
ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ СТАТЬИ

**РОЛЬ ФОСФОЛИПАЗЫ C В МОДУЛЯЦИИ ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ
АКТИВНОСТИ ПРЕДСЕРДНЫХ КАРДИОМИОЦИТОВ РАЗВИВАЮЩИХСЯ
КРЫС ПРИ СТИМУЛЯЦИИ $\alpha 1$ -АДРЕНОРЕЦЕПТОРОВ**

© 2024 г. Н. Мансур^{1,*}, А. Л. Зефиров², Н. И. Зиятдинова¹, Т. Л. Зефиров¹

¹Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский) федеральный
университет, Казань, Россия

²Казанский государственный медицинский университет, Казань, Россия

*E-mail: nourm94@mail.ru

Поступила в редакцию 10.07.2024 г.

После доработки 25.09.2024 г.

Принята к публикации 14.10.2024 г.

Большинство существующих исследований сосредоточено на механизмах регуляции мембранного электрогенеза через β -адренорецепторы, в то время как электрофизиологические эффекты $\alpha 1$ -адренорецепторов ($\alpha 1$ -АР) остаются малоизученными. Участие фосфолипазы C (PLC) в этих эффектах остается неясным, и изучение неселективного агониста подтипов $\alpha 1$ -АР метоксамина в присутствии ингибитора PLC (U-73122) может прояснить важность PLC в модуляции электрической активности кардиомиоцитов у крыс разных возрастов. Исследование проводилось на 7-, 21- и 100-дневных белых крысах с использованием микроэлектродной техники. Для анестезии использовали уретан, после чего проводили изоляцию сердца и готовили препарат миокарда предсердий с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. Затем регистрировали электрическую активность кардиомиоцитов. Применяли агонист $\alpha 1$ -АР метоксамин и ингибитор PLC U-73122. Стимуляция $\alpha 1$ -АР метоксамином в рабочих кардиомиоцитах правого предсердия крыс разного возраста приводила к увеличению частоты генерации потенциала действия. Метоксамин в концентрации 10^{-8} М увеличивал длительность потенциала действия у 7-дневных крыс, тогда как у 21- и 100-дневных крыс наблюдалось его уменьшение. U-73122 полностью блокировал действие метоксамина во всех возрастных группах, что указывает на важную роль PLC в этих процессах. Результаты показывают, что возраст влияет на реакцию кардиомиоцитов на стимуляцию $\alpha 1$ -АР, а PLC является ключевым элементом в механизмах, обеспечивающих эти эффекты.

Ключевые слова: фосфолипаза C, метоксамин, U-73122, длительность потенциала действия, сердце, крыса

DOI: 10.31857/S0869813924120026, **EDN:** VGEGPQ

ВВЕДЕНИЕ

Адренергические рецепторы впервые были представлены Ahlquist в 1948 г. [1] как различные типы рецепторов, которые активируются одними и теми же катехоламинами, но проявляют противоположные фенотипы в организме. Он определил их как подтипы α и β . Антагонисты α -рецепторов празозин и йохимбин были использованы для дальнейшей

подклассификации этих рецепторов как α -1 и α -2 [2]. α 1-Адренорецепторы (α 1-АР) опосредуют многие важные функции во многих системах органов, включая сердечно-сосудистую, мочеполовую и центральную нервную систему. В сердечно-сосудистой системе все три подтипа α 1-АР были обнаружены в кровеносных сосудах, и их активация в различной степени способствует вазоконстрикции [3]. Физиологическая активность сосудистых α 1-АР имеет первостепенное значение для системной сердечно-сосудистой регуляции [4].

α 1-АР представляют собой семь GPCR трансмембранного домена, участвующих в многочисленных физиологических функциях, контролируемых эндогенными катехоламинами, норадреналином и адреналином, на которые нацелены лекарственные средства, полезные в терапии. Три отдельных гена, продукты которых названы α 1A-АР, α 1B-АР и α 1D-АР, кодируют эти рецепторы. Несмотря на то, что существование множества α 1-АР признано уже 30 лет, их специфические функции все еще в значительной степени неизвестны [5].

При активации агонистами, такими как норадреналин, α 1-АР активируют несколько внутриклеточных сигнальных путей, опосредованных G-белками. Активация фосфолипазы C (PLC) гидролизует фосфатидилинозитол 4,5-бисфосфат (PIP_2) для получения инозитол 1,4,5-трисфосфата (IP_3) и диацилглицерола (DAG), который является путем PLC- IP_3 [6]. В сердце присутствует несколько изоформ PLC из семейств β , γ , δ и ϵ . Активация PLC происходит через гептаспиральные рецепторы, связанные с G-белком ($\text{PLC}\beta$), рецепторные тирозинкиназы ($\text{PLC}\gamma$), PIP_2 и Ca^{2+} ($\text{PLC}\delta$) или Ras ($\text{PLC}\epsilon$). Наибольший интерес для нас представляет $\text{PLC}\beta$, так как его активация происходит через рецепторы, связанные с G-белками [7].

Активация PLC приводит к образованию двух продуктов – IP_3 и DAG, которые играют важную роль в качестве вторичных мессенджеров в клетке. IP_3 , будучи гидрофильным соединением, перемещается из сарколеммы в цитоплазму.

Активированный IP_3 -рецептор на клеточном уровне способствует преобразованию электромеханического сопряжения посредством сенситизации рианодиновых рецепторов. В экспериментах на предсердных и желудочковых кардиомиоцитах было установлено, что активация IP_3 -R способствует положительному инотропному эффекту. Это происходит за счет локального высвобождения Ca^{2+} через IP_3 в непосредственной близости от рианодиновых рецепторов, способствуя кальций-зависимому высвобождению кальция. Активация IP_3 -рецепторов может также иметь значение в развитии Ca^{2+} опосредованной аритмии [8, 9]. Повышенные уровни IP_3 -R наблюдались не только у лабораторных крыс, но и у людей с аналогичными заболеваниями сердца [10]. Активация IP_3 -R, расположенного непосредственно на ядерной мембране, может вызывать локальное увеличение ядерной концентрации Ca^{2+} [11], а также изменение активности различных факторов транскрипции и регуляции метаболических путей [12].

Основная функция DAG, образующегося при гидролизе PIP_2 , – активация протеинкиназы C (PKC). В кардиомиоцитах новорожденных крыс обнаружено 6 изоформ PKC [13]. У взрослых крыс в миокарде остаются только 3 изоформы, а остальные изоформы PKC исчезают с возрастом [14]. Различные изоформы PKC имеют множество мишеней в миокарде. PKC также считается важным регулятором работы каналов тока I_{K} s. I_{K} s снижается в миоцитах мышей и крыс в ответ на активацию PKC. Другие калиевые токи, присутствующие в кардиомиоцитах, также находятся под влиянием PKC. Действие обменника Na/Ca усиливается при его фосфорилировании протеинкиназами. Кроме того, PKC действует на киназы β -адренергических рецепторов, мускариновые рецепторы, транскрипционные факторы и гены, а также на многие другие мишени [15, 16].

U-73122 представляет собой высокоселективный ингибитор PLC, обладающий хорошей проникаемостью через клеточную мембрану благодаря своим липофильным свойствам. U-73122 ингибировал гидролиз PI и синтез IP_3 в разрушенных клеточных системах и уменьшал вызванное агонистами повышение уровня цитоплазматической концентрации Ca^{2+} ($[\text{Ca}^{2+}]_{\text{цит}}$) в интактных клетках, таких как нейтрофилы, клетки нейробластомы, ацинарные клетки и тромбоциты. Таким образом, U-73122 получил общее признание

как специфический ингибитор фосфоинозитид-специфической фосфолипазы C (PI-PLC), а ингибирование повышения $[Ca^{2+}]$ цито в интактных клетках с помощью U-73122 было интерпретировано как свидетельство вклада PI-PLC в ответ, включая гладкие мышцы [17].

Недавние исследования на крысах показали, что стимуляция $\alpha 1$ -АР неселективным агонистом подтипов $\alpha 1$ -АР метоксамином снижает скорость сокращения изолированного сердца взрослой крысы. Выраженность эффекта зависит от концентрации агониста. Внутривенное введение метоксamina также приводит к сердечной брадикардии во всем организме [18]. У новорожденных крыс стимуляция $\alpha 1$ -АР, независимо от концентрации метоксamina, приводила к отрицательной инотропной реакции миокарда предсердий и желудочков [19]. Активация $\alpha 1$ -АР метоксамином также влияет на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов крыс с сохраненными синусовыми узлами. У 7-дневных крыс агонист $\alpha 1$ -АР метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия как в наванязанном, так и в собственном ритме [20]. Однако метоксамин оказывал двойное влияние на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов у 20-недельных крыс. При наванязанном ритме метоксамин увеличивал длительность фазы реполяризации потенциала действия, при собственном ритме – уменьшал. [21]. В отличие от взрослой крысы, адренергическая регуляция в сердце новорожденной крысы имеет незрелую симпатическую иннервацию. 21-дневный возраст характеризуется началом формирования адренергической иннервации сердца крыс и самой большой частотой сердечных сокращений. В связи с вышесказанным, особый интерес представляют исследования на животных разного возраста [22].

Целью нашего исследования было выявить участие PLC в реализации эффектов, вызванных избирательной стимуляцией $\alpha 1$ -АР на электрическую активность кардиомиоцитов у крыс разного возраста.

МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводилось на 7-дневных (новорожденных) ($n = 20$), 21-дневных ($n = 20$) и 100-дневных (взрослых) ($n = 17$) белых крысах с использованием микроэлектродной техники. Эти возрастные группы были выбраны в соответствии с уровнем развития вегетативной регуляции сердца. Крысы содержались в клетках со свободным доступом к воде и пище. Для анестезии внутрибрюшинно вводили 25%-ный раствор уретана из расчета 1.2 г/кг массы тела животного. После инъекции уретана вскрывали грудную клетку, затем вырезали сердце и переносили его в чашку Петри. Был приготовлен препарат миокарда предсердий с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. Во время эксперимента препарат правого предсердия погружали в специальный резервуар, куда подавался термостатированный рабочий раствор Тироде (состав в ммоль/л: NaCl 133.47, KCl 4.69, $NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$ 1.35, $NaHCO_3$ 16.31, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 1.18, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$ 2.5, глюкоза 7.77), и насыщали газовой смесью, состоящей из 95% кислорода и 5% углекислого газа (37 ± 1 °C). pH поддерживался на уровне 7.3–7.4. Внутриклеточный потенциал действия регистрировали с помощью усилителя (A-M Systems) стеклянными микроэлектродами с сопротивлением 25–60 МΩ и диаметром кончика < 1 мкм (BF120-60-10 “Sutter Instruments”), которые изготавливались в день эксперимента на горизонтальном пуллере P-1000 (“Sutter Instruments”). После 35–40 мин ожидания адаптации препарата регистрировали контрольные сигналы, затем в рабочем растворе растворяли агонист $\alpha 1$ -АР метоксамин в концентрации 10^{-8} М и применяли для регистрации [18]. Для оценки участия фосфоинозитольного каскада в реализации эффектов, вызванных избирательной стимуляцией $\alpha 1$ -АР, были проведены эксперименты с применением ингибиторов PLC: U-73122 (10^{-5} М) [17]. Для изучения стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксамином на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности миокарда у крыс разного возраста мы регистрировали контрольные сигналы, затем в рабочем растворе растворяли блокатор PLC-U-73122 (Токрис) в концентрации 10^{-5} М, через 20 мин добавляли

агонист $\alpha 1$ -АР метоксамин (10^{-8} М) и проводили регистрацию. Используемые концентрации были основаны на предыдущих экспериментах. Сигналы регистрировали с помощью программы Elph 3.0. Регистрация мембранного потенциала, потенциала действия, длительности деполяризации, амплитуды потенциала действия и длительности потенциала действия (ДПД) определялась на уровне 20% (ДПД 20%), 50% (ДПД 50%) и 90% (ДПД 90%) фазы реполяризации. Нормальность распределения проверяли с использованием теста Шапиро–Уилка, статистическую значимость оценивали с помощью One Way ANOVA для сравнения двух групп. Когда нормальность распределения отсутствовала, тестировали все процедуры попарного множественного сравнения с использованием метода Холма–Сидака. Различия считали статистически значимыми при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Влияние стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксamiном и метоксamiном на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов у 7-дневных крысят с сохраненными синусовыми узлами и спонтанной активностью

Метоксамин в концентрации 10^{-8} М у новорожденных крысят ($n = 10$, рис. 1, 2) увеличивал длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% с 6.9 ± 0.2 до 9.8 ± 0.4 мс, с 21.5 ± 0.7 до 30.12 ± 0.7 мс, с 67.4 ± 2.4 до 85.67 ± 1.4 мс, что составляет 43.5% ($p < 0.01$), 40% ($p < 0.01$) и 27% ($p < 0.01$) соответственно, тогда как длительность фазы деполяризации не изменялась (2 ± 0.06 до 1.9 ± 0.03 мс). Значения амплитуды потенциала действия (108.3 ± 2.2 до 110 ± 3.1 мВ) и мембранного потенциала (-83.1 ± 0.07 до -83.2 ± 0.09 мВ) также не изменились. Метоксамин в концентрации 10^{-8} М увеличивал частоту спонтанной активности у 7-дневных крысят с 78.3 ± 2.6 до 111.3 ± 3.1 пиков/мин, что составляет 42% ($p < 0.01$).

Следующим этапом работы стало изучение стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксamiном на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности миокарда у 7-дневных крысят ($n = 10$, рис. 1, 2) с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью. U-73122 в отдельности не оказывал значимого воздействия на изучаемые электрофизиологические показатели. Применение метоксamina в концентрации 10^{-8} М на фоне U-73122 (10^{-5} М) у новорожденных крысят не изменяло мембранный потенциал, амплитуду потенциала действия, длительность фазы деполяризации и длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90%. Метоксамин на фоне U-73122 не изменял частоту спонтанной активности 7-дневных крысят.

Влияние стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксamiном и метоксamiном на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов у 21-дневных крыс с сохраненными синусовыми узлами и спонтанной активностью

Применение метоксamina в концентрации 10^{-8} М у 21-дневных животных ($n = 10$, рис. 3, 4) не изменяло мембранный потенциал (-82.8 ± 0.25 до -83.4 ± 0.3 мВ) и амплитуду потенциала действия (103.3 ± 2.9 до 100.9 ± 2.6 мВ). Длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% уменьшилась с 6.4 ± 0.3 до 5.33 ± 0.25 мс, с 20.1 ± 0.7 до 17.5 ± 0.6 мс, с 65.4 ± 2.5 до 56.77 ± 2.6 мс, что составляет 16.5% ($p < 0.01$), 13% ($p < 0.05$) и 13.1% ($p < 0.05$) соответственно. Метоксамин в концентрации 10^{-8} М увеличивал частоту спонтанной активности у 21-дневных крыс с 125.7 ± 4.4 до 156.6 ± 7.5 пиков/мин, что составляет 24.5% ($p < 0.05$).

U-73122 в отдельности не оказывал значимого воздействия на изучаемые электрофизиологические показатели. Применение метоксamina в концентрации 10^{-8} М на фоне U-73122 (10^{-5} М) у 21-дневных крыс ($n = 10$, см. рис. 3, 4) не изменяло мембранный потенциал, амплитуду потенциала действия, длительность фазы деполяризации и длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90%. Метоксамин на фоне U-73122 не изменял частоту спонтанной активности у 21-дневных крыс.

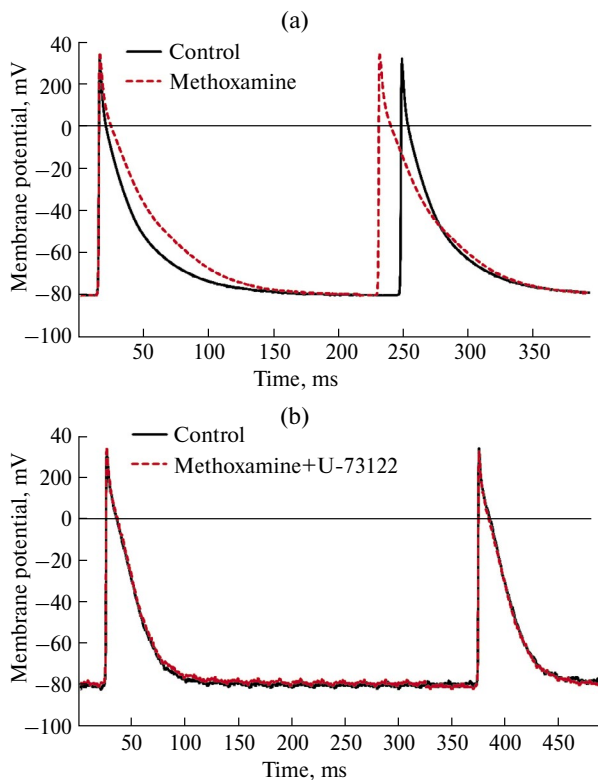


Рис. 1. Оригинальные записи электрической активности, демонстрирующие изменения конфигурации ПД в рабочем миокарде правого предсердия 7-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью при стимуляции метоксамином (а) и на фоне блокады фосфолипазы С ингибитором U-73122 (б).

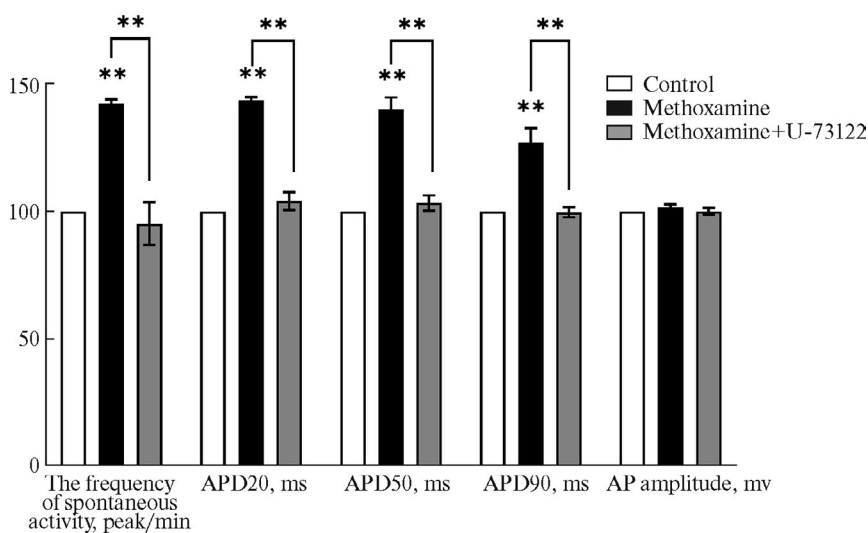


Рис. 2. Эффект (в процентах) метоксamina и метоксamina + U-73122 на амплитудно-временные параметры у 7-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью (** $p < 0.01$).

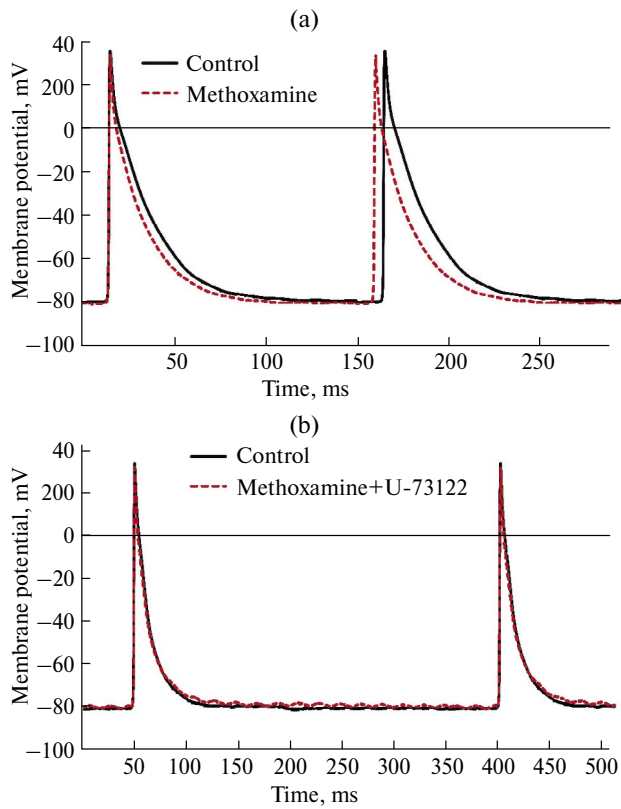


Рис. 3. Оригинальные записи электрической активности, демонстрирующие изменения конфигурации ПД в рабочем миокарде правого предсердия 21-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью при стимуляции метоксamiном (а) и на фоне блокады фосфолипазы С ингибитором U-73122 (б).

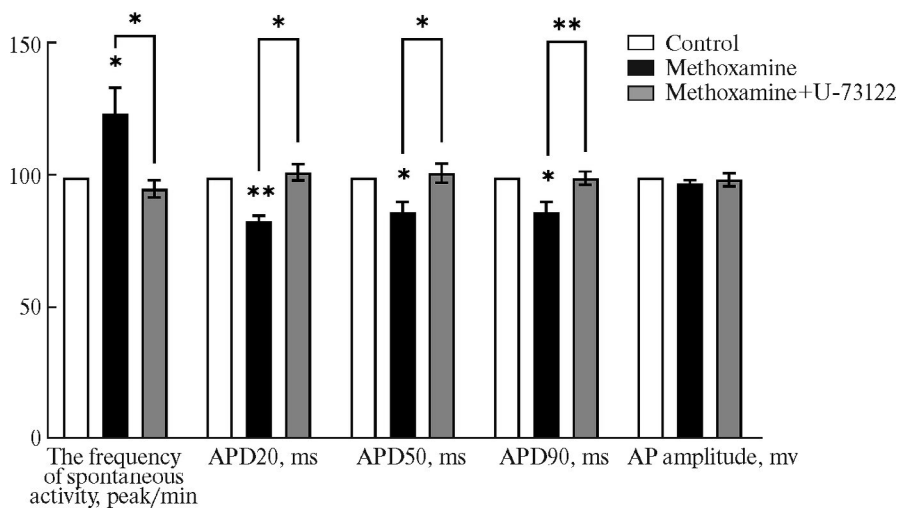


Рис. 4. Эффект (в процентах) метоксamiна и метоксamiна + U-73122 на амплитудно-временные параметры у 21-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

Влияние стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксамином и метоксамином на фоне блокады U-73122 на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов у 100-дневных крыс с сохраненными синусовыми узлами и спонтанной активностью

Метоксамин в концентрации 10^{-8} М у 100-дневных крыс ($n = 10$, рис. 5, 6) уменьшал длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% с 7.3 ± 0.5 до 5.29 ± 0.78 мс, с 22.63 ± 1.9 до 17.4 ± 2.5 мс, с 71.5 ± 4.9 до 60.08 ± 6.05 мс, что составляет 27.5% ($p < 0.01$), 23.1% ($p < 0.01$) и 16% ($p < 0.01$) соответственно, тогда как длительность фазы деполяризации не изменялась (с 1.4 ± 0.05 до 1.4 ± 0.04 мс). Значения амплитуды потенциала действия (с 109.4 ± 2.7 до 104.7 ± 1.9 мВ) и мембранного потенциала (с -83.7 ± 0.2 до -83.3 ± 0.2 мВ) также не изменялись. Метоксамин в концентрации 10^{-8} М увеличивал частоту спонтанной активности у 100-дневных крыс с 164.7 ± 9.2 до 180.96 ± 9.8 пиков/мин, что составляет 9.9% ($p < 0.01$).

U-73122 в отдельности не оказывал значимого воздействия на изучаемые электрофизиологические показатели. Применение метоксaminsа в концентрации 10^{-8} М на фоне U-73122 (10^{-5} М) у 100-дневных крыс ($n = 7$, см. рис. 5, 6) не изменяло мембранный потенциал, амплитуду потенциала действия, длительность фазы деполяризации и длительность потенциала действия при ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90%. Метоксамин на фоне U-73122 не изменял частоту спонтанной активности у 100-дневных крыс.

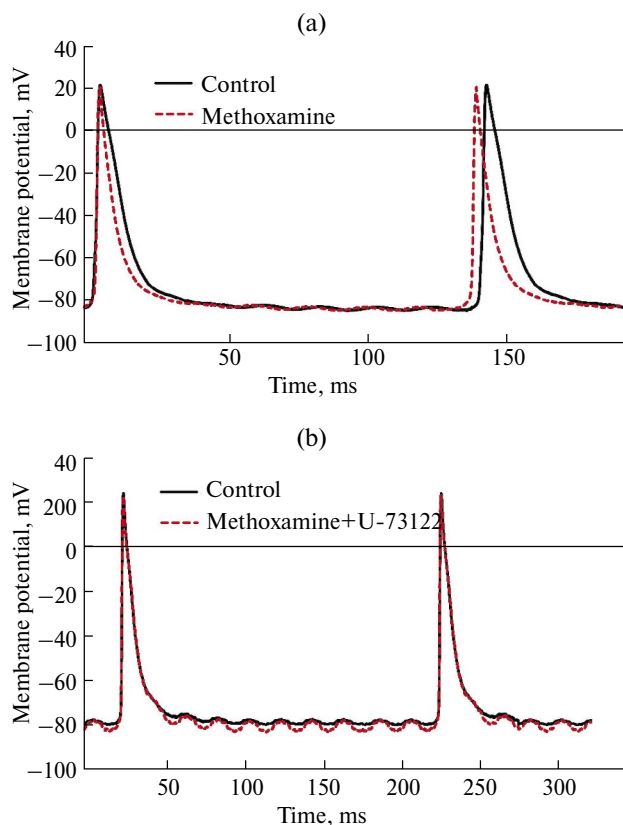


Рис. 5. Оригинальные записи электрической активности, демонстрирующие изменения конфигурации ПД в рабочем миокарде правого предсердия 100-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью при стимуляции метоксамином (а) и на фоне блокады фосфолипазы С ингибитором U-73122 (б).

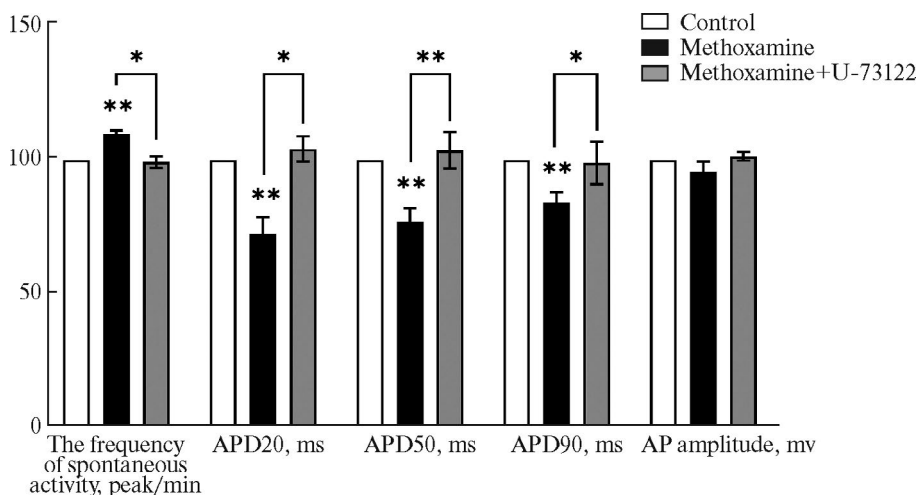


Рис. 6. Эффект (в процентах) метоксамина и метоксамина + U-73122 на амплитудно-временные параметры у 100-дневных крыс с сохраненным синусовым узлом и спонтанной активностью (* $p < 0.05$, ** $p < 0.01$).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В наших экспериментах мы наблюдали возрастные особенности влияния стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксамином на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов и частоту генерации потенциала действия. Было показано, что агонист $\alpha 1$ -АР влияет на длительность реполяризации на уровне ДПД 20%, ДПД 50% и ДПД 90% у крыс разного возраста. Однако изменений мембранного потенциала, амплитуды потенциала действия и длительности фазы деполяризации не наблюдалось. У новорожденных крыс метоксамин увеличивает продолжительность реполяризации, в то время как у 21- и 100-дневных крыс он вызывал ее уменьшение. Эти данные указывают на то, что передача сигналов $\alpha 1$ -АР в миокарде предсердий модулируется с возрастом. Выявленные различия влияния стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксамином на длительность реполяризации рабочих кардиомиоцитов могут быть связаны с незрелой регуляцией симпатической иннервации в сердце новорожденных крыс, и это подтверждает важность адренергической регуляции во время развития [23, 24].

Изучение эффектов стимуляции $\alpha 1$ -АР метоксамином проводилось как отдельно, так и на фоне специфического ингибитора PLC (U-73122). Исследование с блокадой PLC показало, что примененный ингибитор полностью блокирует действие метоксамина во всех возрастных группах (7, 21 и 100 дней). Это позволяет предположить, что PLC играет решающую роль в обеспечении возрастных эффектов метоксамина на электрическую активность предсердий.

Таким образом, в настоящей работе были установлены возрастные особенности противоположного влияния стимуляции $\alpha 1$ -АР на длительность фазы реполяризации рабочих кардиомиоцитов предсердия и частоту генерации потенциала действия. Эти изменения происходят при активации PLC через передачу сигналов РКС в кардиомиоцитах правого предсердия крыс, что изменяется с возрастом. Активация PLC приводит к образованию двух продуктов – IP_3 и DAG. Существует три типа рецепторов IP_3 , которые различаются по своей связывающей способности с IP_3 и взаимодействию с ионами Ca^{2+} . Исследования на различных животных показывают, что все три типа рецепторов могут присутствовать в сердце. Тем не менее существуют различия между видами в преобладании определенной изоформы. У большинства видов животных

в предсердиях и желудочках доминирует второй тип рецептора IP_3 -R [25, 26]. Имеющиеся данные свидетельствуют о том, что плотность рецепторов IP_3 в предсердиях примерно в 6 раз выше, чем в желудочках [8]. DAG активирует PKC, которая участвует в различных клеточных функциях, включая старение, фиброз и гипертрофию. Передача сигналов PKC в кардиомиоцитах крыс изменяется с возрастом. Хотя у новорожденных крыс присутствуют все шесть изоформ (альфа, бета1/2, дельта, эpsilon и дзета) [13], три изоформы (альфа, бета1/2) исчезают с возрастом. В миокарде взрослого человека остаются только дельта-, эpsilon- и дзета-изоформы [14]. Возможно, именно передача сигналов разными изоформами PKC может играть роль в развитии и созревании сердца, а потеря определенных изоформ с возрастом может способствовать возрастным изменениям электрической активности кардиомиоцитов. Ионные каналы являются мишенями для фосфорилирования PKC, что представляет собой регуляторный этап с важными последствиями для здоровья и болезней. Показано, что десять различных семейств мембранных белков, отвечающих за транспорт ионов, зависят от PIP_2 для своей активности, и указано конкретное направление контроля активности этих белков со стороны PIP_2 . К ним относятся каналы транзитного рецепторного потенциала (TRP) (шесть семейств TRP: канонических (TRPC), TRP меластатиновых (TRPM), TRP ваниллоидных (TRPV), TRP анкириновых, TRP поликистозных (TRPP) и TRP муколипиновых); а также каналы внутреннего выпрямления калия (K_{ir}), каналы K_v , каналы двухпорового домена калия (K_{2p}), кальций-активируемые калиевые каналы (K_{Ca}), потенциал-зависимые кальциевые каналы (Ca_v), хлоридные каналы, потенциал-зависимые натриевые каналы (Na_v), кислоточувствительные ионные каналы (ASICs) и каналы коннексинов (Cx_{43}) [16].

Активация PLC и образование IP_3 и DAG важны для регуляции клеточных функций через PKC. Изменения в сигнализации PKC с возрастом, включая потерю изоформ, влияют на развитие сердца и его функции.

Результаты указывают на возможную связь между передачей сигналов PLC и наблюдаемыми возрастными эффектами метоксамина на электрическую активность предсердий, хотя эта связь не является однозначной.

Будущие исследования помогут изучить конкретные сигнальные пути, активируемые PLC, которые включаются при стимуляции $\alpha 1$ -АР и влияют на продолжительность потенциала действия в разных возрастных группах.

ВКЛАДЫ АВТОРОВ

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

ФИНАНСИРОВАНИЕ РАБОТЫ

Настоящая работа финансировалась за счет средств бюджета Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета. Никаких дополнительных грантов на проведение или руководство данным конкретным исследованием получено не было.

СОБЛЮДЕНИЕ ЭТИЧЕСКИХ СТАНДАРТОВ

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

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Ahlquist RP* (1948) A study of the adrenotropic receptors. *Am J Physiol* 153: 586–600.
<https://doi.org/10.1152/AJPLEGACY.1948.153.3.586>
2. *Van Meel JC, de Jonge A, Timmermans PB, van Zwieten PA* (1981) Selectivity of some alpha adrenoceptor agonists for peripheral alpha-1 and alpha-2 adrenoceptors in the normotensive rat. *J Pharmacol Exp Therap* 219: 760–767.
<https://jpet.aspetjournals.org/content/219/3/760.long>
3. *McGrath JC* (2015) Localization of α -adrenoceptors: JR Vane Medal Lecture. *Br J Pharmacol* 172: 1179–1194.
<https://doi.org/10.1111/BPH.13008/SUPPINFO>
4. *Zhang J, Simpson PC, Jensen BC* (2021) Cardiac α 1A-adrenergic receptors: Emerging protective roles in cardiovascular diseases. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 320: H725–H733.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.00621.2020>
5. *Akinaga J, Garcia-Sáinz JA, Pupo SA* (2019) Updates in the function and regulation of α 1-adrenoceptors. *Br J Pharmacol* 176: 2343–2357.
<https://doi.org/10.1111/BPH.14617>
6. *O'Connell TD, Jensen BC, Baker AJ, Simpson PC* (2014) Cardiac Alpha1-Adrenergic Receptors: Novel Aspects of Expression, Signaling Mechanisms, Physiologic Function, and Clinical Importance. *Pharmacol Rev* 66: 308–333.
<https://doi.org/10.1124/PR.112.007203>
7. *Kockskämper J, Zima A V., Roderick HL, Pieske B, Blatter LA, Bootman MD* (2008) Emerging roles of inositol 1,4,5-trisphosphate signaling in cardiac myocytes. *J Mol Cell Cardiol* 45: 128–147.
<https://doi.org/10.1016/j.yjmcc.2008.05.014>
8. *Lipp P, Laine M, Tovey SC, Burrell KM, Berridge MJ, Li W, Bootman MD* (2000) Functional InsP3 receptors that may modulate excitation-contraction coupling in the heart. *Current Biol* 10: 939–942.
[https://doi.org/10.1016/S0960-9822\(00\)00624-2](https://doi.org/10.1016/S0960-9822(00)00624-2)
9. *Domeier TL, Zima A V., Maxwell JT, Huke S, Mignery GA, Blatter LA* (2008) IP3 receptor-dependent Ca^{2+} release modulates excitation-contraction coupling in rabbit ventricular myocytes. *Am J Physiol Heart Circ Physiol* 294: 596–604.
<https://doi.org/10.1152/ajpheart.01155.2007>
10. *Harzheim D, Movassagh M, Foo RSY, Ritter O, Tashfeen A, Conway SJ, Bootman MD, Roderick HL* (2009) Increased InsP3Rs in the junctional sarcoplasmic reticulum augment Ca^{2+} transients and arrhythmias associated with cardiac hypertrophy. *Proc Natl Acad Sci U S A* 106: 11406–11411.
<https://doi.org/10.1073/PNAS.0905485106>
11. *Ibarra C, Vicencio JM, Estrada M, Lin Y, Rocco P, Rebellato P, Munoz JP, Garcia-Prieto J, Quest AFG, Chiong M, Davidson SM, Bulatovic I, Grinnemo KH, Larsson O, Szabadkai G, Uhlén P, Jaimovich E, Lavandero S* (2013) Local control of nuclear calcium signaling in cardiac myocytes by perinuclear microdomains of sarcolemmal insulin-like growth factor 1 receptors. *Circ Res* 112: 236–245.
<https://doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.273839>
12. *Gomez AM, Ruiz-Hurtado G, Benitah J-P, Dominguez-Rodriguez A* (2013) Ca^{2+} Fluxes Involvement in Gene Expression During Cardiac Hypertrophy. *Curr Vasc Pharmacol* 11: 497–506.
<https://doi.org/10.2174/1570161113111040013>
13. *Disatnik MH, Buraggi G, Mochly-Rosen D* (1994) Localization of Protein Kinase C Isozymes in Cardiac Myocytes. *Exp Cell Res* 210: 287–297.
<https://doi.org/10.1006/EXCR.1994.1041>
14. *Pucéat M, Hilal-Dandano R, Strulovicin B, Brunton LL, Brown JH* (1994) Differential regulation of protein kinase C isoforms in isolated neonatal and adult rat cardiomyocytes. *J Biol Chem* 269: 16938–16944.
[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(19\)89480-2](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(19)89480-2)
15. *Steinberg SF* (2012) Cardiac actions of protein kinase C isoforms. *Physiology* 27: 130–139.
<https://doi.org/10.1152/PHYSIOL.00009.2012>
16. *Gada KD, Logothetis DE* (2022) PKC regulation of ion channels: The involvement of PIP2. *J Biol Chem* 298: 102035.
<https://doi.org/10.1016/J.JBC.2022.102035>
17. *MacMillan D, McCarron JG* (2010) The phospholipase C inhibitor U-73122 inhibits Ca^{2+} release from the intracellular sarcoplasmic reticulum Ca^{2+} store by inhibiting Ca^{2+} pumps in smooth muscle. *Br J Pharmacol* 160: 1295–1301.
<https://doi.org/10.1111/J.1476-5381.2010.00771.X>
18. *Zefirov TL, Khabibrakhmanov II, Ziyatdinova NI, Zefirov AL* (2016) Peculiar Aspects in Influence of α 1-Adrenoceptor Stimulation on Isolated Rat Heart. *Bull Exp Biol Med* 162: 4–6.
<https://doi.org/10.1007/S10517-016-3530-Z>

19. Khabibrakhmanov II, Kuptsova AM, Ziyatdinova NI, Mansour N, Zefirov TL (2020) Alpha(1)-Adrenoceptors Activation Decreases Myocardial Contractility in Newborn Rats. *J Exp Biol Agricult Sci* 322–326.
[https://doi.org/10.18006/2020.8\(Spl-2-AABAS\).S322.S326](https://doi.org/10.18006/2020.8(Spl-2-AABAS).S322.S326)
20. Mansour N, Ziyatdinova NI, Zefirov TL (2023) Methoxamine Plays a Role in the Regulation of the Electrical Activity of Newborn Rats. *Opera Med Physiol* 10: 59–64.
<https://doi.org/10.24412/2500-2295-2023-2-59-64>
21. Mansour N, Ziyatdinova NI, Gallieva AM, Shakirov RR, Zefirov TL (2023) Effect of $\alpha 1$ Adreno-receptors Stimulation on Electrical Activity of Rat Atria. *Biophysics (Russ Feder)* 68: 607–611.
<https://doi.org/10.1134/S0006350923040115>
22. Robinson RB (1996) Autonomic receptor-effector coupling during post-natal development. *Cardiovas Res* 31: 68–76.
23. Ferron L, Capuano V, Deroubaix E, Coulombe A, Renaud JF (2002) Functional and molecular characterization of a T-type Ca^{2+} channel during fetal and postnatal rat heart development. *J Mol Cell Cardiol* 34: 533–546.
<https://doi.org/10.1006/jmcc.2002.1535>
24. Protas L, Barbuti A, Qu J, Rybin VO, Palmiter RD, Steinberg SF, Robinson RB (2003) Neuropeptide Y Is an Essential In Vivo Developmental Regulator of Cardiac ICa_L . *Circ Res* 93: 972–979.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000099244.01926.56>
25. Li X, Zima A V., Sheikh F, Blatter LA, Chen J (2005) Endothelin-1-induced arrhythmogenic Ca^{2+} signaling is abolished in atrial myocytes of inositol-1,4,5-trisphosphate(IP3)-receptor type 2-deficient mice. *Circ Res* 96: 1274–1281.
<https://doi.org/10.1161/01.RES.0000172556.05576.4c>
26. Bare DJ, Kettlun CS, Liang M, Bers DM, Mignery GA (2005) Cardiac type 2 inositol 1,4,5-trisphosphate receptor: Interaction and modulation by calcium/calmodulin-dependent protein kinase II. *J Biol Chem* 280: 15912–15920.
<https://doi.org/10.1074/jbc.M414212200>

The Role of Phospholipase C in Modulating the Electrical Activity of Atrial Cardiomyocytes in Growing Rats upon Stimulation of $\alpha 1$ -Adrenergic Receptors

N. Mansour^{a,*}, A. L. Zefirov^b, N. I. Ziyatdinova^a, and T. L. Zefirov^a

^a*Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

^b*Kazan State Medical University, Kazan, Russia*

^{*}*E-mail: nourm94@mail.ru*

Most existing research focuses on the mechanisms regulating membrane electrogenesis through β -adrenergic receptors, while the electrophysiological effects of $\alpha 1$ -adrenergic receptors ($\alpha 1$ -ARs) remain poorly understood. The involvement of phospholipase C (PLC) in these effects is unclear, and the study of the non-selective agonist of $\alpha 1$ -AR subtypes, methoxamine, in the presence of the PLC inhibitor (U-73122) may clarify the importance of PLC in modulating the electrical activity of cardiomyocytes in rats of different ages. The study was conducted on 7-, 21-, and 100-day-old white rats using microelectrode techniques. Urethane was used for anesthesia, after which the heart was isolated, and a preparation of atrial myocardium with a preserved sinoatrial node and spontaneous activity was prepared. The electrical activity of cardiomyocytes was then recorded. To assess the effects, the $\alpha 1$ -AR agonist methoxamine and the phospholipase C inhibitor U-73122 were applied. Stimulation of $\alpha 1$ -ARs with methoxamine in working cardiomyocytes of the right atrium of rats of different ages led to an increase in the frequency of action potential generation. Methoxamine at a concentration of 10^{-8} M increased the action potential duration in 7-day-old rats, whereas it decreased in 21- and 100-day-old rats. U-73122 completely blocked the effect of methoxamine in all age groups, indicating the important role of phospholipase C in these processes. The results demonstrate that age influences the response of cardiomyocytes to $\alpha 1$ -AR stimulation, and phospholipase C is a key element in the mechanisms underlying these effects.

Keywords: phospholipase C, methoxamine, U-73122, action potential duration, heart, rat