

## ФИЗИОЛОГИЯ

УДК 591.112.1

**ВЛИЯНИЕ ВНЕКЛЕТОЧНОГО ДИАДЕНОЗИНТЕТРАФОСФАТА НА БИОЭЛЕКТРИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ ПРЕДСЕРДНОГО И ЖЕЛУДОЧКОВОГО МИОКАРДА КРЫСЫ НА РАННИХ ЭТАПАХ ПОСТНАТАЛЬНОГО ОНТОГЕНЕЗА****К.Б. Пустовит<sup>1,2</sup>, В.М. Потехина<sup>1</sup>, Н.В. Пахомов<sup>1</sup>, В.С. Кузьмин<sup>1,2,\*</sup>**

<sup>1</sup>*Кафедра физиологии человека и животных, биологический факультет, Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова, Россия, 119234, г. Москва, ул. Ленинские горы, д.1, стр. 12;*

<sup>2</sup>*Кафедра физиологии, Российский национальный исследовательский медицинский университет имени Н.И. Пирогова, Россия, 117997, г. Москва, ул. Островитянова, д. 1*

*\*e-mail: ku290381@mail.ru*

Диаденозинтетрафосфат (ДАТФ) является пуриновым соединением, относящимся к группе эндогенных веществ, которые в последнее время рассматриваются как нейротрансмиттеры в вегетативной нервной системе. Ранее было показано, что ДАТФ подавляет сократимость миокарда, а также оказывает модулирующее влияние на адренергические воздействия в сердце взрослых млекопитающих. Однако физиологическая роль ДАТФ в регуляции работы сердца в раннем постнатальном онтогенезе, когда симпатическая иннервация сердца еще остается незрелой, не исследована. Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния ДАТФ на биоэлектрическую активность сердца на ранних этапах постнатального развития. Для этого регистрировали потенциалы действия (ПД) с помощью стандартной микроэлектродной техники в многоклеточных перфузируемых изолированных препаратах правого предсердия, левого предсердия и правого желудочка, полученных из сердца крысы в конце первых суток постнатальной жизни, а также на 14-е, 21-е и 60-е сут жизни. ДАТФ вызывал статистически значимое снижение длительности ПД в предсердном миокарде животных всех возрастных групп, использовавшихся в работе. В желудочковом миокарде ДАТФ также приводил к существенному укорочению ПД, однако этот эффект был значимо больше на 21-е и 60-е сут, чем на 1-е и 14-е сут постнатальной жизни. ДАТФ практически не оказывал влияния на ритм в спонтанно активных препаратах правого предсердия, полученных от животных всех исследованных возрастных групп, за исключением животных в возрасте 60 сут. Антагонист пуриновых рецепторов Р2-типа — пиридоксальфосфат-6-азофенил-2',4'-дисульфоновая кислота — подавлял снижение длительности ПД, вызванное ДАТФ в предсердном миокарде крыс, начиная с 21-х сут развития, но не оказывал влияния на эффект ДАТФ с 1-х по 14-е сут постнатального развития. Таким образом, ДАТФ вызывает снижение длительности ПД в предсердном и желудочковом миокарде крысы в раннем постнатальном онтогенезе. В ходе развития указанный эффект ДАТФ усиливается только в желудочковом миокарде, что может быть связано со становлением нервного контроля инотропии этого отдела сердца.

**Ключевые слова:** диаденозинполифосфаты, диаденозинтетрафосфат, пурины, пуриновые рецепторы, сердце, потенциал действия, постнатальное развитие

Диаденозинполифосфаты (ДАПФ) относятся к широкой группе пуриновых соединений, молекула которых включает два аденозина, соединенных цепью из 2–7 остатков фосфорной кислоты. ДАПФ в последнее десятилетие рассматриваются как эндогенные сигнальные соединения, которые присутствуют во множестве тканей и участвуют в регуляции целого ряда физиологических функций [1].

Показано, что внеклеточные ДАПФ оказывают влияние на работу сердца взрослых животных: подавляют его сократительную активность, вызывают изменение потенциалов действия и ионных токов [2–5]. Поскольку ДАПФ являются пуриновыми соединениями, то их регуляторные эффекты

в миокарде связывают с действием на мембранные рецепторы пуриновых нуклеотидов [6–8]. Известно, что в сердце млекопитающих, в том числе и крысы, присутствуют метаботропные рецепторы Р2Y-типа. Ранее в наших и других работах было показано, что ДАПФ вызывают снижение сократимости миокарда, активируя рецепторы Р2Y-типа [9].

Наличие рецепторов Р2Y-типа в сердце установлено как у взрослых животных, так и у животных, находящихся на ранних этапах постнатального развития [10]. Показано также, что чувствительность к внеклеточным пуриновым нуклеотидам, обусловленная их мембранными рецепторами, появляется уже на ранних стадиях эмбриогенеза [11]. Однако

количество и соотношение различных подтипов рецепторов P2Y в сердце в ходе развития существенно меняются [12]. Результаты предыдущих исследований позволяют предполагать, что влияние пуриновых соединений на работу сердца различно на разных этапах онтогенеза. Тем не менее, онтогенетические аспекты эффектов и механизмов действия пуриновых соединений изучены недостаточно. Также остается неизвестным, каковы эффекты ДАПФ в сердце в раннем онтогенезе.

Согласно современным представлениям, регуляторное влияние пуринов в сердце и других тканях в значительной степени заключается в регуляции симпатических и парасимпатических влияний [13]. Показано, что ДАПФ проявляют свойства нейромедиаторов в вегетативной нервной системе, а основная их роль в сердце может сводиться к ограничению адренергических воздействий [3, 14].

Формирование вегетативного контроля работы сердца происходит в постнатальном онтогенезе. В настоящее время неизвестно, могут ли ДАПФ оказывать влияние на работу сердца на самых ранних этапах развития, когда симпатический нервный контроль еще отсутствует, а также в ходе критического этапа постнатального развития, соответствующего созреванию симпатического звена вегетативной нервной системы. У крыс формирование симпатического контроля работы сердца происходит на 2–3-й нед. развития. Таким образом, наиболее интересным представляется изучение действия ДАПФ в сердце в тот период онтогенеза, который для крысы соответствует временному интервалу с первого дня после рождения и до конца третьей недели постнатальной жизни.

В настоящее время показано, что ДАПФ, цепь остатков фосфорной кислоты которых варьирует от двух до шести, являются физиологически активными. Среди всех ДАПФ диаденозинтетрафосфат (ДАТФ) имеет среднюю длину цепи остатков фосфорной кислоты. Впервые физиологическая активность была выявлена именно у ДАТФ. Кроме того, ДАТФ вызывает сходные по характеру эффекты в сердце нескольких видов лабораторных животных. Вследствие этого именно ДАТФ был выбран в качестве тестового соединения в данной работе.

### Материалы и методы

Работа выполнена с использованием препаратов сердца крысы. Всего было получено 89 препаратов от 89 животных. В ходе экспериментов были соблюдены все актуальные требования этических норм работы с лабораторными животными ("Европейская конвенция о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных и других научных целей", Страсбург, 1986). Половозрелые самцы и самки крыс стока Wistar (250–300 г, возраст 10 нед.) были получены из питомника "Научный центр биомедицинских технологий" Федерального медико-биологического агентства и использованы

для получения потомства. Животных содержали в виварии в стандартных условиях при световом режиме 12:12 с доступом к воде и пище *ad libitum*.

В экспериментах использовали препараты сердца, полученные от крыс в конце первых суток постнатального развития (Д1), а также на 14-е, 21-е и 60-е сут (Д14, Д21, Д60) постнатальной жизни. До 21-х сут жизни потомство содержалось с самками в индивидуальных клетках и отбиралось из 7 пометов равномерно, что позволяло получать в каждой возрастной группе животных сходной массы. Крыс в возрасте 60 сут считали взрослыми.

Для выявления действия ДАТФ (Sigma-Aldrich, США) на биоэлектрическую активность сердца регистрировали потенциалы действия (ПД) в изолированных многоклеточных перфузируемых препаратах правого предсердия, левого предсердия и стенки правого желудочка крысы с помощью стандартной микроэлектродной техники согласно процедуре, подробно описанной ранее [9].

Перед экспериментом крыс декапитировали, вскрывали грудную клетку, извлекали сердце, выделяли многоклеточные препараты. Препараты помещали в экспериментальную камеру и перфузировали при 37°C оксигенированным ( $O_2$  – 95%,  $CO_2$  – 5%) раствором Тироде (состав, мМ: NaCl – 129; KCl – 4;  $NaH_2PO_4$  – 20,9;  $MgSO_4$  – 0,5;  $NaHCO_3$  – 20;  $CaCl_2$  – 1,2; глюкоза – 5; pH 7,2–7,4) со скоростью потока 10 мл/мин. Во всех многоклеточных препаратах, за исключением препаратов правого предсердия, потенциалы действия вызывали нанесением электрических стимулов при помощи серебряных электродов, соединенных со стимулятором ЭЛС-2 (частота стимуляции – 3,3 Гц, длительность прямоугольных импульсов – 2 мс, амплитуда импульсов – 3–10 В).

ПД отводили с эндокардиальной стороны многоклеточных препаратов. Для отведения ПД использовали стеклянные микроэлектроды (сопротивление – 10–30 МОм), подключенные к усилителю Model 1600 Headstage (A-M Systems, США). Усиленный сигнал поступал на АЦП E-154 (L-Card, Россия) и далее обрабатывался на компьютере с помощью программы "Power Graph 3.3" (Ди-софт, Россия). Во всех экспериментах с помощью программы MiniAnalysis 6.0.7. (Synaptosoft, США) оценивали длительность ПД на уровне 50% и 90% реполяризации (ДПД50%, ДПД90%). Так как препараты правого предсердия включали пейсмекерную область и были способны спонтанно ритмически генерировать ПД, то в данном случае оценивали также частоту следования ПД.

После полчасовой адаптации многоклеточных препаратов в перфузионной камере осуществляли запись, которая состояла из двух блоков: запись ПД в контрольных условиях в течение 1 мин; запись ПД при действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ либо при одновременном действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ и пиридоксальфосфат-6-азо-

фенил-2',4'-дисульфоновой кислоты (pyridoxal-phosphate-6-azophenyl-2',4'-disulfonic acid, PPADS, Sigma-Aldrich, США) в концентрации 100 мкМ в течение 10 мин.

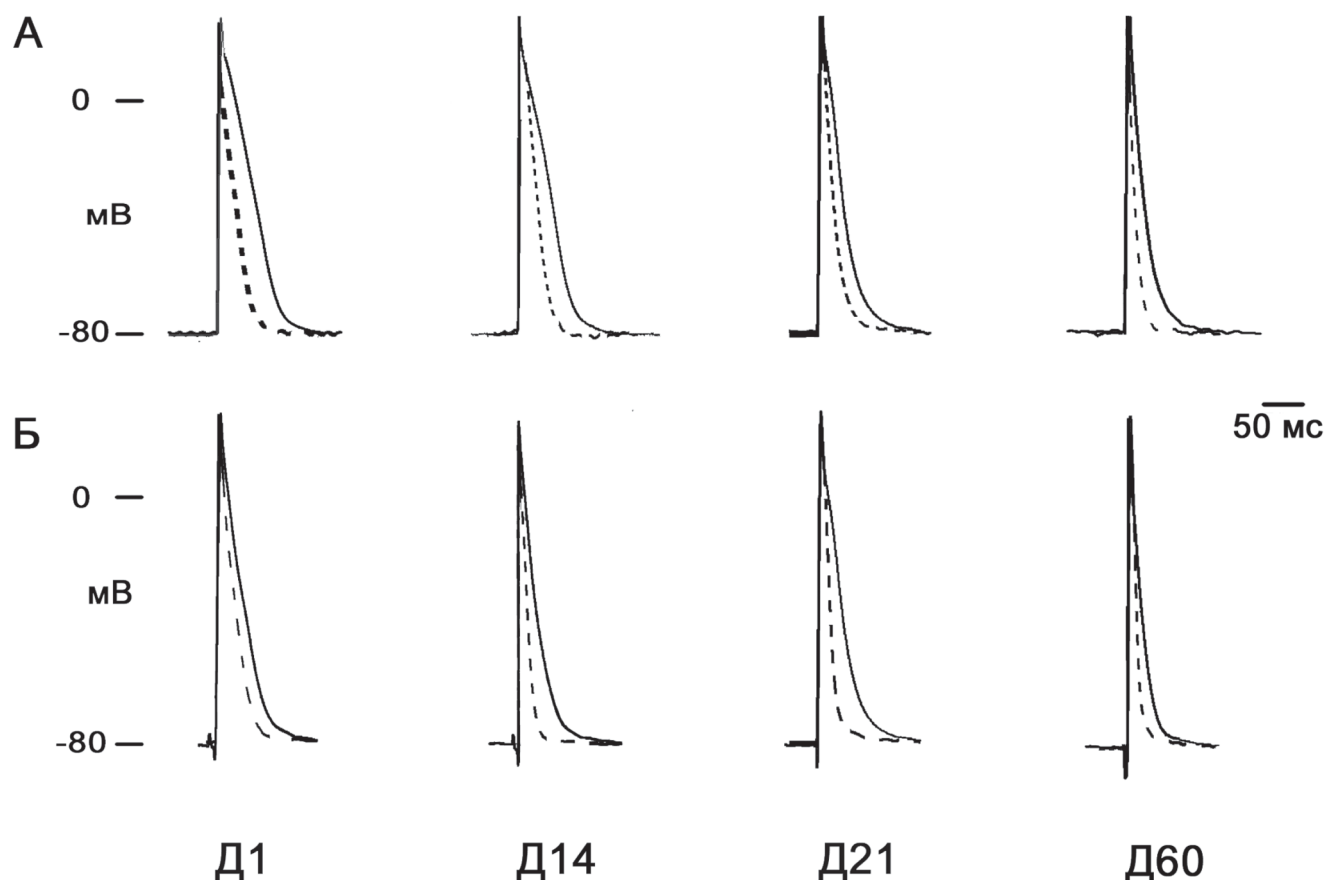
Следует отметить, что длительность ПД в контрольных условиях существенно различается в разных отделах сердца, а также существенно меняется в этих отделах с возрастом (рис. 1). Наибольшая длительность ПД в наших экспериментах наблюдалась в препаратах, полученных от животных в конце 1-х сут постнатальной жизни. Поэтому длительность ПД, наблюдаемую при действии ДАТФ, представляли в процентах от контрольного значения для конкретного препарата, полученного от животного конкретного возраста.

Для статистической обработки результатов использовали программу Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Статистически значимые различия между группами выявляли с помощью критерия ANOVA (с последующим применением тестов для множественных сравнений в группах с повторными или независимыми измерениями post-hoc, а также последующим внесением поправки Даннета) после предварительной проверки нормальности распределения в группах с помощью теста Шапиро-Уилка.

Различия считались значимыми при  $p < 0,05$ . Данные представлены как среднее  $\pm$  стандартная ошибка среднего (за исключением рисунков с примерами ПД).

### Результаты и обсуждение

В предыдущих исследованиях было показано, что эффекты пуриновых соединений могут существенно изменяться в ходе постнатального развития. При этом может изменяться сам характер реакции на пуриновые нуклеотиды. Хорошо известно, что аденозин является эндогенным агонистом пуриновых рецепторов P1-типа, к которым относятся рецепторы A1- и A2-подтипов. У взрослых крыс аденозин вызывает положительный инотропный эффект в желудочковом миокарде, активируя пуриновые рецепторы A2-подтипа, уровень которых повышается по мере роста животных. Однако в первые недели после рождения аденозин в сердце крыс вызывает негативный инотропный эффект, обусловленный активацией пуриновых рецепторов A1-подтипа, количество которых, соответственно, снижается в ходе постнатального развития. Соответственно, в сердце крыс в первые недели жизни антиадренергический эффект пуриновых соединений, обусловленный активацией рецепторов A1-



**Рис. 1.** Репрезентативные потенциалы действия, зарегистрированные в многоклеточных изолированных препаратах правого предсердия (А) и правого желудочка (Б) сердца крысы в контрольных условиях (сплошная линия) и при действии диаденозинтетрафосфата (пунктирная линия) в концентрации 10 мкМ. Д1 – препараты сердца, полученные от животных в конце первых суток постнатального развития; Д14, Д21 и Д60 – препараты, полученные на 14-е, 21-е и 60-е сут постнатального развития. Диаденозинтетрафосфат вызывает укорочение потенциалов действия как в препаратах предсердий, так и в препаратах желудочков, полученных от животных всех исследованных возрастных групп



подтипа, выше, чем у взрослых животных [14–16]. Эффекты в сердце, связанные с действием агонистов рецепторов P2-типа, и, соответственно, активацией рецепторов P2, также различны у животных разного возраста. Так, эндогенный агонист рецепторов P2-типа АТФ оказывает наиболее сильное влияние на сократимость в желудочковом и предсердном миокарде крысы на 21-е сут постнатального развития [17, 18]. Таким образом, данные предыдущих работ позволяли предполагать, что ДАТФ, как физиологически активное вещество, относящееся к группе пуриновых соединений, может оказывать различное влияние на работу сердца у крыс различного возраста.

В наших экспериментах ДАТФ в концентрации 10 мкМ оказывал существенное влияние на ПД во всех исследованных отделах сердца на разных этапах постнатального развития, что показано впервые. Репрезентативные примеры ПД в контрольных условиях, а также при действии ДАТФ в разных препаратах сердца для разных возрастных групп представлены на рис. 1 (А, Б). При действии ДАТФ ДПД90% в левом предсердии составляла  $75 \pm 2\%$ ,  $71 \pm 3\%$  и  $70 \pm 5\%$  от контрольных значений в препаратах, полученных от животных в конце первых суток, а также на 14-е и 21-е сут постнатальной жизни, соответственно. В левом предсердии, полученном от животных на 60-е сут жизни, ДПД90% при действии ДАТФ составляла  $77 \pm 2\%$  от контрольного показателя. В правом предсердии ДПД90% при действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ снижалась до  $79 \pm 4\%$ ,  $83 \pm 3\%$ ,  $80 \pm 3\%$  и  $78 \pm 5\%$  от этого показателя в контрольных условиях для 1-х, 14-х, 21-х и 60-х сут постнатальной жизни, соответственно. Во всех группах описанное влияние ДАТФ на ДПД90% было статистически значимым ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ).

В желудочковом миокарде ДАТФ в концентрации 10 мкМ вызывал статистически значимое ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ) снижение ДПД90% до  $83 \pm 3\%$  и  $80 \pm 3\%$  от контрольной величины в препаратах, полученных от животных в конце 1-х сут и на 14-е сут жизни. В препаратах желудочкового миокарда на 21-е и 60-е сут постнатальной жизни эффект ДАТФ был также статистически значимым. Кроме того, этот эффект был значимо больше ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ), чем на 1-е и 14-е сут жизни: ДПД90% снижалась до  $72 \pm 4\%$  и  $72 \pm 4\%$  от контрольных значений, соответственно (рис. 2, А–В).

ДАТФ вызывал снижение длительности ПД на уровне 50% реполяризации. Влияние ДАТФ на ДПД50% и ДПД90% не различалось статистически значимо во всех препаратах, полученных от животных всех возрастов за исключением влияния на длительность в правом предсердии у животных на 60-е сут (рис. 2). В данном единственном случае снижение ДПД50%, вызванное ДАТФ, было гораздо больше, чем снижение ДПД90% ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ).

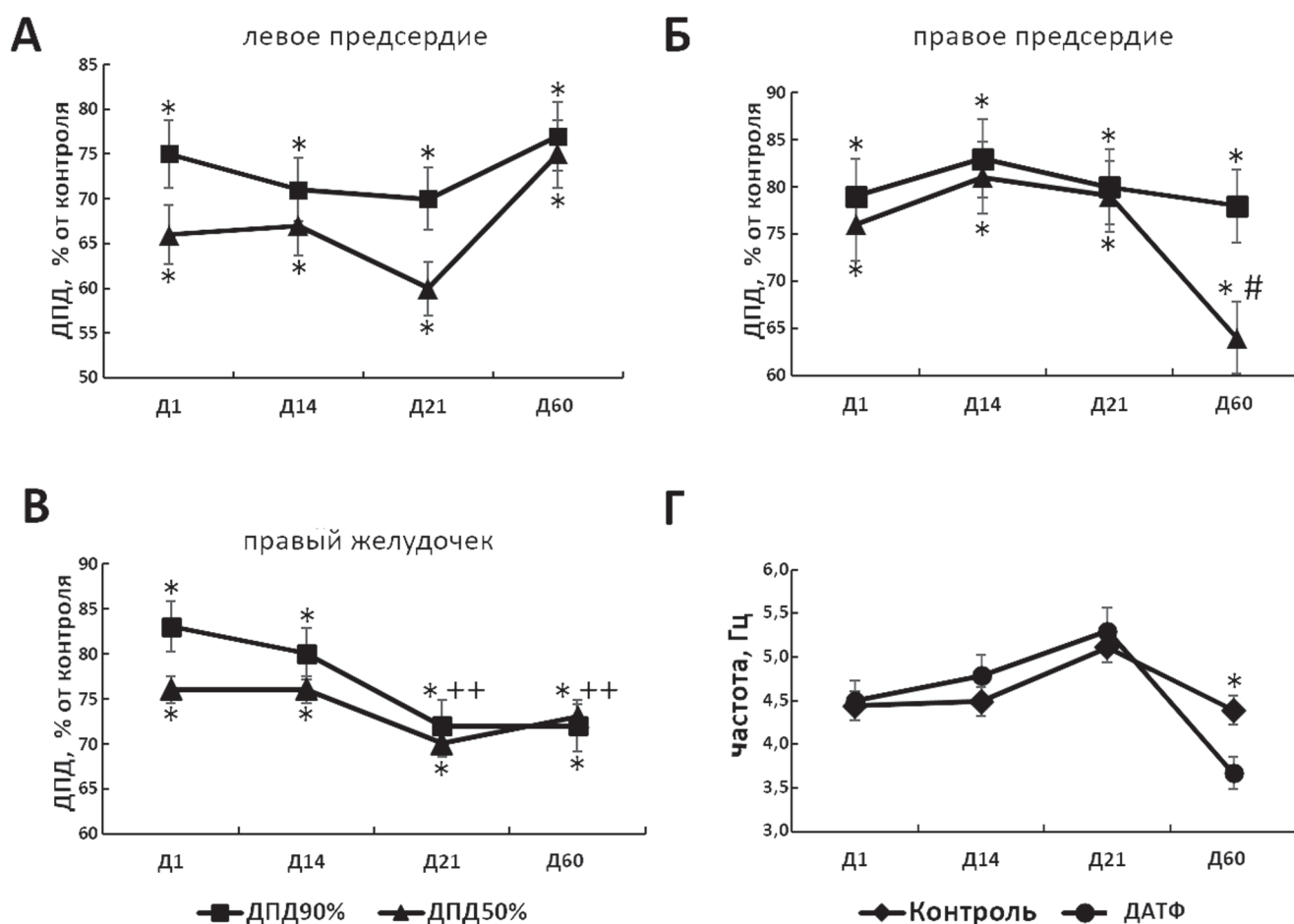
Итак, результаты данной работы позволяют утверждать, что ДАТФ вызывает снижение дли-

тельности ПД — параметра, который в значительной степени определяет инотропное состояние миокарда. ДАТФ снижает длительность ПД не только в сердце взрослых (на 60-е сут жизни) крыс, но также и в сердце животных в раннем постнатальном онтогенезе (в период от окончания первых суток после рождения до 21-х сут постнатальной жизни). Величина эффекта ДАТФ (укорочение ПД) в предсердном миокарде сходна у животных всех исследованных возрастных групп. В противоположность ситуации в предсердном миокарде, эффект ДАТФ в желудочковом миокарде оказался большим на 21-е и 60-е сут, чем на 1-е и 14-е сут жизни. Такая особенность действия ДАТФ характерна для длительности ПД как на уровне 50%, так и на уровне 90% реполяризации. Данный факт может указывать на то, что ДАТФ играет более значимую роль как нейротрансмиттер или паракринный фактор именно в желудочковом миокарде тогда, когда сформирован симпатический контроль работы сердца.

В контрольных условиях собственный ритм, генерируемый пейсмекером в препаратах правого предсердия, был различен. Для препаратов, полученных от животных в конце первых суток после рождения, ритм составлял  $4,44 \pm 0,4$  Гц; от животных на 14-е и 21-е сут жизни —  $4,49 \pm 0,3$  и  $5,11 \pm 0,3$  Гц, соответственно (рис. 2, Г). В препаратах правого предсердия, которые были получены от животных на 60-е сут, ритм составлял  $4,39 \pm 0,5$  Гц. Таким образом, в наших экспериментах наибольший ритм наблюдался на 21-е сут постнатального развития. При действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ в препаратах правого предсердия, полученных от животных в конце 1-х сут, на 14-е, 21-е и 60-е сут жизни, ритм составлял  $4,5 \pm 0,9$ ,  $4,79 \pm 1$ ,  $5,3 \pm 0,6$  и  $3,67 \pm 0,9$  Гц, соответственно. Таким образом, ДАТФ не влиял на ритм в период с конца первых суток до 21-х сут постнатальной жизни, однако вызывал статистически значимое ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ) снижение на 60-е сут, т.е. у животных, которых мы считали взрослыми.

Ранее было показано, что такой хорошо изученный агонист пуриновых рецепторов, как АТФ, увеличивает частоту ритма в сердце крысы на различных этапах постнатального развития [19]. В противоположность АТФ, ДАТФ снижает ритм, генерируемый пейсмекером сердца, но только у взрослых животных. Полученные результаты позволяют сделать несколько предположений: во-первых, вероятно, что эффекты АТФ и ДАТФ реализуются посредством различных мембранных рецепторов и внутриклеточных сигнальных каскадов. Во-вторых, вероятно, что в пейсмекере сердца, в отличие от ситуации с АТФ, функциональные рецепторы, опосредующие эффект ДАТФ, появляются только у животных возрастом 60 сут. Такие различия могут быть связаны с разной физиологической ролью





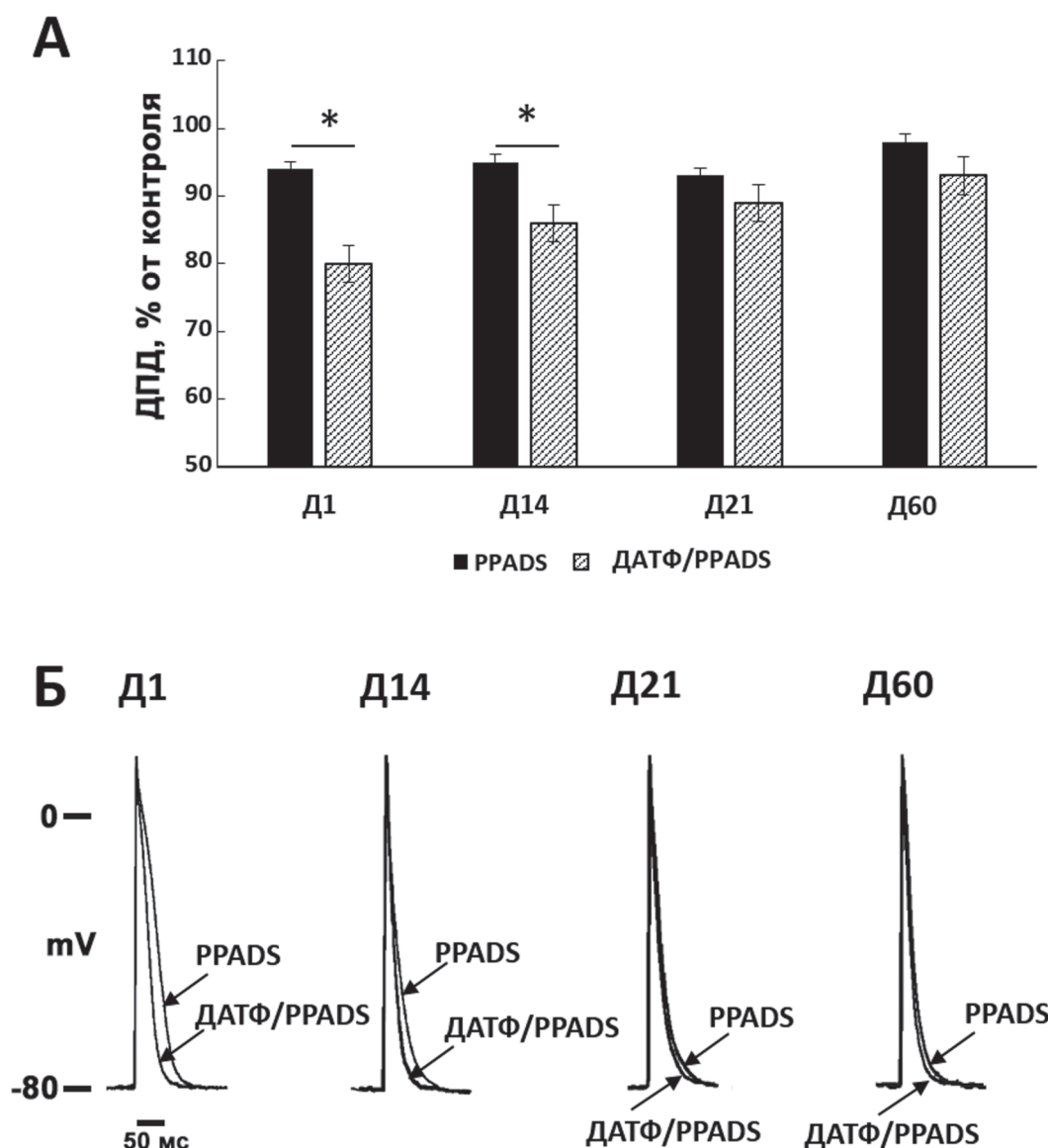
**Рис. 2.** Влияние диаденозинтрифосфата (ДАТФ) на длительность потенциалов действия (ПД) в предсердном (А, Б) и желудочковом (В) миокарде крысы, а также влияние ДАТФ на частоту генерации спонтанных ПД в многоклеточных препаратах правого предсердия, включающих пейсмекерную область (Г). ДАТФ использовали в концентрации 10 мкМ. Значения длительности потенциалов действия приведены для 50% (ДПД50%) и 90% (ДПД90%) уровня реполяризации. Длительность потенциалов действия в контрольных условиях принята за 100%. \* —  $p < 0,05$ , сравнение длительности ПД при действии ДАТФ с длительностью, наблюдаемой в контрольных условиях; # —  $p < 0,05$ , попарное сравнение ДПД90% и ДПД50% для каждой возрастной группы; ++ —  $p < 0,05$  сравнение длительности ПД, наблюдаемой на 1-е, 14-е или 21-е сут постнатального развития, с длительностью ПД у крыс на 60-е сут развития (ANOVA)

двух пуриновых соединений в регуляции ритма сердца: роль АТФ может сводиться к поддержанию ритма сердца, в то время как функция ДАТФ (и, возможно, других ДАПФ) может заключаться в снижении ритма или ограничении влияния избыточной симпатической стимуляции на ритм у взрослых животных.

На следующем этапе работы нами была исследована роль рецепторов P2-типа в опосредовании эффектов ДАТФ в сердце в раннем онтогенезе. В наших экспериментах блокатор P2-рецепторов PPADS вызывал подавление эффектов ДАТФ у животных на 21-е и 60-е сут постнатального развития. При действии ДАТФ в присутствии 100 мкМ PPADS ДПД90% статистически не отличалась от таковой, наблюдаемой только при использовании PPADS в препаратах левого предсердия ( $p > 0,1$ ,  $n = 6$ , рис. 3). Однако в препаратах, полученных от животных в конце первых суток и на 14-е сут жизни PPADS не подавлял снижение ДПД90%, вызываемое ДАТФ ( $p < 0,05$ ,  $n = 6$ ). Таким образом, у крыс в возрасте 60 сут, которые считались нами взрос-

лыми, а также у крыс на 21-е сут жизни эффекты ДАТФ реализуются через пуриновые рецепторы P2-типа.

Показано, что пуриновые P2-рецепторы появляются в различных тканях у млекопитающих уже на плодном этапе развития [20]. В перинатальный период в различных тканях обнаруживаются такие подтипы пуриновых рецепторов, как P2Y<sub>2</sub>, P2Y<sub>4</sub>, P2Y<sub>6</sub> [10, 21]. Эти подтипы пуриновых рецепторов обнаруживаются в миокардиальной ткани сердца крысы. Хорошо известно, что активация рецепторов P2Y может приводить к ингибиторным эффектам в сердечнососудистой системе, в том числе вызывать снижение сократимости миокарда [11, 22]. В связи с вышесказанным мы предполагаем, что, как и у взрослых животных, подавление длительности ПД, вызванное ДАТФ у крысят, обусловлено активацией рецепторов P2Y. Остается непонятным, почему эффекты ДАТФ сохраняются в присутствии PPADS у крыс в период с конца первых суток по 14-е сут постнатального развития. Можно предположить, что данное явление



**Рис. 3.** Влияние блокатора пуриновых рецепторов P2-типа (PPADS) на эффект диаденозинтетрафосфата (ДАТФ) в предсердном миокарде на ранних этапах постнатального онтогенеза (1–21-е сут постнатального развития) и у взрослых (60-е сутки постнатального развития) крыс. PPADS подавляет эффект ДАТФ начиная с 21-х сут, но не оказывает влияния на эффект ДАТФ в период с 1-х по 14-е сут постнатального онтогенеза. ДАТФ использовали в концентрации 10 мкМ, PPADS — в концентрации 100 мкМ. **А.** Длительность потенциалов действия (ПД) на уровне 90% реполяризации при совместном действии ДАТФ и PPADS (ДАТФ/PPADS) в сравнении с длительностью ПД при действии только PPADS; \* —  $p < 0,05$  (ANOVA). **Б.** Репрезентативные потенциалы действия, зарегистрированные в многоклеточных препаратах левого предсердия крысы при действии ДАТФ на фоне PPADS либо только PPADS. Д1 — препараты сердца, полученные от животных в конце первых суток постнатального развития; Д14, Д21 и Д60 — препараты, полученные на 14-е, 21-е и 60-е сут постнатального развития

ние связано со сниженным сродством PPADS к пуриновым рецепторам новорожденных животных, которые могут иметь специфические физико-химические свойства, например, за счет гетеродимеризации с другими рецепторами.

Полученные данные позволяют полагать, что ДАТФ вызывает снижение длительности ПД в предсердном и желудочковом миокарде крыс на ранних этапах постнатального онтогенеза. Таким образом, ДАТФ может оказывать влияние на работу сердца в тот период, когда симпатический нервный контроль еще отсутствует. Эффект ДАТФ сходен по величине в предсердном миокарде крыс

всех исследованных возрастных групп, однако в желудочковом миокарде эффект ДАТФ был больше на 21-е и 60-е сут, чем на 1-е и 14-е сут постнатального онтогенеза. Иначе говоря, в желудочковом миокарде эффект ДАТФ был больше в тот период онтогенеза, когда симпатический контроль работы сердца сформирован. Можно предположить, что одна из физиологических ролей ДАТФ заключается в ограничении адренергических стимуляторных воздействий на желудочковый миокард.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Российского научного фонда (проект № 14-15-00268).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Szalata M. Dinucleoside polyphosphates: occurrence, metabolism and function // *Postepy Biochem.* 2001. Vol. 47. N 1. P. 105–113.
2. Abramochkin D.V., Pustovit K.B., Filatova T.S. Effects of diadenosine polyphosphates on inward rectifier potassium currents in rat cardiomyocytes // *Moscow Univ. Biol. Sci. Bull.* 2015. Vol. 70. N 4. P. 153–157.
3. Pakhomov N.V., Pustovit K.B., Abramochkin D.V., Kuz'min V.S. The role of diadenosine pentaphosphate and nicotinamide adenine dinucleotide (NAD<sup>+</sup>) as potential nucleotide comediators in the adrenergic regulation of cardiac function // *Neurochem. J.* 2017. Vol. 11. N 1. P. 63–71.
4. Flores N.A., Stavrou B.M., Sheridan D.J. The effects of diadenosine polyphosphates on the cardiovascular system // *Cardiovasc. Res.* 1999. Vol. 42. N 1. P. 15–26.
5. Abramochkin D.V., Karimova V.M., Filatova T.S., Kamkin A. Diadenosine pentaphosphate affects electrical activity in guinea pig atrium via activation of potassium acetylcholine-dependent inward rectifier // *J. Physiol. Sci.* 2017. Vol. 67. N 4. P. 523–529.
6. Hoyle C.H., Ziganshin A.U., Pintor J., Burnstock G. The activation of P1- and P2-purinoreceptors in the guinea-pig left atrium by diadenosine polyphosphates // *Br. J. Pharmacol.* 1996. Vol. 118. N 5. P. 1294–1300.
7. Erlinge D., Burnstock G. P2 receptors in cardiovascular regulation and disease // *Purinergic Signal.* 2008. Vol. 4. N 1. P. 1–20.
8. Vassort G. Adenosine 5'-triphosphate: a P2-purinergic agonist in the myocardium // *Physiol. Rev.* 2001. Vol. 81. N 2. P. 767–806.
9. Pustovit K.B., Kuzmin V.S., Abramochkin D.V. Diadenosine tetra- and pentaphosphates affect contractility and bioelectrical activity in the rat heart via P2 purinergic receptors // *Naunyn Schmiedeberg's Arch. Pharmacol.* 2016. Vol. 389. N 3. P. 303–313.
10. Cheung K.K., Ryten M., Burnstock G. Abundant and dynamic expression of G protein-coupled P2Y receptors in mammalian development // *Dev. Dyn.* 2003. Vol. 228. N 2. P. 254–266.
11. Burnstock G., Dale N. Purinergic signalling during development and ageing // *Purinergic Signal.* 2015. Vol. 11. N 3. P. 277–305.
12. Webb T.E., Boluyt M.O., Barnard E.A. Molecular biology of P2Y purinoreceptors: expression in rat heart // *J. Auton. Pharmacol.* 1996. Vol. 16. N 6. P. 303–308.
13. Pelleg A., Katchanov G., Xu J. Autonomic neural control of cardiac function: modulation by adenosine and adenosine-5-triphosphate // *Am. J. Cardiol.* 1997. Vol. 79. N 12. Suppl. 1. P. 11–14.
14. Neumann J., Meissner A., Boknik P., Gombosová I., Knapp J., Lüß H., Müller F.U., Schlüter H., Zidek W., Rolf N., Van Aken H., Vahlensieck U., Schmitz W. Inotropic effects of diadenosine tetraphosphate in isolated canine cardiac preparations // *J. Cardiovasc. Pharmacol.* 1999. Vol. 33. N 1. P. 151–156.
15. Sawmiller D.R., Fenton R.A., Dobson J.G., Jr. Myocardial adenosine A1-receptor sensitivity during juvenile and adult stages of maturation // *Am. J. Physiol.* 1998. Vol. 274. N 2. P. H627–H635.
16. Cothran D.L., Lloyd T.R., Taylor H., Linden J., Matherne G.P. Ontogeny of rat myocardial A1 adenosine receptors // *Biol. Neonate.* 1995. Vol. 68. N 2. P. 111–118.
17. Anikina T.A., Bilalova G.A., Zverev A.A., Sitdikov F.G. Role of P2X and P2Y receptors in rat myocardial contractility during ontogeny // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2007. Vol. 143. N 6. P. 695–698.
18. Anikina T.A., Zverev A.A., Sitdikov F.G., Anisimova I.N. Interaction of adrenergic and purinergic receptors in the regulation of rat myocardial contractility in postnatal ontogeny // *Russ. J. Dev. Biol.* 2013. Vol. 44. N 6. P. 296–301.
19. Anikina T.A., Sitdikov F.G., Khamzina E.Yu., Bilalova G.A. Role of purinoreceptors in cardiac function in rats during ontogeny // *Bull. Exp. Biol. Med.* 2005. Vol. 140. N 5. P. 483–485.
20. Massé K., Dale N. Purines as potential morphogens during embryonic development // *Purinergic Signal.* 2012. Vol. 8. N 3. P. 503–521.
21. Bogdanov Y., Rubino A., Burnstock G. Characterisation of subtypes of the P2X and P2Y families of ATP receptors in the foetal human heart // *Life Sci.* 1998. Vol. 62. N 8. P. 697–703.
22. Buvinic S., Briones R., Huidobro-Toro J.P. P2Y(1) and P2Y(2) receptors are coupled to the NO/cGMP pathway to vasodilate the rat arterial mesenteric bed // *Br. J. Pharmacol.* 2002. Vol. 136. N 6. P. 847–856.

Поступила в редакцию  
09.11.2017

Принята в печать  
14.12.2017

## PHYSIOLOGY

# EFFECTS OF EXTRACELLULAR DIADENOSINE TETRAPHOSPHATE ON ACTION POTENTIALS IN ATRIAL AND VENTRICULAR MYOCARDIUM OF THE RAT HEART DURING EARLY POSTNATAL ONTOGENESIS

K.B. Pustovit<sup>1,2</sup>, V.M. Potekhina<sup>1</sup>, N.V. Pakhomov<sup>1</sup>, V.S. Kuzmin<sup>1,2,\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskie gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;

<sup>2</sup>Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov st. 1, Moscow, 117997, Russia

\*e-mail: ku290381@mail.ru

Diadenosine tetraphosphate (Ap4A) belongs to a wide group of naturally-derived endogenous purine compounds that have been recently considered as new neurotransmitters in autonomic nervous system. It has been shown that Ap4A induces inhibitory effects and modulate adrenergic control in the heart of adult mammals. Nevertheless, the physiological significance of



Ap4A in early postnatal development, when sympathetic innervation remains yet immature, has not been investigated. The aim of the present study was to elucidate the effects Ap4A on heart bioelectrical activity in early postnatal ontogenesis. Action potentials (AP) were recorded with use of standard microelectrode technique in multicellular isolated right atrial (RA), left atrial (LA) and ventricle (RV) preparations from male Wistar rats at postnatal day 1, 14, 21 and, also, from 60-day animals which were considered as adult. The application of Ap4A caused significant reduction of AP duration in atrial (RA and LA) preparations from rats of all ages. Also, Ap4A caused significant AP shortening in RV preparations from rats of various ages, however, the effect was more pronounced in 21-day and adult rats. Ap4A failed to alter automaticity of RA preparations from rats at postnatal day 1, 14, 21 and weakly decreased spontaneous rhythm in RA preparations from the adult rats. The effect of Ap4A was partially abolished by P2-receptor blocker PPADS in LA preparations from both 21 day and adult rats, while failed to suppress Ap4A-caused AP shortening in preparations from 1- and 14-day animals. Thus, extracellular Ap4A causes shortening of AP both in the atrial and ventricular myocardium in early postnatal ontogenesis and adult rats. The effect of Ap4A depends on age only in ventricular myocardium where it may be attributed with growing contribution of diadenosine polyphosphates to the control of myocardium inotropy.

**Keywords:** *diadenosine polyphosphates, diadenosine tetraphosphate, purines, purine receptors, heart, action potential, postnatal development*

#### **Сведения об авторах**

*Пустовит Ксения Борисовна* — аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ, мл. науч. сотр. кафедры физиологии РНИМУ имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: k\_pustovit@mail.ru

*Потехина Виктория Маратовна* — аспирант кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: vm-karimova@yandex.ru

*Пахомов Николай Владимирович* — студент кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: ncklpakhomov@mail.ru

*Кузьмин Владислав Стефанович* — канд. биол. наук, доц. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ, вед. науч. сотр. кафедры физиологии РНИМУ имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: ku290381@mail.ru