Ralevic, 1998). Следует отметить, что функциональная активность этих рецепторов на разных этапах онтогенеза различна. В наших экспериментах при функционально-активных P2X-рецепторах сила сокращения желудочков на действие агониста у 56- и 100-суточных животных достоверно выше, чем у 14-суточных ($p < 0.05$), следовательно, участие этих рецепторов в положительной сократительной реакции желудочков зависит от возраста. Наибольшая сократимость предсердий на действие агониста P2X-рецепторов отмечается у 21-суточных крысят; по нашим данным, у крысят 1-го мес жизни отсутствует полноценная симпатическая регуляция сердца, характерная для взрослых (Аникина и др., 2003, 2005). В условиях незрелости адренергических влияний, возможно, возрастает модулирующее влияние АТФ на эффекты основных медиаторов. Таким образом, у 21-суточных крысят в условиях формирования симпатической иннервации миокарда роль P2X-рецепторов в сократимости миокарда возрастает. Наблюдаемые явления могут быть связаны со снижением чувствительности и изменением функциональной активности либо с уменьшением количества разных подтипов P2-рецепторов, участвующих в сократимости миокарда у животных, находящихся на разных этапах биологического развития.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Аникина Т.А., Билалова Г.А., Ситдилов Ф.Г. Влияние блокады β -адренорецепторов на сердечную деятельность крыс в постнатальном онтогенезе // Бюл. эксперим. биологии и медицины. 2003. Т. 136. № 9. С. 265–268.
- Аникина Т.А., Ситдилов Ф.Г., Хамзина Е.Ю., Билалова Г.А. Участие пуринорецепторов в сердечной деятельности крыс в онтогенезе // Там же. 2005. Т. 140. № 11. С. 490–492.
- Западнюк И.П., Западнюк И.В., Западнюк Б.В. Лабораторные животные. Развитие, содержание, использование в эксперименте. Киев: Наук. думка, 1983. 383 с.
- Abbracchio M.P., Boeynaems J.-M., Barnard E.A. et al. Characterization of the UDP-glucose receptor (re-named here the P2Y₁₄ receptor) adds diversity to the P2Y receptor family // Trends Pharmacol. Sci. 2003. V. 24. P.52.
- 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.
- Browse D.J. The role of ATP and adenosine the control of hepatic blood flow in the rabbit *in vivo* // Comp. Hepatol. 2003. V. 2. P. 9–12.
- Burnstock G. Purinergic nerves // Pharmacol. Rev. 1972. V. 24. № 24. P. 508–581.
- Burnstock G., Kind B.F. Numbering of cloned P2 purinoceptors // Drug. Devel. Res. 1996. V. 38. P. 67–71.
- Champe P.C., Hurvey R.A. Lippincott's illustrated reviews. Biochemistry. L.: Lippincott Williams and Wilkins, 2004. 127 p.
- 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.
- Forrester T., Dubyak G.R., Fedan J.S. Release of ATP from heart // Biological actions of extracellular ATP. N.Y.: Acad. Sci., 1990. P.335–352.
- Hopwood A.M. ATP mediates coronary vasoconstriction via P2X-purinoceptors and coronary vasodilatation via P2Y-purinoceptors in the isolated perfused rat heart // Eur. J. Pharmacol. 1987. V. 136. № 1. P. 49–54.
- Katsuragi T., Tokunaga T., Ohba M. et al. Implication of ATP released from atrial, but not papillary, muscle segments of guinea-pig by isoproterenol and forskolin // Life Sci. 1993. V. 53. P. 361–367.
- McQueen D.S., Bond S.M., Moores C. et al. I Activation of P2X receptors for adenosine triphosphate evokes cardiorespiratory reflexes in anaesthetized rats // J. Physiol. 1998. V. 507. № 3. P. 843–855.

Ralevic V. Receptors for purines and pyrimidines // *Pharmacol. Rev.* 1998. V. 50. № 3. P. 413–492.

Ralevic V., Burnstock G. Roles of P2-purinoceptors in the cardiovascular system // *Circulation.* 1991. V. 84. P. 1–14.

Shacher J.B., Sromek S.M., Nicholas A.A. et al. Human embryonic kidney cells endogenously express the P2Y1 and P2Y2 receptors // *Europharmacology.* 1997. V. 36. P. 1181–1187.

Vassort G. Adenosine 5'-triphosphate: a P2-purinergic agonist in the myocardium // *Physiol. Rev.* 2001. V. 81. № 2. P. 767–806.

White T.D. Characteristics of neuronal release of ATP // *Prog. Neuropsychopharmacol. Biol. Psychiatry.* 1984. V. 8. P. 487–493.

Xu J., Kussmaul W., Kurnik P. et al. Electrophysiological-anatomic correlates of ATP-triggered vagal reflex in the dog. V. Role of purinergic receptors // *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2005. V. 288. P. 651–655.

Zimmermann H. Signaling via ATP in the nervous system // *Trends Neurosci.* 1994. V. 17. P. 420–426.

Purinergic Regulation of Rat Heart Function in Ontogeny

F. G. Sitdikov^a, T. A. Anikina^a, A. A. Zverev^a, G. A. Bilalova^a, and E. Yu. Khamzina^b

^a Tatar State Humanitarian Pedagogical University, ul. Tatarstan 2, Kazan, 420021 Russia

^b Federal Center of Toxicological and Radiation Safety of Animals—National Veterinary Research Institute, Nauchnyi gorodok-2, Kazan, 420075 Russia

e-mail: Aleksei5@rambler.ru

Abstract—The effect of exogenous ATP and its analogs on heart function was studied in 14–100-day-old rats. Extracellular purines had a positive chronotropic effect on the heart. Intravenous administration of exogenous ATP and its stable analogs induced a dose-dependent increase in heart rate depending on animal age. The analysis of isometric contraction of myocardial strips demonstrated a dose-dependent positive inotropic effect of ATP. The family and subtype of the P2 receptors realizing the positive chronotropic and inotropic effects were identified using selective agonists and blockers. P2X receptors demonstrated the highest sensitivity during early postnatal ontogeny. The age-related pattern of the receptor response to exogenous purines indicated the heterochronic maturation of P2X and P2Y receptors in the myocardium.

Key words: P2 receptors, myocardium, ATP, ontogeny.