ОРИГИНАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ

УДК 591.112.1

ВНЕКЛЕТОЧНЫЙ ДИАДЕНОЗИНТЕТРАФОСФАТ ПОДАВЛЯЕТ ЭКТОПИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ В МИОКАРДИАЛЬНОЙ ТКАНИ ЛЕГОЧНЫХ ВЕН У ВЗРОСЛЫХ, НО НЕ У НОВОРОЖДЕННЫХ КРЫС

В.М. Потехина[1], В.С. Кузьмин[1,2,*], Д.В. Абрамочкин[1,2]

[1]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;
[2]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 эндогенным пуриновым соединением, которое в последнее время рассматривается как нейротрансмиттер и комедиатор в вегетативной нервной системе. Ранее было установлено, что ДАТФ оказывает влияние на биоэлектрическую активность различных отделов сердца, а также является модулятором адренергических воздействий в сердце млекопитающих. Однако физиологическая роль ДАТФ в регуляции биоэлектрической активности миокарда легочных вен (ЛВ) не исследована. Миокардиальная ткань, присутствующая в стенке ЛВ млекопитающих, в большинстве случаев является источником эктопической активности, приводящей к возникновению предсердных аритмий. Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния ДАТФ на биоэлектрическую, в том числе эктопическую проаритмическую, активность в миокарде ЛВ у взрослых крыс и у животных на ранних этапах постнатального развития. Для этого регистрировали потенциал покоя, а также электрически вызванные и спонтанные потенциалы действия с помощью стандартной микроэлектродной техники в многоклеточных перфузируемых изолированных препаратах ЛВ, полученных из сердца крысы в конце первых суток постнатальной жизни, а также на 7-е, 14-е, 21-е и 60-е сут жизни. ДАТФ вызывал статистически значимое снижение длительности потенциала действия в миокардиальной ткани ЛВ животных всех возрастов, использованных в работе. Также ДАТФ приводил к гиперполяризации потенциала покоя в миокарде ЛВ у животных на 14-е, 21-е и 60-е сут постнатального онтогенеза. ДАТФ подавлял спонтанную активность, вызванную норадреналином в ЛВ у крыс, начиная с третьей недели постнатальной жизни, однако пуриновое соединение было не способно влиять на автоматию ЛВ у неонатальных крыс. Возможно, что ДАТФ, высвобождаясь из нервных окончаний в качестве котрансмиттера, ослабляет эктопическую аритмогенную активность, вызванную симпатической стимуляцией в миокардиальных рукавах ЛВ.

Ключевые слова: *диаденозинполифосфаты, диаденозинтетрафосфат, пурины, пуриновые рецепторы, сердце, легочные вены, эктопическая активность, аритмия, 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 множества физиологических функций [1]. Показано, что ДАПФ проявляют свойства нейро-

медиаторов и комедиаторов в вегетативной нервной системе.

Показано, что внеклеточные ДАПФ оказывают влияние на работу сердца взрослых животных: подавляют его сократительную активность, вызывают изменение потенциалов действия (ПД) и ионных токов [2–5]. Поскольку ДАПФ являются пуриновыми соединениями, то их регуляторные эффекты в миокарде связывают с действием на мембранные рецепторы пуриновых нуклеотидов [6–10]. Известно, что регуляторное действие пуринов в значительной степени заключается в модуляции симпатических и парасимпатических влияний в сердце [11]. Основная роль ДАПФ в сердце может сводиться к ограничению адренергических воздействий на пре- или постсинаптическом уровне [3, 12].

К настоящему времени показано, что у большинства млекопитающих и у человека участки стенок легочных вен (ЛВ), прилегающие к левому предсердию, содержат кардиомиоциты, которые формируют миокардиальную ткань или так называемые «миокардиальные обкладки» ЛВ [13]. Миокардиальная обкладка ЛВ служит источником «эктопической» активности, приводящей к возникновению суправентрикулярных аритмий, в том числе фибрилляции предсердий [14]. Хорошо известно, что симпатические или адренергические воздействия играют значительную роль в инициации предсердных аритмий. Симпатическая или адренергическая стимуляция существенно усиливает аритмогенные свойства миокардиальной обкладки ЛВ за счет влияния на их биоэлектрическую активность [15, 16]. Пуриновые комедиаторы или нейромедиаторы могут существенно влиять на эффекты симпатического нейромедиатора норадреналина (НА) в миокардиальной ткани ЛВ, изменяя способность этой ткани служить источником аритмий [17]. Тем не менее роль целого ряда пуриновых регуляторных соединений, в том числе ДАПФ, как факторов, способных влиять на эктопическую аритмогенную активность миокарда ЛВ, исследована недостаточно. Цель настоящей работы заключалась в изучении влияния одного из ДАПФ, а именно диаденозинтетрафосфата (ДАТФ) на биоэлектрическую активность миокардиальной ткани ЛВ, а также на аритмогенную активность, вызванную симпатическим нейромедиатором НА в этой ткани.

В работе также рассматриваются онтогенетические аспекты действия ДАТФ, так как эффекты пуриновых соединений в ЛВ могут существенно различаться на разных этапах развития. Предполагаемые различия могут быть связаны с тем, что формирование симпатического контроля работы сердца происходит в постнатальном онтогенезе, а именно на 2–3-й нед. развития [18], а также изменением количества рецепторов пуриновых нуклеотидов [19]. Кроме того, усиление «аритмогенности» ЛВ связывают с восстановлением неонатального электрофизиологического фенотипа в данной структуре.

В настоящее время показано, что ДАПФ, цепь остатков фосфорной кислоты которых варьирует от двух до шести, поступают во внеклеточную среду и являются физиологически активными [4]. Среди всех ДАПФ ДАТФ является основным ДАПФ, синтезируемым клеткой. Впервые физиологическая активность была выявлена именно у ДАТФ. Влияние ДАТФ на биоэлектрическую активность сходно в рабочем миокарде нескольких видов лабораторных животных [9, 20]. Вследствие этого именно ДАТФ был выбран в данной работе в качестве тестового соединения.

Материалы и методы

Работа выполнена с использованием изолированных многоклеточных препаратов сердца крысы. Всего было получено по одному препарату от 69 животных. В ходе экспериментов были соблюдены все актуальные требования этических норм работы с лабораторными животными, установленные Комиссией по биоэтике МГУ. Половозрелые самцы и самки крыс (Wistar, 250–300 г, возраст 9 нед.) были получены из питомника «Научный центр биомедицинских технологий» (Россия, Москва) 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 7-е, 14-е, 21-е и 60-е сут (Д7, Д14, Д21, Д60) постнатальной жизни. До 21-х сут жизни потомство содержалось с самками в индивидуальных клетках. Крыс в возрасте 60 сут считали взрослыми.

Для выявления действия ДАТФ на биоэлектрическую активность сердца регистрировали потенциал покоя (ПП) и ПД в многоклеточных перфузируемых препаратах ЛВ крысы с помощью стандартной микроэлектродной техники согласно процедуре, подробно описанной ранее [9]. Регистрировали либо электрически вызванные, либо спонтанные ПД.

Перед экспериментом крыс декапитировали, вскрывали грудную клетку, извлекали сердце, выделяли многоклеточные препараты ЛВ. Препараты помещали в экспериментальную камеру, разрезали таким образом, чтобы

регистрация ПП и ПД была возможна с эндокардиальной стороны, перфузировали при 37°С оксигенированным (O_2 – 95%, CO_2 – 5%) раствором Тироде с pH 7,2–7,4 (состав, мМ: NaCl – 129; KCl – 4; NaH_2PO_4 – 20,9; $MgSO_4$ – 0,5; $NaHCO_3$ – 20; $CaCl_2$ – 1,2; глюкоза – 5) со скоростью протока 10 мл/мин. В части экспериментов ПД вызывали нанесением электрических стимулов при помощи серебряных электродов, соединенных со стимулятором ЭЛС-2 (Россия, частота стимуляции – 3,3 Гц, длительность прямоугольных импульсов – 2 мс, амплитуда импульсов – 3–10 В).

Для отведения ПД использовали стеклянные микроэлектроды (сопротивление – 10–30 МОм), подключенные к усилителю (Neuroprobe Amplifier Model 1600; 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 90% реполяризации (ДПД90%).

После получасовой 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 (Sigma-Aldrich, США) либо при одновременном действии ДАТФ в той же концентрации и НА в концентрации 10 мкМ в течение 10 мин.

Следует отметить, что длительность ПД в контрольных условиях существенно различается в препаратах, полученных от крыс разного возраста (рис. 1А). Наибольшая длительность ПД в наших экспериментах наблюдалась в миокарде ЛВ у взрослых животных. Длительность ПД, наблюдаемую при действии ДАТФ, представляли в % от контрольного значения, полученного для животного конкретного возраста.

Для статистической обработки результатов использовали программу Statistica 6.0 (StatSoft Inc., США). Статистически значимые различия между группами выявляли с помощью двухфакторного дисперсионного анализа (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-Вилка. Тест Фишера использовали для оценки значимости влияния ДАТФ на спонтанную активность, вызванную НА. Различия считались значимыми при $p<0,05$. Данные представлены как среднее ± стандартная ошибка среднего за исключением репрезентативных записей.

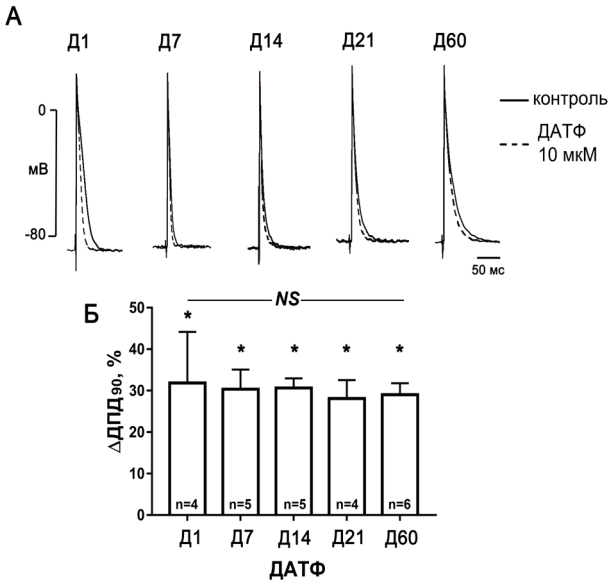

Рис. 1. Влияние диаденозинтетрафосфата (ДАТФ) на электрически вызванные потенциалы действия в многоклеточных препаратах легочных вен, полученных от крыс на разных этапах постнатальной жизни. **А**. Репрезентативные примеры потенциалов действия в контрольных условиях (сплошная линия) и при действии ДАТФ (пунктирная линия) в концентрации 10 мкМ. Д1 – препараты легочных вен, полученные от животных в конце первых суток постнатального развития; Д7, Д14, Д21 и Д60 – препараты, полученные на 7-е, 14-е, 21-е и 60-е сут постнатального развития. **Б**. Изменение длительности потенциала действия (ΔДПД90) на уровне 90% реполяризации при действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ в препаратах легочных вен крысы на разных этапах постнатального онтогенеза. * – достоверное отличие длительности потенциала действия на уровне 90% реполяризации при действии ДАТФ от контрольных значений длительности потенциала действия, $p<0,05$; NS – незначимо (non-significant; различия в проявлении эффекта ДАТФ между разными возрастными группами)

Результаты и обсуждение

В наших экспериментах ПД предсердного типа в многоклеточных препаратах ЛВ наблюдали на всех протестированных этапах постнатального развития. Уже начиная с первых суток постнатального развития, миокардиальная ткань ЛВ способна отвечать на электрическую стимуляцию ПД, конфигурация которых сходна с таковой в рабочем миокарде предсердий. ДАТФ оказывал существенное влияние на ПД в миокарде ЛВ, что показано впервые. Репрезентативные примеры ПД в контрольных условиях, а также при действии ДАТФ в разных возрастных группах представлены на рис. 1А. В контроле ДПД90% в препаратах ЛВ, полученных от крыс в возрасте

Д1, Д7, Д14, Д21, Д60, составила 37±11 (n=9), 20±5 (n=6), 22±4 (n=6), 27±3 (n=5) и 55±6 мс (n=5) соответственно (рис. 2А). При действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ ДПД90% в ЛВ снизилась на 32±12% (n=4), 31±4% (n=5), 31±2% (n=5), 28±4% (n=4) от контрольных значений в препаратах, полученных от животных в возрасте Д1, Д7, Д14, Д21, соответственно. В препаратах ЛВ, полученных от животных в возрасте Д60, ДПД90% при действии ДАТФ снизилась на 29±3% (n=6) от контрольного показателя. Таким образом, прямым (т.е. постсинаптическим) эффектом ДАТФ в миокарде ЛВ крыс разных возрастов является уменьшение длительности электрически вызванных ПД.

Следует отметить, что, несмотря на разницу в абсолютной величине длительностей ПД, характерных для разных периодов постнатального развития, величина эффекта ДАТФ, выражаемая в процентах, была близка в препаратах, полученных от крыс с первых по 60-е сут жизни (рис. 1Б). Ранее было показано, что величина эффекта ДАТФ (укорочение ПД) в рабочем миокарде предсердий сходна у крыс в период с 7-х по 60-е сут жизни [21] и лежит в диапазоне 25–30%. Наши результаты указывают на то, что характер и величина эффекта ДАТФ в миокарде ЛВ и предсердий оказываются сходными.

Известно, что для рабочего миокарда крыс характерно изменение длительности ПД в ходе раннего постнатального онтогенеза, которое связывают с изменением плотности трансмембранных ионных токов, например, калиевого тока задержанного выпрямления IKr [22]. Пропорциональное снижение длительности ПД на разных этапах развития в ЛВ под действием ДАТФ можно связать с тем, что основной конечной мишенью активируемых им сигнальных каскадов является один или несколько определенных трансмембранных ионных токов.

В наших экспериментах ДАТФ оказывал значимое влияние на ПП в части возрастных групп при отсутствии электрической стимуляции. В контрольных условиях ПП в препаратах ЛВ, полученных от крыс в возрасте Д1, Д7, Д14, Д21, Д60 составил -87±4 мВ (n=5), -83±6 мВ (n=6) -81±6 мВ (n=6), -68±7 мВ (n=7), -62±5 мВ (n=5) соответственно (рис. 2А). При действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ в препаратах ЛВ от животных в возрасте Д14, Д21, Д60 наблюдали статистически значимую гиперполяризацию ПП (рис. 2А,Б), которая составила 6±2, 9±1, 9±1,5 мВ соответственно. В препаратах, полученных от животных в возрасте Д1 и Д7, ДАТФ статистически значимого изменения ПП не вызывал. Таким образом, ДАТФ приобретает способность вызывать гиперполяризацию ПП в ЛВ крысы только начиная с 14-х сут постнатальной жизни.

Следует указать, что во всех препаратах ЛВ, полученных от крыс в конце первых сут после рождения, наблюдали спонтанные (или иначе, автоматические) ПД, которые следовали с регулярной периодичностью; спонтанные ПД наблюдали непрерывно в течение всей записи. В таких препаратах ДАТФ не снижал частоту следования спонтанных ПД, и не подавлял их: в миокардиальной ткани ЛВ от новорожденных животных спонтанные ПД наблюдали в 100% случаев при действии ДАТФ (рис. 2А,В).

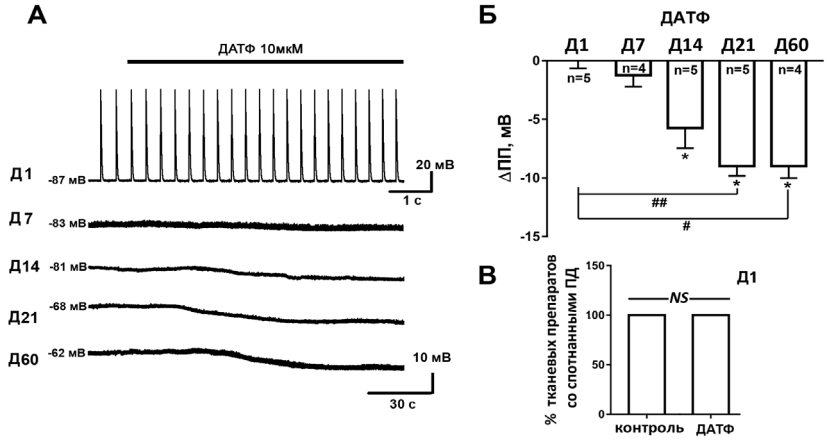

Рис. 2. Влияние диаденозинтетрафосфата (ДАТФ) на потенциал покоя (ПП) в многоклеточных препаратах легочных вен, полученных от крыс на разных этапах постнатальной жизни. **А**. Оригинальные записи ПП при действии ДАТФ в концентрации 10 мкМ в препаратах легочных вен крыс, полученные от животных в конце первых суток постнатального развития (Д1), а также на 7-е, 14-е, 21-е и 60-е сут (Д7, Д14, Д21 и Д60) постнатального развития. Во всех экспериментах в препаратах из группы Д1 в контрольных условиях наблюдали спонтанные потенциалы действия, в то время как в других возрастных группах спонтанные потенциалы действия в контрольных условиях отсутствовали. **Б**. Изменение ПП в препаратах легочных вен крыс под действием ДАТФ на разных этапах постнатального онтогенеза. # – достоверное отличие ПП под действием ДАТФ от ПП, наблюдаемого в конце первых суток развития, $p<0,05$; ## – то же самое, $p<0,005$; * – достоверное отличие ПП при действии ДАТФ от контрольных значений ПП, $p<0,05$. **В**. Спонтанная активность в препаратах легочных вен, полученных от крысят в конце первых суток постнатального развития при действии 10 мкМ ДАТФ (NS – незначимо; non-significant)

На следующем этапе работы нами было исследовано влияние ДАТФ на эффекты НА в миокарде ЛВ. Во всех экспериментах в препаратах ЛВ, полученных от животных в возрасте Д21 и Д60, НА в концентрации 10 мкМ вызвал спонтанную активность. Спонтанные ПД развивались через 5–7 мин после начала действия НА. В данных экспериментах спонтанная активность имела преимущественно пачечный характер: залпы ПД сходной длины чередовались с периодами покоя (рис. 3А). Предполагается, что особенностью миокардиальной ткани ЛВ *in vivo* у млекопитающих, включая человека, является способность генерировать спонтанные ПД под действием НА, высвобождаемого из симпатических нервов. Поскольку такие спонтанные ПД возникают вне участков миокарда, являющихся естественными источниками автоматии и ритмо-

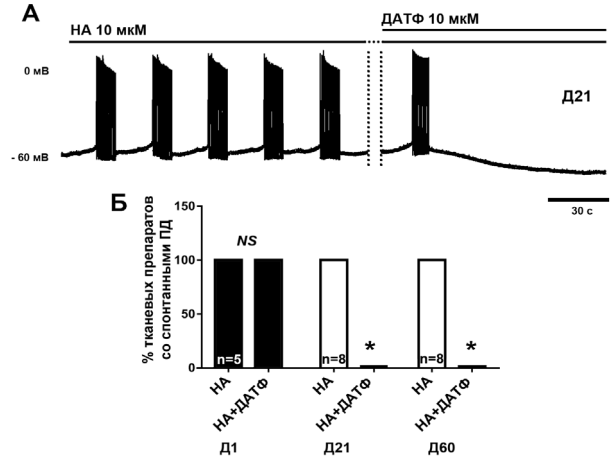

Рис. 3. Влияние диаденозинтетрафосфата (ДАТФ) на спонтанную активность, вызванную норадреналином (НА) в многоклеточных препаратах легочных вен, полученных от крыс на разных этапах постнатальной жизни. **А**. Репрезентативная запись спонтанной активности (периодические спонтанные залпы потенциалов действия – ПД), возникающей при действии 10 мкм НА в миокардиальной ткани легочных вен крысы в возрасте 21 сут, а также ее подавление ДАТФ (1 – мкМ). **Б**. Подавление ДАТФ спонтанной активности, вызванной НА, в препаратах легочных вен крыс в возрасте Д1, Д21 и Д60. Черным цветом отмечены препараты, полученные в конце первых сут развития, где спонтанная активность наблюдалась в базальных условиях, т.е. независимо от действия НА. В таких препаратах ни НА, ни ДАТФ не вызывали каких-либо изменений спонтанной активности. * – достоверное отличие числа препаратов препаратов, в которых выражено влияние ДАТФ на фоне аппликации НА, от числа препаратов, в которых влияния нет, $p<0,05$, NS – незначимо (non-significant)

водителями сердца в нормальных условиях, то их рассматривают как эктопические. Как указано выше, эктопическая активность в ЛВ служит источником предсердных аритмий. Несомненно, что спонтанная активность, вызванная действием НА в экспериментальных условиях в изолированных участках ЛВ крыс, существенно отличается от эктопической активности в патологически измененной миокардиальной ткани ЛВ человека, страдающего фибрилляцией предсердий. Тем не менее экспериментальные исследования с использованием препаратов крыс позволяют получить представление о влиянии тех или иных физиологически активных соединений на эктопию ЛВ и их роли в «аритмогенезе».

Значение ПП, при котором возникают первые спонтанные ПД в пачке, лежало в диапазоне от -70 до -55 мВ в препаратах крыс в возрасте как Д7, так и Д60. В препаратах, полученных от животных в возрасте Д7 и Д14 НА вызывал спонтанные ПД только в 22% (2 из 9) и 33% случаев (2 из 6); ПД в этих случаях возникали нерегулярно и частота их следования была низкой (0,5±0,2 Гц). Поэтому эти возрастные группы исключили из дальнейшего рассмотрения.

Как указано выше, в препаратах ЛВ, полученных от крыс в возрасте Д1, всегда наблюдали спонтанные ПД. НА не вызвал значимого изменения характера этой активности. Например, частота следования спонтанных ПД составляла 2,8±1 Гц (n=7) в контрольных условиях и 3,2±1 Гц (n=7) при действии НА. Как и НА, ДАТФ был неспособен вызвать сколь-либо заметное изменение автоматической активности в препаратах ЛВ, полученных от крыс в возрасте Д1.

Однако, в отличие от животных в возрасте Д1, в ЛВ, полученных от крыс в возрасте Д21 и Д60, ДАТФ в концентрации 10 мкМ отчетливо вызывал подавление спонтанной пачечной активности, индуцированной НА. Этот эффект был статистически значимым: прекращение спонтанной активности происходило в 100% препаратов, полученных от крыс обоих возрастов (рис. 3А,Б). Во всех случаях спустя 0,5–1 мин после начала действия ДАТФ происходила гиперполяризация ПП на 7–8,5 мВ, в то время как очередного залпа спонтанных ПД не возникало. Следует указать, что в ходе последнего залпа не наблюдали заметного снижения частоты следования спонтанных ПД или иных изменений.

В предыдущей работе [17] нами было исследовано влияние двух других пуриновых соединений – никотинамидадениндинуклеотида ($НАД^+$) и АТФ, рассматриваемых в настоящее время как нейротрансмиттеры, а также как комедиаторы в вегетативной нервной системе – на биоэлектрическую активность миокарда

ЛВ. Было установлено, что внеклеточные $НАД^+$ и АТФ вызывают снижение частоты следования спонтанных ПД, увеличение интервалов времени между залпами ПД, а также снижение длительности залпов спонтанных ПД, индуцированных НА в ЛВ. Однако оба соединения не приводили к полному подавлению автоматии в ЛВ. Результаты наших исследований позволяют предположить, что ДАТФ, возможно, будучи симпатическим комедиатором, ослабляет аритмогенную активность в миокарде ЛВ и делает это более выраженно, чем $НАД^+$ и АТФ. Способность ДАТФ подавлять спонтанную активность в ЛВ, возможно, связана с его гиперполяризующим действием на ПП.

В заключение следует отметить, что ДАТФ вызывает снижение длительности вызванных ПД в миокардиальной ткани крыс как на ранних этапах постнатального онтогенеза, так и у взрослых животных. Эффект ДАТФ сходен по величине с таковым, наблюдаемым в рабочем миокарде предсердий крыс в возрасте от Д7 до Д60. ДАТФ оказывает влияние на электрофизиологию ЛВ в тот период, когда симпатический нервный контроль еще отсутствует. ДАТФ подавляет спонтанную активность, вызванную НА в миокардиальной ткани ЛВ у крыс, начиная с третьей недели постнатальной жизни, однако пуриновое соединение неспособно влиять на автоматию миокардиальной ткани ЛВ у неонатальных животных.

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

Эксперименты проведены с соблюдением этических норм работы с животными, установленными Комиссией по биоэтике МГУ. Авторы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

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^+) 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-purinoceptors 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 Schmiedebergs Arch. Pharmacol. 2016. Vol. 389. N 3. P. 303–313.

10. *Pakhomov N., Pustovit K., Potekhina V., Filatova T., Kuzmin V., Abramochkin D.* Negative inotropic effects of diadenosine tetraphosphate are mediated by protein kinase C and phosphodiesterases stimulation in the rat heart // Eur. J. Pharmacol. 2018. Vol. 820. P. 97–105.

11. *Pelleg A., Katchanov G., Xu J.* Autonomic neural control of cardiac function: modulation by adenosine and adenosine-5-triphosphate // Am. J. Cardiol. 1997. Vol. 9149. N 2. Suppl. 1. P. 11–14.

12. *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.

13. *Masani F.* Node-like cells in the myocardial layer of the pulmonary vein of rats: an ultrastructural study // J. Anat. 1986. Vol. 145. P. 133–142.

14. *Haissaguerre M., Jais P., Shah D.C.* Spontaneous initiation of atrial fibrillation by ectopic beats originating in the pulmonary veins // N. Engl. J. Med. 1998. Vol. 339. N 10. P. 659–666.

15. *Maupoil V., Bronquard C., Freslon J.L., Cosnay P., Findlay I.* Ectopic activity in the rat pulmonary vein can arise from simultaneous activation of alpha1- and beta1-adrenoceptors // Br. J. Pharmacol. 2007. Vol. 150. N 7. P. 899–905.

16. *Ehrlich J.R., Cha T.J., Zhang L., Chartier D., Melnyk P., Hohnloser S.H., Nattel S.* Cellular electrophysiology of canine pulmonary vein cardiomyocytes: action potential and ionic current properties // J. Physiol. 2003. Vol. 551. N 3. P. 801–813.

17. *Karimova V.M., Pustovit K.B., Abramochkin D.V., Kuz'min V.S.* Effect of Purine co-transmitters on automatic activity caused by norepinephrine in myocardial sleeves of pulmonary veins // Bull. Exp. Biol. Med. 2017. Vol. 162. N 5. P. 589-593.

18. *Robinson R.B.* Autonomic receptor–effector coupling during post-natal development // Cardiovasc. Res. 1996. Vol. 31. P. 68–76.

19. *Webb T.E., Boluyt M.O., Barnard E.A.* Molecular biology of P2Y purinoceptors: expression in rat heart // J. Auton. Pharmacol. 1996. Vol. 16. N 6. P. 303–307.

20. *Pustovit K.B., Abramochkin D.V.* Effects of nicotinamide adenine dinucleotide (NAD^+) and diadenosine tetraphosphate (Ap4A) on electrical activity of working and pacemaker atrial myocardium in guinea pigs // Bull. Exp. Biol. Med. 2016. Vol. 160. N 6. P. 733–736.

21. *Pustovit K.B., Potekhina V.M., Pakhomov N.V., Kuzmin V.S.* Effects of extracellular diadenosine tetraphosphate on action potentials in the atrial and ventricular myocardium of the rat heart during early postnatal ontogenesis // Moscow Univ. Biol. Sci. Bull. 2018. Vol. 73. N 1. P. 43–49.

22. *Nerbonne J.M.* Regulation of voltage-gated K^+ channel expression in the developing mammalian myocardium // J. Neurobiol. 1998. Vol. 37. N 1. P. 37–59.

Поступила в редакцию
29.10.2018
Поступила после доработки
28.12.2018
Принята в печать
10.01.2019

RESEARCH ARTICLE

EXTRACELLULAR DIADENOSINE TETRAPHOSPHATE SUPPRESSES ECTOPIC PROARRHYTHMICITY IN THE MYOCARDIAL TISSUE OF THE PULMONARY VEINS IN ADULT BUT NOT IN NEONATAL RATS

V.M. Potekhina[1], V.S. Kuzmin[1,2,*], D.V. Abramochkin[1,2]

[1]Department of Human and Animal Physiology, Faculty of Biology, Lomonosov Moscow State University, Leninskye gory 1–12, Moscow, 119234, Russia;
[2]Department of Physiology, Pirogov Russian National Research Medical University, Ostrovitianov str. 1, Moscow, 117997, Russia
[*]e-mail: ku290381@mail.ru

Diadenosine tetraphosphate (Ap4A) belongs to a group of endogenous purine compounds that have been recently considered as new neurotransmitters or cotransmitters in autonomic nervous system. It has been shown that Ap4A affects electrophysiology of a pacemaker and working myocardium; modulates adrenergic control of the heart in adult mammals. Nevertheless, the physiological role of Ap4A in regulation of bioelectric properties in pulmonary veins (PV) myocardium has not still been investigated. It is well known that myocardial tissue in the wall of the PV acts as source of the ectopic proarrhythmic activity that underlies supraventricular arrhythmias like atrial fibrillation. The aim of the present study was to elucidate the effects Ap4A on bioelectrical properties and proarrhythmic ectopy in PV in adults and at early postnatal ontogenesis. Thus, the action potentials were recorded with use of standard microelectrode technique in multicellular isolated PV preparations from male Wistar rats at postnatal day 1-, 7-, 14-, 21- and, also, from 60-day-old animals, which were considered as mature. The application of Ap4A caused significant reduction of action potential duration in PV preparations from rats of all ages. Also, Ap4A caused significant

resting membrane potential hyperpolarization in quiescent PV preparations from 14-, 21- and 60-day-old rats. In addition, Ap4A caused complete and significant suppression of ectopic automaticity caused by preliminary noradrenaline administration in PV from 21- and 60-day-old rats, but Ap4A was unable to alter spontaneous intrinsic activity in PV from neonate (1-day-old) rats. The Ap4A-caused attenuation of noradrenaline-induced ectopy in PV was accompanied by substantial resting membrane potential hyperpolarization in all cases. Our results allow suggesting that the release of Ap4A as cotransmitter from autonomic nerves endings can reduce proarrhythmic ectopy caused by sympathetic stimulation of the PV myocardium in vivo.

Keywords: *diadenosine polyphosphates, diadenosine tetraphosphate, purines, purine receptors, heart, pulmonary veins, ectopic activity, arrhythmia, postnatal development*

Сведения об авторах

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

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

Абрамочкин Денис Валерьевич – докт. биол. наук., вед. науч. сотр. кафедры физиологии человека и животных биологического факультета МГУ; вед. науч. сотр. ккафедры физиологии Российского национального исследовательского медицинского университета имени Н.И. Пирогова. Тел.: 8-495-939-14-16; e-mail: abram340@mail.ru