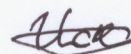


*На правах рукописи*



Искаков Никита Георгиевич

НРУ ЭРГИЧЕСКАЯ РЕГУЛЯЦИЯ СОКРАТИМОСТИ И ЭЛЕКТРИЧЕСКОЙ  
АКТИВНОСТИ ПРЕДСЕРДНОГО МИОКАРДА КРЫС В РАННЕМ ПОСТНАТАЛЬНОМ  
ОНТОГЕНЕЗЕ

**03.03.01 - Физиология**

**АВТОРЕФЕРАТ**

диссертации на соискание ученой степени  
кандидата биологических наук

Казань - 2021



Работа выполнена на кафедре охраны здоровья человека Института фундаментальной медицины и биологии Казанского федерального университета (г. Казань)

**Научный руководитель:** **Зверев Алексей Анатольевич**-кандидат биологических наук, доцент кафедры охраны здоровья человека ИФМиБ ФГАОУ ВО КФУ

**Официальные оппоненты:** **Рошевская Ирина Михайловна**-доктор биологических наук, член-корреспондент РАН, главный научный сотрудник лаборатории фармакологического скрининга, «Федеральное государственное бюджетное учреждение Научно-исследовательский институт фармакологии имени В.В. Закусова» (г. Москва)

**Мухамедьяров Марат Александрович**-доктор медицинских наук, доцент кафедры нормальной физиологии «Федерального государственного бюджетного образовательного учреждения высшего образования Казанский государственный медицинский университет»

**Ведущая организация:** Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Московский государственный университет имени М.В. Ломоносова» (г. Москва)

Защита диссертации состоится «9» июня 2021 года в 13:00 часов на заседании диссертационного совета КФУ.03.06 при ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» по адресу: 420015, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Карла Маркса, д. 76, ауд. 208 (актовый зал).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке им. Н. И. Лобачевского при Казанском федеральном университете.

Автореферат разослан «\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 г.

Сведения о защите, автореферат и диссертация размещены на официальных сайтах ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (<https://vak.minobrnauki.gov.ru>) и ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет» (<http://kpfu.ru>).

Ученый секретарь  
диссертационного совета КФУ, 03.06,  
д.б.н., профессор



Т. А. Аникина.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### Актуальность темы исследования

На протяжении прошлого столетия интенсивно изучалось и продолжает исследоваться в настоящий период влияние классических медиаторов и комедиаторов симпатической и парасимпатической нервной системы на регуляцию деятельности сердца [Курмаев, 1966; Аухадеев, 1969; Ситдииков, 1974; Аникина, 2009; Нигматуллина, 1999; Зефилов, 1999; Зиятдинова и др., 2012; Абрамочкин, 2016; Standen, 1977; Ferrari, 1993; Ryu *et al.*, 1997; Svensson, 2019]. К ним относят: аминокислоты (глутамат, глицин, дофа и др), биогенные амины (норадреналин, адреналин, серотонин, гистамин, дофамин, аминокислотная кислота и др), пурины и пиримидины (АТФ, АДФ, АМФ, УТФ, аденозин и др.) [Burnstock, 1990], пептиды (нейропептид Y), [Ноздрачев, Маслюков, 2011] вазоактивный интестинальный пептид, вещество P, соматостатин и др.) [Protas *et al.*, 2003] газомедиаторы [Ситдикова, Зефилов, 2006] и др. Котрансмиттеры играют важную роль в процессах возрастного развития сердца. Одним из основных комедиаторов симпатической нервной системы является нейропептид Y. В симпатических нейронах нейропептид содержится совместно с норадреналином и АТФ в одной везикуле. При одновременном выделении НА, АТФ и NPY действие NPY осуществляется позже всех.

Нейропептид Y (NPY) представляет собой пептид из 36 аминокислот, выделенный из головного мозга свиньи, который синтезируется и высвобождается из симпатических нервов и мозгового вещества надпочечников [Pedrazzini *et al.*, 2003; Zukowska-Grojec *et al.*, 2003]. NPY участвует в регуляции многих физиологических функций, включая настроение, сердечно-сосудистый гомеостаз, ангиогенез, ремоделирование сердца, аппетит, моторику желудочно-кишечного тракта и симпатическую передачу [Hellstorm *et al.*, 1985; Yang, Levy, 1992; Grundemar, Hakanson, 1993; Wan, Lau, 1995; Michel *et al.*, 1998]. NPY был идентифицирован у многих видов животных и полностью соответствует котрансмиттерным критериям, поскольку хранится в симпатических пузырьках, высвобождается при электрической стимуляции и действует на свои собственные рецепторы. Известно, что более 90% этого биологически активного пептида не изменяется среди видов и сохраняется от рыбы к млекопитающим, т.е не имеет видовую специфичность [Nozdrachev, Masliukov, 2011].

Результаты исследования показали, что NPY выявлялся в интрамуральных узлах предсердий, звездчатых узлах уже с момента рождения и на протяжении остальных изучаемых возрастных групп [Коновалов и др., 2013]. В раннем постнатальном онтогенезе процент нейронов в узлах автономной нервной системы, содержащих нейропептид Y, возрастает [Маслюков и др., 2016].

NPY хранится в везикулах с катехоламинами (норадреналин и адреналин) в периферической нервной системе и, как полагают, играет важную роль в сердечно-сосудистой системе, регулируя тонус сосудов и сократимость сердца [Lundberg *et al.*, 1982; Edvinsson *et al.*, 1987; Corr *et al.*, 1990].

NPY проявляет противоположный эффект в тканях сердца и сосудов [Pons *et al.*, 2003], что в значительной степени зависит от характера экспрессии рецептора NPY, концентрации лиганда, активности дипептидилпептидазы-4 и адренергической активности [Pons *et al.*, 2003; Kitlinska *et al.*, 2005]. Расположенные в сердце рецепторы, чувствительные к NPY, принимают важную роль в сердечно-сосудистых заболеваниях, включая гипертонию, атеросклероз, ишемию, инфаркт миокарда,



диабетическую, стрессовую и гипертрофическую кардиомиопатию, и сердечную недостаточность [Zukowska-Grojec *et al.*, 1991; Lee *et al.*, 2003; Jacques, Abdel-Samad, 2007; Luo *et al.*, 2015].

Повышение уровня NPY в плазме также обнаруживается при патологических состояниях с симпатической гиперактивностью, таких как гипертония, гипертрофия левого желудочка и сердечная недостаточность [Zukowska-Grojec *et al.*, 1991; Dvorakova *et al.*, 2014], что повышает потенциал терапевтического вовлечения рецепторов NPY в новые методы лечения сердечно-сосудистых заболеваний. Таким образом, целый ряд исследований раскрывает эффекты и механизмы действия NPY в сердечно-сосудистой системе, которые носят противоречивый характер. Исследования роли NPY на частоту спонтанной активности и силу сокращения миокарда правого предсердия крыс в раннем постнатальном онтогенезе не проводились.

**Цель исследования**-выявление эффектов и механизмов действия NPY на сократимость и биоэлектрическую активность предсердного миокарда крыс.

Для достижения цели были поставлены следующие задачи:

Задачи исследования:

1. Изучить сократимость миокарда правого предсердия при добавлении NPY разных концентраций у крыс 7-, 21-, 100-суточного возраста.
2. Исследовать биоэлектрическую активность рабочего миокарда предсердий при добавлении NPY разных концентраций у крыс 7-, 21-, 100-суточного возраста
3. Исследовать дозо-зависимый эффект агониста Y1 рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на сократимость миокарда предсердия крыс 7-, 21-, 100-суточного возраста.
4. Изучить биоэлектрическую активность рабочего миокарда предсердий при добавлении агониста Y1 рецепторов [Leu31, Pro34] NPY разных концентраций у крыс 7-, 21-, 100-суточного возраста.
5. Изучить сократимость миокарда предсердия при добавлении антагониста Y1 рецепторов BIBP 3226 у крыс 7-, 21-, 100-суточного возраста.
6. Исследовать биоэлектрическую активность рабочего миокарда предсердий при добавлении антагониста Y1 рецепторов BIBP 3226 у крыс 7-, 21-, 100-суточного возраста.
7. Изучить сократимость и биоэлектрическую активность миокарда предсердия при добавлении [Leu31, Pro34] NPY на фоне блокады Y1 рецепторов у крыс разного возраста.
8. Исследовать модулирующее влияние NPY на сократимость и биоэлектрическую активность миокарда предсердий крыс разного возраста.

### **Научна новизна исследования**

В диссертационной работе впервые показано, что NPY, неселективный агонист Y1, Y5-типа рецепторов [Leu31, Pro34] NPY и селективный антагонист Y1-типа BIBP 3226 уменьшают частоту спонтанной активности миокарда правого предсердия крыс с сохраненным синусным узлом во всех исследуемых возрастных группах. Впервые показано влияние нейропептида Y, [Leu31, Pro34] NPY и BIBP 3226 на сократимость миокарда правого предсердия, а также на изменение длительности фазы реполяризации ПД рабочих кардиомиоцитов в предсердном миокарде крыс. Показано, что нейропептид Y, [Leu31, Pro34] NPY вызывают дозо-зависимое изменение амплитудно-временных параметров

сократимости миокарда. Показано, что блокатор Y1-рецепторов BIBP 3226 разнонаправленно изменяет длительность фазы реполяризации и инотропный эффект предсердного миокарда в зависимости от сформированности симпатической иннервации на сердце. Модулирующее влияние нейропептида Y на эффекты изопретернола показало, что данный пептид модулирует адренергическую регуляцию сократительной и биоэлектрической активности миокарда разнонаправленно на разных этапах постнатального онтогенеза крыс.

### **Научно-практическая ценность**

Полученные результаты вносят вклад в представление о физиологической роли нейропептида Y и рецепторов, чувствительных к нейропептиду Y в сердце. Исследование значительно углубляет имеющиеся представления об сократительных и частотных эффектах нейропептида Y в качестве модулятора эффектов классических медиаторов в условиях становления регуляторных симпатических влияний на сердце. Материалы исследования заслуживают внимания со стороны специалистов по возрастной и нормальной физиологии и кардиологии. Данные о механизмах действия нейропептида Y в предсердном миокарде представляют практическую ценность в связи с возможностью терапевтического использования данного пептида при различных заболеваниях сердечно-сосудистой системы.

### **Методология и достоверность полученных данных**

Эксперименты проводились на белых беспородных крысах 7-, 21- и 100- суточного возраста. Использовались животные из вивария Казанского федерального университета. Эксперименты проводились в соответствии с этическими нормами по гуманному обращению с животными. Общее количество использованных животных составило 384.

В качестве методов исследования использовали электрофизиологический метод регистрации потенциала действия рабочих кардиомицитов правого предсердия и тензометрический метод регистрации изометрического сокращения миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью.

Достоверность полученных данных основана на большом объеме результатов экспериментальных исследований с использованием адекватных методических подходов и статистической обработки полученных результатов.

### **Основные положения, выносимые на защиту:**

1. В раннем постнатальном онтогенезе NPY регулирует сократимость и электрическую активность миокарда правого предсердия крыс через Y1-рецепторы.
2. Модулирующее влияние стимуляции  $\beta$ -адренорецепторов нейропептидом Y зависит от уровня формирования симпатической регуляции сердца крыс.

### **Апробация работы**

Основные результаты диссертационной работы доложены на следующих конференциях и съездах. «Адаптация развивающегося организма», конференция, посвященная 80-летию заслуженного деятеля науки РФ и РТ Ситдикова Фарита Габдулхаковича (Казань, 2018); на III Международной научной конференции, посвященная памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессору Шилкину Валентину Викторовичу (Ярославль, 2018); ASCB | EMBO Сан Диего Convention Center (2018); на III Международном конгрессе, «Фундаментальная и клиническая электрофизиология» посвященная А.Ф. Самойлову (Казань, 2019); 53rd Annual Scientific Meeting of the European Society for Clinical Investigation (ESCI) Коимбра University of Coimbra (University of Coimbra 2019); на VII Всероссийской международной конференции физиология и патология кровообращения (Москва 2020); на Всероссийской конференции молодых ученых «Актуальные проблемы нейробиологии» (Санкт-Петербург 2020); Всероссийской конференции с международным участием «Самойловские чтения». Современные проблемы нейрофизиологии к 145-летию кафедры физиологии человека и животных (Казань, 2021).

По теме диссертации опубликовано 22 печатных работ, из них 5 публикаций в рецензируемых журналах (из списка ВАК, Scopus и Web of Science).

### **Личный вклад диссертанта в исследования**

Работа выполнена на кафедре охраны здоровья человека Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета и на кафедре нормальной физиологии Казанского государственного медицинского университета. Содержание диссертации и все представленные в ней результаты получены лично автором. Автором совместно с научным руководителем разработана программа, направление, методы исследований, а также проведено обсуждение результатов и подготовка публикаций.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из списка сокращений, введения, обзора литературы, описания материалов и методики исследования, результатов собственных исследований, обсуждения результатов, выводов и списка литературы, включающего 273 источника (28 из которых отечественных авторов и 245 – иностранных). Диссертация изложена на 155 страницах, содержит 54 рисунка и 36 таблиц.

## **ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ**

В качестве экспериментальной модели животных использовали белых лабораторных беспородных крыс в количестве 384 штук. В качестве наркоза использовали 25% раствор уретана из расчета 1,2 г/кг массы животного. Эксперименты проводились на 7-, 21- и 100-суточных крысах. Согласно данным литературы 7-суточные крысята характеризуются отсутствием симпатической влияния в сердце, у 21-суточных животных наблюдается пик частоты сердечных сокращений и высокий уровень симпатических влияний. 100-суточные животные выступают, как биологическая модель полного

формирования симпатической иннервации на сердце. Таким образом, нами рассматриваются животные с максимальным, минимальным и полностью морфо-функционально сформированным симпатическим отделом автономной нервной системы на деятельность сердца [Ситдииков, Зефиоров, 2006].

Сердце извлекали из грудной клетки и готовили препарат миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью, в который входил правое ушко предсердия, верхняя и нижняя полая вена и межпредсердная перегородка в районе которого находится синусно - предсердный узел.

#### **Методика фармакологических воздействий**

В качестве рабочего раствора во всех экспериментах использовали раствор «Тироде», в состав которого входит: 7,54 г/л NaCl; 0,3 г/л KCl; 0,134 г/л; CaCl<sub>2</sub>; 0,06 г/л MgSO<sub>4</sub>; 0,14г/л NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>; 1,68 г/л NaHCO<sub>3</sub>; 0,9 г/л глюкозы («Sigma-Aldrich, USA»). В работе использовали следующие химические вещества: неселективный агонист NPY («Sigma-Aldrich, USA»), агонист [Leu31, Pro34] NPY («Sigma-Aldrich, USA»), селективный блокатор BIBP 3226 («Sigma-Aldrich, USA»), и агонист β-адренорецепторов изопретенорол («Sigma-Aldrich, USA»).

#### **Методика регистрации сократимости полосок миокарда**

Регистрацию амплитудно-временных показателей изометрического сокращения полосок миокарда правого предсердия проводили на установке "PowerLab" ("ADInstruments") с датчиком силы "MLT 050/D" ("ADInstruments"). Миокард правого предсердия погружали в ванночку куда подавался рабочий раствор, который обогащали карбогеном в течение всего эксперимента (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>), pH раствора поддерживали в пределах 7.3-7.4. Температуру поддерживали на уровне (37±1°C), при помощи термостата. Механическое изометрическое сокращение фиксировали на персональном компьютере (программное обеспечение «Chart 5.1»).

Обработку кривой изометрического сокращения проводили в программе «Chart 5.1». При анализе амплитудно-временных показателей учитывали 12 знаков после запятой, в диссертации, для удобства, представляются значения с округлением до двух и четырех знаков после запятой.

#### **Методика внутриклеточной регистрации потенциала действия рабочих кардиомиоцитов**

Электрическую активность рабочих кардиомиоцитов изучали с использованием внутриклеточного микроэлектродного отведения у крыс разного возраста на препарате правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью. Препарат погружали в специальный резервуар куда подавался термостатируемый рабочий раствор (37±1°C), который обогащали карбогеном в течение всего эксперимента (95% O<sub>2</sub> и 5% CO<sub>2</sub>). Для поддержания pH в пределах 7.3-7.4 в раствор добавляли основной и кислотный буферы Trizma (Сигма). Внешнее раздражение осуществляли через платиновые электроды с частотой 5 Гц длительностью стимуляция 5 мс. и амплитудой 5–10 V. Мембранный потенциал (МП) и потенциал действия (ПД) регистрировали с использованием стеклянных микроэлектродов (диаметр кончика <1мкм, сопротивление 30-80 MΩ), которые изготавливались в день эксперимента на горизонтальном пуллере P-1000 («Sutter Instruments»).

Полученные записи электрической активности миокарда анализировали в оригинальной программе “Elph 3.0” [Zakharov, 2019]. Нами анализировались следующие амплитудно-временные параметры регистрации потенциала действия: частоту генерации ПД, амплитуда потенциала действия, длительность фазы деполяризации ПД, длительность фазы реполяризации ПД на уровне 20, 50 и 90%.

### **Статистическая обработка данных**

Все данные представлены как среднее значение  $\pm$  стандартная ошибка; n-число экспериментов. Достоверность различий рассчитывали по парному и не парному критерию Стьюдента с определением нормального распределения. Различия считались статистически достоверными при  $p < 0.05$ ;  $p < 0.01$ ;  $p < 0.001$ .

## **РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ**

### **Влияние нейропептида Y на показатели сокращения миокарда крыс в раннем постнатальном онтогенезе**

Первая серия экспериментов была направлена на определение наличия в миокарде крыс разного возраста рецепторов чувствительных к NPY. Для этого мы использовали препарат правого предсердия с сохранённым синусным узлом и спонтанной активностью. Аппликацию неселективного агониста проводили в диапазоне концентраций  $10^{-8-6}$ М (Рис. 1).

У 7-суточных животных NPY в концентрации  $10^{-8}$ М не приводил к достоверным изменениям исследуемых параметров изометрического сокращения. Агонист в концентрации  $10^{-7-6}$ М вызывал двухфазный эффект: частота спонтанной активности сначала увеличивалась на  $24 \pm 2\%$  и  $13 \pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ) а затем уменьшалась на  $9 \pm 2\%$  и  $8 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ), соответственно. Сила сокращения миокарда уменьшилась на  $12 \pm 3\%$  и  $28 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=7$ ). Длительность сокращения в исследуемом диапазоне концентраций не изменялась.

У 21-суточных животных агонист в концентрации  $10^{-8}$ М не приводил к достоверным изменениям исследуемых параметров ( $n=9$ ). NPY в концентрации  $10^{-7-6}$ М уменьшал частоту спонтанной активности на  $14 \pm 1\%$  и  $9 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ), соответственно. Уменьшение частоты спонтанной активности сопровождалась с увеличением длительности сокращения на  $12 \pm 8\%$  и  $8 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=8$ ). Сила сокращения не изменялась.

У 100-суточных животных NPY в концентрации  $10^{-8}$ М вызывал только уменьшение частоты спонтанной активности на  $7 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=7$ ). Увеличение концентрации агониста на один порядок приводила к уменьшению частоты спонтанной активности и амплитуды сокращения на  $8 \pm 2\%$  и  $12 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=10$ ), соответственно. NPY в концентрации  $10^{-6}$ М вызывал уменьшение частоты спонтанной активности на  $5 \pm 2\%$  и амплитуды сокращения на  $8 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=10$ ). Длительность сокращения не изменялась.



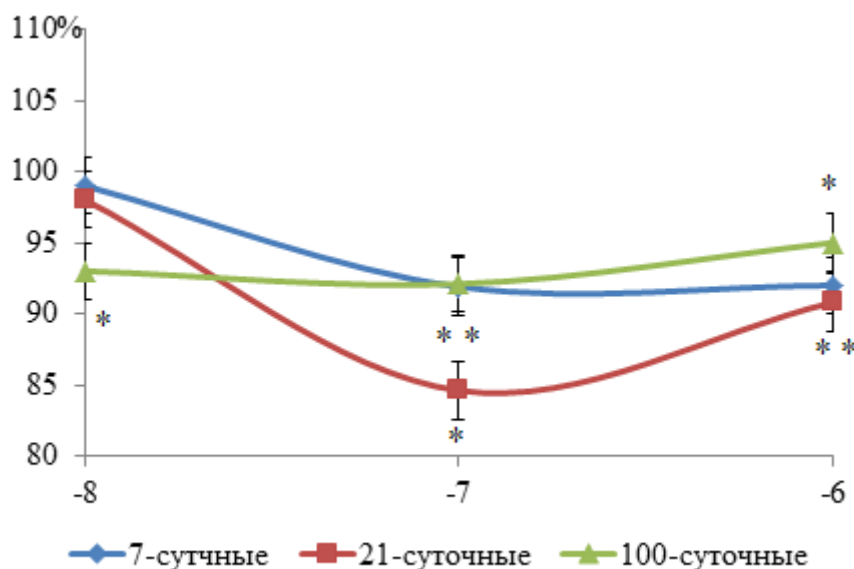


Рис. 1. Влияние NPY ( $10^{-8-6}$ М) на частоту спонтанной активности предсердного миокарда крыс разного возраста (\*- $p < 0.05$  относительно контроля).

Таким образом, неселективный агонист изменял амплитудно-временные характеристики изометрического сокращения правого предсердия крыс с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью во всех возрастных группах животных. Максимальный эффект на изменение частоты спонтанной активности наблюдается у 21-суточных животных в концентрации  $10^{-7}$ М и составляет  $14 \pm 1\%$ . Максимальный инотропный эффекту 7-суточных животных в концентрации  $10^{-6}$ М и составляет  $28 \pm 2\%$ . NPY является неселективным агонистом, активирует различные подтипы рецепторов, что приводит к появлению двухфазного эффекта.

### Исследование роли селективного агониста NPY1-рецепторов

#### [Leu31, Pro34] NPY на показатели сокращения миокарда растущих крыс

Вторая серия экспериментов была направлена на определение подтипа рецепторов, участвующих в изменении амплитудно-временных характеристик миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью крыс 7-, 21- и 100-суточного возраста. Нами был выбран [Leu31, Pro34] NPY [Horwood, 1987; Horowitz, Meiri, 1993], который по литературным данным является агонистом как Y1 так и Y5-типа рецепторов [Yulyaningsih *et al.*, 2011]. Аппликацию данного агониста проводили в диапазоне концентраций  $10^{-8-6}$ М (Рис. 2).

У 7-суточных животных [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-8}$ М уменьшал частоту спонтанной активности на  $24 \pm 7\%$  ( $p < 0.05$ ), увеличивал амплитуду и длительность сокращения миокарда на  $52 \pm 3\%$  и  $22 \pm 5\%$ , соответственно ( $p < 0.05$ ;  $n=4$ ). Увеличение концентрации [Leu31, Pro34] NPY приводило к уменьшению частоты спонтанной активности на  $17 \pm 8\%$  ( $p < 0.05$ ) и к увеличению длительности сокращения на  $12 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=7$ ). [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-6}$ М уменьшал частоту спонтанной активности на  $22 \pm 6\%$  ( $p < 0.05$ ) и увеличивал длительность сокращения на  $13 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=9$ ).

У 21-суточных животных [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-8}$ М уменьшал только амплитуду сокращения на  $28\pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=7$ ). Увеличение концентрации агониста приводило к уменьшению частоты спонтанной активности на  $10\pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ) и увеличению длительности сокращения на  $9\pm 5\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ). [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-6}$ М не вызывал достоверных изменений исследуемых параметров ( $n=7$ ).

У 100-суточных животных аппликация [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-8}$ М увеличивала только амплитуду сокращения на  $53\pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=5$ ). Увеличение концентрации агониста уменьшало частоту спонтанной активности на  $18\pm 2\%$  и увеличению амплитуды сокращения на  $21\pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ). [Leu31, Pro34] NPY ( $10^{-6}$ М) не вызывает достоверных изменений исследуемых параметров изометрического сокращения предсердного миокарда ( $n=8$ ).

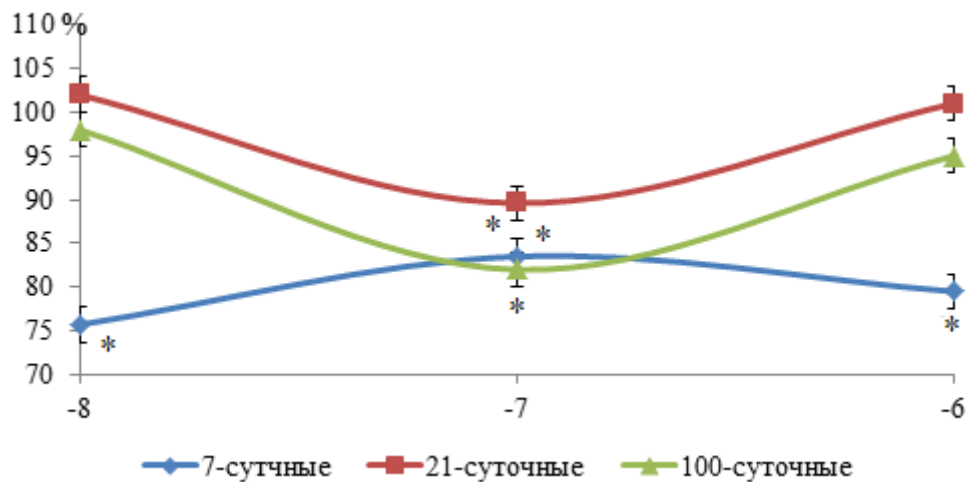


Рис. 2. Влияние [Leu31, Pro34] NPY ( $10^{-6}$ М) на частоту спонтанной активности предсердного миокарда крыс разного возраста (\*- $p < 0.05$  относительно контроля).

#### Аппликация селективного блокатора NPY1-рецепторов ВІВР 3226 на показатели сокращения миокарда крыс в раннем постнатальном онтогенезе

ВІВР 3226, доказал свою селективность для Y1-рецепторов [Feuerstein, 2006] в концентрации  $10^{-6}$ М [Wieland *et al.*, 1995]. Влияние ВІВР 3226 на амплитудно-временные параметры сократимости миокарда изучали в течение 20 минут (Рис. 3).

Во всех возрастных группах животных ВІВР 3226 уменьшал частоту спонтанной активности и силу сокращения миокарда правого предсердия. Максимальный эффект антагониста на частоту спонтанной активности и силу сокращения наблюдается у 7-суточных животных и составляет  $25\pm 2\%$ , ( $p < 0.05$ ) и  $37\pm 3$  ( $p < 0.05$ ;  $n=8$ ), соответственно. У 7- и 100-суточных животных длительность сокращения увеличивалась, а у 21-суточных не изменялась.

Согласно полученным данным, антагонист Y1-типа рецепторов ВІВР 3226 оказывает собственное влияние на амплитудно-временные показатели изометрического сокращения миокарда правого предсердия крыс и приводит к достоверным изменениям частоты спонтанной активности, силы сокращения миокарда и длительности изометрического сокращения.

### Изменения сократимости миокарда предсердий при взаимодействии [Leu31, Pro34] NPY и BIBP 3226

Исследовали влияние наиболее эффективной концентрации агониста NPY1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на фоне селективного блокатора этого типа рецепторов BIBP 3226. Аппликацию агониста производили на 2 минуте от начала добавления блокатора BIBP 3226 (Рис. 3).

При блокаде Y1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY вызывал уменьшение силы сокращения и частоты спонтанной активности предсердного миокарда во всех возрастных группах. Эффект блокатора на исследуемые параметры сохранялся у 7- и 100-суточных животных, что подтверждает участие в реализации отрицательного инотропного эффекта Y1-рецепторов. У 21-суточных животных эффект [Leu31, Pro34] NPY сохранялся, что может свидетельствовать об участии Y5-рецепторов в эффектах вызванных [Leu31, Pro34] NPY в предсердном миокарде.

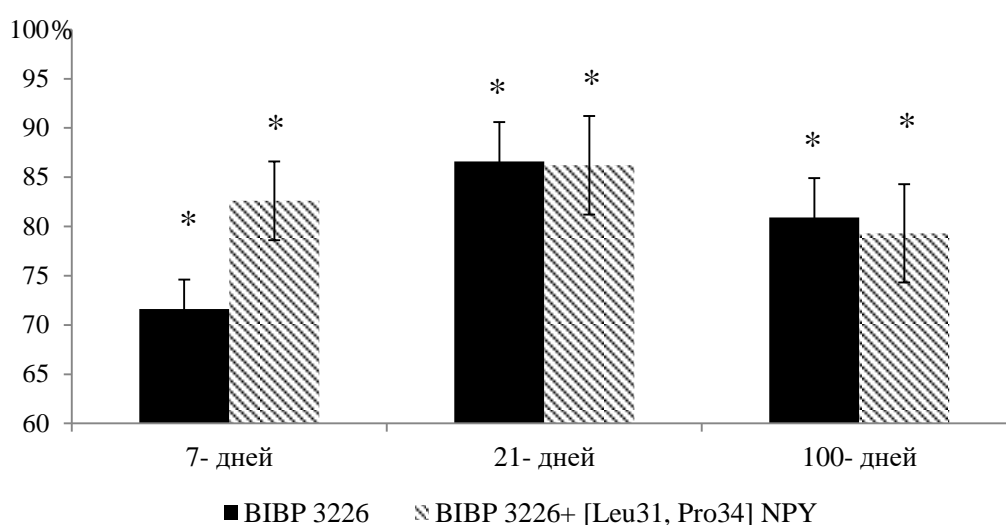


Рис. 3. Эффект антагониста Y1-рецепторов на частоту спонтанной активности предсердного миокарда крыс разного возраста (\*- $p < 0.05$  относительно контроля).

### Эффект изопретеренола на показатели сокращения миокарда растущих крыс

Неселективными антагонистами  $\beta$ -адренорецепторов являются норадrenalин, адреналин и изопретеренол [Basile, Cohen, 2003].

Добавление изопретеренола в концентрации  $10^{-5}$  M (Рис. 4) увеличивало частоту спонтанной активности у 7-суточных животных на  $114 \pm 8\%$  ( $p < 0.01$ ), у 21-суточных на  $107 \pm 1\%$  ( $p < 0.001$ ), у 100-суточных на  $214 \pm 7\%$  ( $p < 0.001$ ). Аппликация агониста  $\beta$ -адренорецепторов вызывала уменьшение длительности и силы сокращения во всех возрастных группах. Сила сокращения при аппликации агониста  $\beta$ -адренорецепторов уменьшалась у 7-суточных на  $20 \pm 5\%$  ( $p < 0.05$ ), у 21-суточных  $79 \pm 6\%$  ( $p < 0.001$ ), у 100-суточных  $71 \pm 8\%$  ( $p < 0.001$ ). Длительность сокращения у 7-суточных уменьшалась на  $50 \pm 9\%$  ( $p < 0.01$ ;  $n=3$ ), у 21-суточных  $51 \pm 10\%$  ( $p < 0.001$ ;  $n=5$ ), и 100-суточных  $49 \pm 8\%$  ( $p < 0.01$ ;  $n=5$ ).

Таким образом, агонист  $\beta$ -адренорецепторов изопретеренол вызывал изменения амплитудно-временных характеристик миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной

активностью во всех возрастных группах животных. Максимальный эффект на частоту спонтанной активности наблюдался у 100-суточных животных.

### Исследования взаимодействия $\beta$ -адренорецепторов и [Leu31, Pro34] NPY в регуляции сократимости миокарда крыс в раннем постнатальном онтогенезе

Для изучения возможного влияния NPY на эффекты изопротеренола изучали влияние последовательного введения агониста  $Y_1$ -рецепторов [Leu31, Pro34] NPY, который добавляли на 2 минуте после аппликации изопротеренола (Рис. 4).

Аппликация [Leu31, Pro34] NPY ослабляла эффект изопротеренола на предсердный миокард во всех возрастных группах. Совместное добавление [Leu31, Pro34] NPY и изопротеренола у 7-суточных животных уменьшало частоту спонтанной активности с  $114 \pm 8\%$  ( $p < 0.01$ ;  $n=3$ ) до  $91 \pm 5\%$  ( $p < 0.01$ ;  $n=8$ ), а длительность и сила сокращения не изменялись.

Совместное добавление [Leu31, Pro34] NPY и изопротеренола у 21-суточных животных уменьшало частоту спонтанной активности с  $107 \pm 1\%$  ( $p < 0.001$ ), до  $80 \pm 8\%$  ( $p < 0.01$ ), силу и длительность сокращения с  $79 \pm 6\%$  ( $p < 0.001$ ) до  $70 \pm 4\%$  ( $p < 0.01$ ) и с  $50 \pm 10\%$  ( $p < 0.001$ ;  $n=5$ ), до  $46 \pm 10\%$  ( $p < 0.01$ ;  $n=5$ ), относительно контроля соответственно.

Совместное добавление [Leu31, Pro34] NPY и изопротеренола у 100-суточных животных уменьшало частоту спонтанной активности с  $214 \pm 7\%$  ( $p < 0.001$ ) до  $90 \pm 3\%$  ( $p < 0.001$ ), что достоверно меньше эффекта изопротеренола. Сила и длительность сокращения уменьшалась с  $71 \pm 8\%$  ( $p < 0.001$ ) до  $50 \pm 4\%$  ( $p < 0.01$ ) и с  $49 \pm 8\%$  ( $p < 0.01$ ;  $n=5$ ) до  $47 \pm 4\%$  ( $p < 0.001$ ;  $n=8$ ), относительно контроля соответственно.

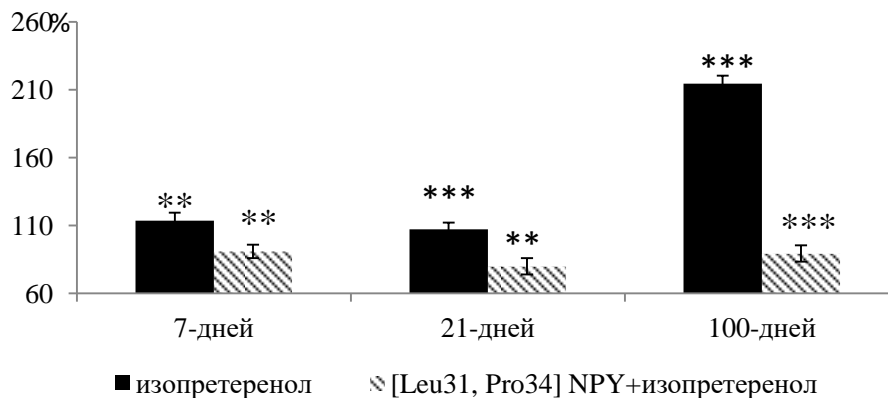


Рис. 4. Совместное влияние изопротеренола и агониста  $Y_1$ -рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на частоту спонтанной активности крыс разного возраста (\*\*- $p < 0.01$ ; \*\*\*- $p < 0.001$  относительно контроля).

Таким образом, наши исследования по совместному влиянию агонистов позволяют раскрыть модулирующую роль  $Y$ -рецепторов и  $\beta$ -адренорецепторов на частоту спонтанной активности и сократимость предсердного миокарда в раннем постнатальном онтогенезе.



**Влияние нейропептида Y на параметры биоэлектрической активности рабочих кардиомиоцитов крыс в раннем постнатальном онтогенезе**

У 7-суточных животных NPY в концентрации  $10^{-8}$ М вызывал изменения длительности фазы реполяризации относительно контрольных значений. ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> и ДПД<sub>90</sub> увеличилась на  $12\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ),  $15\pm 1\%$  ( $p<0.05$ ) и  $11\pm 4\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ), соответственно. NPY ( $10^{-7}$ М) уменьшал частоту возникновения ПД на  $16\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ), что сопровождалось увеличением ДПД<sub>50</sub> на  $10\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ). NPY в концентрации  $10^{-6}$ М увеличивал ДПД<sub>20</sub> на  $9\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ) относительно контроля.

У 21-суточных животных аппликация NPY в концентрации  $10^{-8}$ М (Рис. 5) уменьшала частоту возникновения ПД на  $13\pm 3\%$  ( $p<0.05$ ). ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> увеличились на  $10\pm 5\%$  ( $p<0.05$ ),  $11\pm 4\%$  ( $p<0.05$ ),  $9\pm 3\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ), соответственно. Увеличение концентрации агониста не приводила к достоверным изменениям исследуемых параметров ( $n=6$ ). NPY в концентрации  $10^{-6}$ М уменьшал частоту возникновения ПД на  $21\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ) и увеличивал ДПД<sub>20</sub> на  $5\pm 1\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ), относительно контроля соответственно.

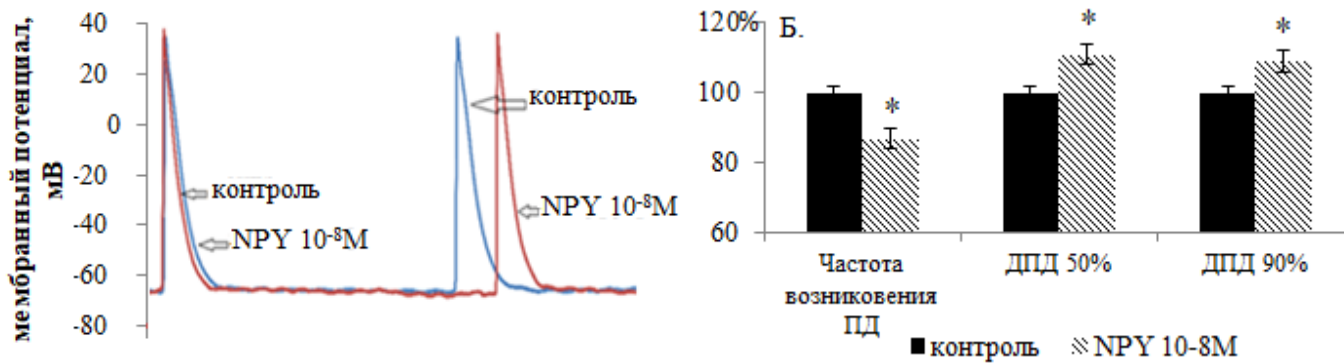


Рис. 5. Эффект NPY ( $10^{-8}$ М) на частоту и амплитудно-временные параметры ПД миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью у 21-суточных крыс (А-оригинальная запись; Б-эффект в процентах) (\*- $p<0.05$ , относительно контроля).

У 100-суточных животных NPY в концентрации  $10^{-8}$ М уменьшал ДПД<sub>90</sub> на  $25\pm 3\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=10$ ). NPY ( $10^{-7}$ М) уменьшал частоту возникновения ПД на  $16\pm 4\%$  и увеличивал ДПД<sub>50</sub> на  $10\pm 1\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=10$ ). NPY в концентрации  $10^{-6}$ М уменьшал частоту возникновения ПД на  $42\pm 5\%$  ( $p<0.01$ ) и затягивал ПД за счет увеличения длительности фазы реполяризации. ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, увеличивалась на  $10\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ),  $10\pm 1\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=10$ ).

Таким образом, основным эффектом NPY в рабочем миокарде являлось уменьшение частоты возникновения ПД и увеличение длительности фазы реполяризации потенциала действия во всех исследуемых возрастных группах. Мембранный потенциал и длительность фазы деполяризации не изменялись. Максимальный эффект NPY наблюдался у 7- и 21-суточных животных в концентрации  $10^{-8}$ М, у 100-суточных в концентрации  $10^{-6}$ М. Уменьшение частоты возникновения ПД приводит к увеличению длительности фазы реполяризации.

## Исследование роли селективного агониста NPY1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на параметры электрической активности миокарда растущих крыс

Изучали влияние неселективного агониста [Fuhlendorff et al., 1990]. NPY1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на биоэлектрическую активность кардиомиоцитов правого предсердия в концентрации  $10^{-7}$  М.

Аппликация [Leu31, Pro34] NPY вызывала уменьшение частоты возникновения ПД и увеличение длительности фазы реполяризации во всех возрастных группах относительно контрольных значений. Частота возникновения ПД у 7-суточных (Рис. 6А) животных уменьшалась на  $13 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ), у 21-суточных на  $7 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ), у 100-суточных на  $8 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ), относительно контроля. Достоверных различий в частоте спонтанной активности на добавление [Leu31, Pro34] NPY в разных возрастных группах выявлено не было. Во всех возрастных группах животных добавление [Leu31, Pro34] NPY приводило к увеличению ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> и ДПД<sub>90</sub>. У 7-суточных (Рис. 6Б) животных на  $6 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ),  $15 \pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $16 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ), у 21-суточных на  $9 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ),  $8 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $7 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ), у 100-суточных животных  $25 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ),  $22 \pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $12 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ), соответственно.

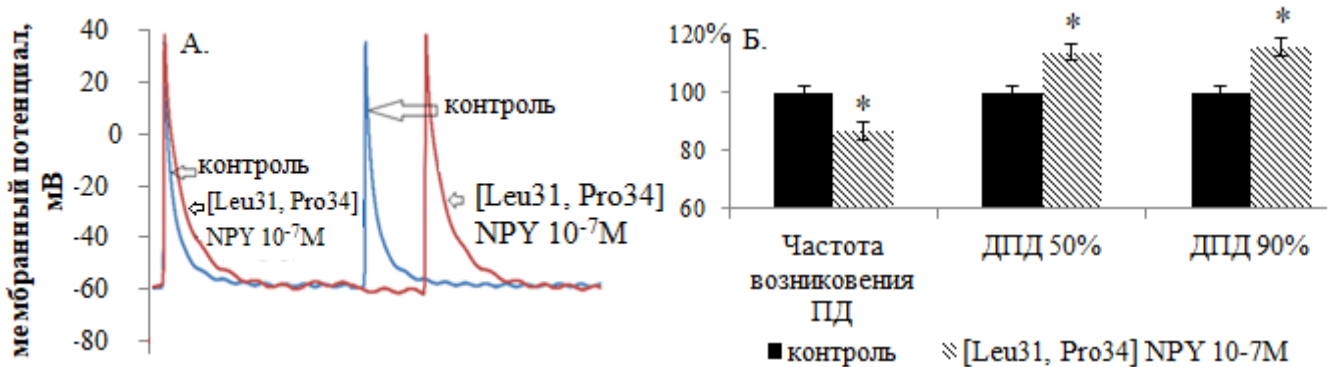


Рис. 6. Эффект агониста Y1 и Y5-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY ( $10^{-7}$  М) на частоту и амплитудно-временные параметры ПД миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью у 7-суточных крыс (А-оригинальная запись; Б-эффект в процентах) (\*- $p < 0.05$ , относительно контроля).

Таким образом, добавление агониста Y1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY уменьшает частоту возникновения ПД и увеличивает длительность фазы реполяризации во всех возрастных группах. Следовательно, Y1 – рецепторы локализованы на атипических кардиомиоцитах синусно-предсердного узла, а NPY способен оказывать влияние и на  $I_f$  токи сердца [Bryant, 1996]. Известно, что в формировании длительности фазы реполяризации ПД кардиомиоцитов участвуют многочисленные выходящие потенциал зависимые калиевые токи. У человека и у крысы длительность фазы реполяризации потенциала действия в основном определяется током  $I_{Kr}$  (быстрый и медленный компоненты токов задержанного выпрямления) [Virág, 2001]. Полученные нами данные об увеличении длительности фазы реполяризации ПД связаны с

изменениями кинетики К-каналов, что приводит к уменьшению суммарного К-тока. Известно, что калиевые каналы также являются мишенью для связанных с рецептором NPY G-белков. Активация рецепторов чувствительных к NPY может привести к активации или ингибированию калиевых каналов [Millar, 1991].

### **Апликация селективного блокатора NPY1-рецепторов ВІВР 3226 на параметры электрической активности миокарда крыс**

Селективный блокатор Y1-рецепторов ВІВР 3226 вызывал изменения длительности фазы реполяризации ПД. ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> у 7-суточных животных увеличивалась на  $9 \pm 2$  ( $p < 0.05$ ),  $8 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $10 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=8$ ), относительно контрольных значений. У 21-суточных животных ВІВР 3226 вызывал уменьшение ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> на  $9 \pm 6\%$  ( $p < 0.05$ ),  $15 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $9 \pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ), соответственно. У 100-суточных животных антагонист Y1-рецепторов уменьшал ДПД<sub>20</sub> и ДПД<sub>50</sub> на  $29 \pm 19\%$  ( $p < 0.05$ ),  $28 \pm 8\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ), соответственно.

### **Исследование электрической активности миокарда при взаимодействии [Leu31, Pro34] NPY и ВІВР 3226**

Для определения типа NPY-рецепторов, участвующих в формировании амплитудно-временных характеристиках предсердного миокарда исследовали влияние агониста NPY1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY ( $10^{-6}$ М) на фоне селективного антагониста этого типа рецепторов ВІВР 3226 ( $10^{-6}$  М). Добавление агониста производили на 2 минуте от начала добавления антагониста ВІВР 3226.

У 21-суточных животных агонист Y1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY вызывал уменьшение частоты возникновения ПД на  $7 \pm 1\%$  ( $p < 0.05$ ) которое сопровождалось увеличением длительности фазы реполяризации ПД. ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> и ДПД<sub>90</sub> увеличилась на  $9 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ),  $8 \pm 4\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $7 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ). Добавление антагониста уменьшало ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> на  $9 \pm 6\%$  ( $p < 0.05$ ),  $15 \pm 2\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $9 \pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=6$ ), соответственно без изменения частоты возникновения ПД и биоэлектрических параметров МП и ПД. При совместном добавлении антагониста и агониста Y1-рецепторов достоверных изменений исследуемых показателей относительно контрольных значений не наблюдалось.

У 7-суточных совместная апликация увеличивала длительность фазы реполяризации ПД. При добавлении [Leu31, Pro34] NPY на фоне селективного агониста эффект антагониста сохраняется. У 100-суточных животных антагонист вызывал уменьшение длительности фазы реполяризации ПД относительно контроля.

Таким образом, совместное введение селективного антагониста и агониста Y1-рецепторов приводило к сохранению эффекта антагониста у 7- и 100-суточных животных, а у 21-суточных эффект антагониста исчезает. Возможно, в изменениях длительности фазы реполяризации ПД у 7- и 100-суточных животных принимают участие Y5-рецепторы.

### **Эффект изопретеренола на параметры электрической активности рабочих кардиомиоцитов растущих крыс**

Агонистом  $\beta$ -адренорецепторов является изопретеренол. Исследовали влияние данного агониста на биоэлектрические параметры МП и ПД в концентрации  $10^{-8}$ М. Частота возникновения ПД увеличивалась при аппликации изопретеренола во всех группах животных, увеличение частоты возникновения ПД сопровождалось уменьшением длительности фазы реполяризации ПД. Достоверных различий в эффектах вызванных агонистом  $\beta$ -адренорецепторов в разных возрастных группах выявлено не было. Частота возникновения ПД увеличивалась (Рис. 7) у 7-суточных на  $47\pm 4\%$  ( $p<0.01$ ), у 21-суточных на  $35\pm 4\%$  ( $p<0.01$ ), у 100-суточных на  $33\pm 2\%$  ( $p<0.01$ ), относительно контроля. ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> уменьшались во всех возрастных группах. ДПД<sub>20</sub> у 7-суточных уменьшалась на  $14\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ), у 21-суточных на  $19\pm 1\%$  ( $p<0.01$ ), у 100-суточных животных (Рис. 7) на  $46\pm 3\%$  ( $p<0.001$ ). ДПД<sub>50</sub> уменьшалась у 7-суточных животных на  $27\pm 1\%$  ( $p<0.01$ ), у 21-суточных животных на  $24\pm 3\%$  ( $p<0.01$ ), у 100-суточных животных на  $45\pm 5\%$  ( $p<0.001$ ). ДПД<sub>90</sub> у 7-суточных уменьшалась на  $25\pm 13\%$  ( $p<0.01$ ;  $n=6$ ), у 21-суточных на  $17\pm 4\%$  ( $p<0.01$ ;  $n=6$ ), у 100-суточных на  $45\pm 5\%$  ( $p<0.001$ ;  $n=3$ ), соответственно.

Таким образом, агонист  $\beta$ -адренорецепторов вызывал изменения биоэлектрических параметров ПД миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью. Максимальное изменение частоты возникновения ПД наблюдается у 7-суточных животных. Максимальный эффект изопретеренола на длительность фазы реполяризации наблюдается у 100-суточных животных.

### **Исследования взаимодействия $\beta$ -адренорецепторов и [Leu31, Pro34] NPY в регуляции электрической активности миокарда в раннем постнатальном онтогенезе**

Для определения возможного влияния NPY на эффекты изопретеренола изучали влияние последовательного добавления [Leu31, Pro34] NPY и изопретеренола. Добавление [Leu31, Pro34] NPY ослаблял эффект изопретеренола во всех возрастных группах. Совместное добавление [Leu31, Pro34] NPY и изопретеренола у 7-суточных животных уменьшало частоту возникновения ПД с  $47\pm 4\%$  ( $p<0.01$ ) до  $20\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ). ДПД<sub>50</sub> уменьшалось с  $27\pm 1\%$  ( $p<0.01$ ) до  $9\pm 3\%$  ( $p<0.05$ ), ДПД<sub>90</sub> уменьшалось с  $25\pm 13\%$  ( $p<0.01$ ;  $n=6$ ) до  $8\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ) относительно контроля.

Совместная аппликация [Leu31, Pro34] NPY и изопретеренола у 21-суточных животных уменьшала частоту возникновения ПД с  $35\pm 4\%$  ( $p<0.01$ ) до  $13\pm 2\%$  ( $p<0.05$ ). ДПД<sub>50</sub> уменьшалась с  $24\pm 3\%$  ( $p<0.01$ ;  $n=6$ ) до  $18\pm 2$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ) относительно контроля.

Совместное добавление [Leu31, Pro34] NPY и изопретеренола у 100-суточных животных (Рис. 7) уменьшало частоту возникновения ПД с  $33\pm 2\%$  ( $p<0.01$ ) до  $6\pm 1\%$  ( $p<0.05$ ). ДПД<sub>50</sub> уменьшалась с  $45\pm 5\%$  ( $p<0.001$ ;  $n=3$ ) до  $26\pm 3\%$  ( $p<0.05$ ;  $n=6$ ) относительно контроля.



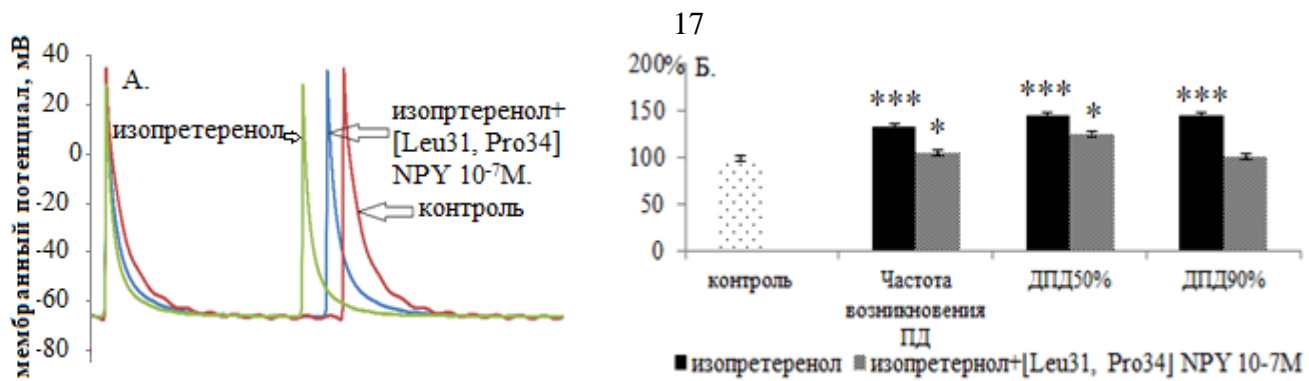


Рис. 7. Эффект изопртеренола и изопртеренола+агониста Y1 и Y5-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY на частоту и амплитудно-временные параметры ПД миокарда правого предсердия с сохраненным синусным узлом и спонтанной активностью у 100-суточных крыс (А-оригинальная запись; Б-эффект в процентах) (\*- $p < 0.05$ ; \*\*\*- $p < 0.001$ , относительно контроля).

Таким образом, совместное введение изопртеренола и [Leu31, Pro34] NPY оказывает компенсаторное действие у крыс 21- и 100-суточного возраста на частоту возникновения потенциала действия. Эффект изопртеренола уменьшался во всех возрастных группах, что может свидетельствовать о физиологической роли Y-рецепторов в раннем постнатальном онтогенезе.

#### Влияние нейропептида Y на параметры электрической активности при навязанном ритме рабочих кардиомиоцитов крыс

Следующая серия экспериментов была направлена на доказательства участия Y-рецепторов в биоэлектрических изменениях МП и ПД при постоянном ритме с частотой 5 Гц. Регистрацию проводили при навязанном ритме миокарда правого предсердия крыс 100-суточного возраста. Исследовали изменения МП и ПД при добавлении NPY в диапазоне концентраций  $10^{-8-6}$ М. Мембранный потенциал, амплитуда потенциала действия и длительность фазы деполяризации в исследуемом диапазоне концентраций не изменяется. Неселективный агонист в концентрации  $10^{-8-7}$ М не вызывал достоверных изменений биоэлектрических параметров. NPY в концентрации  $10^{-6}$ М вызывал уменьшение ДПД<sub>50</sub> на  $19 \pm 3\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=8$ ). [Leu31, Pro34] NPY в концентрации  $10^{-7}$ М вызывал уменьшения ДПД<sub>90</sub> на  $4 \pm 2\%$ , соответственно ( $p < 0.05$ ;  $n=8$ ). ВВР 3226 в концентрации  $10^{-6}$ М уменьшал ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub> относительно контроля на  $7,8 \pm 0.6\%$  ( $p < 0.05$ ) и  $10,5 \pm 1.0\%$  ( $p < 0.05$ ;  $n=8$ ), соответственно. При блокаде Y1-рецепторов [Leu31, Pro34] NPY не вызывал достоверных изменений исследуемых параметров электрической активности предсердного миокарда, что указывает на участие Y1-рецепторов в эффектах реализуемых NPY.

## Заключение

Нейропептид Y был открыт в 1982 г, и сразу после открытия данный пептид был синтезирован и определен как нейротрансмиттер, регулирующий разнообразные функции организма. Одним из объектов, в котором нейропептид Y может играть важную роль, является сердце. Неослабевающий интерес к изучению влияния данного пептида на деятельность сердца основывается на различных, нередко противоположных результатах, полученных разными исследователями в экспериментах как *in vivo*, так и *in vitro*. Нейропептид Y проявляет множество эффектов в сердце.

Подводя итоги исследования, можно заключить, что нейропептид Y способен оказывать существенное влияние на работу сердца крыс в раннем постнатальном онтогенезе. Обнаруженные эффекты NPY в миокарде правого предсердия крыс, возможно, опосредуются мембранными Y-рецепторами Y1,5-типа. Вероятно NPY, высвобождаемый вегетативными нервами в физиологических условиях, либо попадающие во внеклеточную среду из других источников, представляет собой компоненты симпатической регуляторной системы и является частью ранее не изученного механизма регуляции работы сердца. Наличие разных подтипов Y-рецепторов предполагает, что одно и то же вещество может активировать самые разные специфические эффекты в зависимости от того, с каким рецептором оно будет связываться.

Известно, что Y-рецепторы сопряжены с G белками, и их активация может приводить к передаче сигнала через несколько внутриклеточных каскадов. В диссертационной работе изучена роль Y1-рецептора в реализации эффектов нейропептида Y в сократимости и электрической активности миокарда правого предсердия крыс в раннем постнатальном онтогенезе. Показано, что данный подтип рецепторов участвует в эффектах реализуемых нейропептидом Y, и, вероятнее всего, эффекты нейропептида Y опосредуются, блокадой аденилатциклазы, по крайней мере, в сердце крысы.

В наших экспериментах нейропептид Y и агонист Y-рецепторов вызывал уменьшение частоты спонтанной активности во всех возрастных группах. Максимальный эффект наблюдался у крыс 7-суточного возраста, которые характеризуются незрелыми симпатическими регуляторными влияниями. Минимальный эффект наблюдался у 100-дневных животных, которые характеризуются развитой симпатической иннервацией на сердце. Наибольший отрицательный инотропный эффект наблюдается у 21-суточных животных, а максимальный у 7-суточных животных. Следовательно, роль Y-рецепторов изменяется в раннем постнатальном онтогенезе крыс.

Уменьшение сократимости миокарда может быть связано с активацией ингибирующих белков и блокадой аденилатциклазы. В наших экспериментах нейропептид Y и агонист Y-рецепторов вызывали уменьшение частоты спонтанной активности во всех возрастных группах. Максимальный эффект наблюдался у крыс 7-суточного возраста, которые характеризуются незрелыми симпатическими регуляторными влияниями. Минимальный эффект наблюдался у 100-суточных животных, которые характеризуются развитой симпатической иннервацией на сердце. Наибольший отрицательный инотропный эффект наблюдается у 21-суточных животных, а максимальный у 7-суточных животных. Следовательно, роль Y-рецепторов изменяется в раннем постнатальном онтогенезе крыс.

При изучении эффектов стимуляции  $\Upsilon$ -рецепторов на параметры биоэлектрической активности рабочих кардиомиоцитов правого предсердия крыс в постнатальном онтогенезе было показано, что [Leu31, Pro34] NPY оказывал влияние на длительность реполяризации на уровне ДПД<sub>20</sub>, ДПД<sub>50</sub>, ДПД<sub>90</sub> крыс 7-, 21- и 100-суточного возраста. Максимальное увеличение длительности фазы реполяризации наблюдается у 7-суточных животных. Минимальное удлинение длительности фазы реполяризации при стимуляции  $\Upsilon$ -рецепторов наблюдалось у 21-суточных животных. Данные изменения могут быть связаны с влиянием нейропептида  $\Upsilon$  на GIRK каналы и изменениями кинетики К токов.

Исследования взаимодействия адренорецепторов и  $\Upsilon$ -рецепторов сердца является необходимым, так как нейропептид  $\Upsilon$  находится в одной везикуле совместно с норадреналином. Полученные данные по совместному влиянию позволят лучше раскрыть физиологическую роль  $\Upsilon$ -рецепторов в раннем постнатальном онтогенезе. При совместном действии изопретеренола и [Leu31, Pro34] NPY во всех возрастных группах наблюдается тенденция к уменьшению действия изопретеренола.

**Выводы**

1. NPY и его аналоги вызывают уменьшение частоты спонтанной активности правого предсердия крыс во всех исследуемых возрастных группах и этот эффект опосредуется активацией Y1-рецепторов.
2. Установлено возрастные особенности влияния NPY на сократимость миокарда правого предсердия при спонтанной активности. Уменьшение сократимости миокарда при действии NPY наблюдается у 7- и 100-суточных животных.
3. Влияние NPY на сократимость миокарда правого предсердия реализуется через Y1 – рецепторы.
4. Селективная блокада Y1-рецепторов оказывает разнонаправленный инотропный эффект на сократимость предсердного миокарда 7-, 21- и 100-суточных крыс.
5. Отрицательный инотропный эффект блокатора Y1-рецепторов BIBP 3226 на миокард предсердий сохраняется в условиях активации Y1-рецепторов.
6. Установлены ответные реакции миокарда правого предсердия по частоте и силе сокращения на агонисты (NPY, [Leu31, Pro34] NPY) и антагонист (BIBP 3226) Y1-рецепторов, которые могут быть использованы для регулирования функционального состояния миокарда, это имеет прикладное и справочное значение.
7. Нейропептид Y и агонист Y1-рецепторов увеличивают длительность фазы реполяризации рабочих кардиомиоцитов правого предсердия при спонтанной активности во всех возрастных группах животных.
8. Селективная блокада Y1- рецепторов оказывает разнонаправленный эффект на длительность ПД в зависимости от возраста животных. Длительность фазы реполяризации рабочих кардиомиоцитов правого предсердия увеличивается у 7-суточных и уменьшается у 21- и 100-суточных животных.
9. В условиях блокады Y1-рецепторов-BIBP 3226 эффект агониста [Leu31, Pro34] NPY полностью предотвращается. Таким образом, Y1-рецепторы принимают участие в регуляции электрической активности предсердного миокарда.
10. Частота спонтанной активности и отрицательный инотропный и положительный хронотропный эффект изопротеренола уменьшается у 100-суточных животных при совместном добавлении [Leu31, Pro34] NPY. У 7-и 21- суточных животных наблюдается тенденция к уменьшению эффекта изопротеренола.
11. Совместное действие изопротеренола и [Leu31, Pro34] NPY у 7- и 100-суточных животных приводит к уменьшению эффекта изопротеренола на параметры электрической активности миокарда правого предсердия.



**СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ**

**Статьи, опубликованные в журналах Scopus и RSCI в изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете КФУ 03.06 по специальности физиология 03.03.01**

1. Zverev, A.A. Effects of neuropeptide  $\gamma$  on electrical activity and myocardial contractility / A.A. Zverev, T.A. Anikina, **N.G. Iskakov**, A.V. Krulova, P.M. Masliukov, J.P. Timmermans, T.L. Zefirov // Uchenye Zapiski Kazanskogo Universiteta. Seriya Estestvennye Nauki. – 2018. – V. 160. - №. 4. – P. – 601-612. (WoS, Scopus, личный вклад автора 50%).

WOS:000504474800006

2. Zverev, A.A. Effect of Neuropeptide Y on Action Potential Generation in Working Cardiomyocytes of the Right Atrium in Rat Heart / A.A Zverev, T.A Anikina, **N.G Iskakov**, A.L Zefirov, T.L Zefirov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2018. – V.165. - №. 5. – P. – 610-612. (БАК, WoS, Scopus, личный вклад автора 50%).

DOI: 10.1007/s10517-018-4224-5

3. Zverev, A.A. Effect of Neuropeptide Y on Action Potential of Working Right Atrial Cardiomyocytes in Early Postnatal Ontogeny / A.A Zverev, T.A Anikina, **N.G Iskakov**, A.L Zefirov, T.L Zefirov // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2019. – V. – 167. - №. 6. – P. 716-719. (БАК, WoS, Scopus, личный вклад автора 50%).

DOI: 10.1007/s10517-019-04606-w

4. **Iskakov, N.G.** NPY receptors Participate in the Change of Electrical Activity of Working Cardiomyocytes of the Right Atrium and Ventricle of Newborn Rats / N.G. Iskakov, A.A. Zverev, T.A. Anikina, E.N. Zvereva, A.V. Krulova, T.L. Zefirov // Biologicheskie Membrany. – 2020. – V. 37. - №. 3. – P. 208-214. (Scopus, личный вклад автора 50%).

DOI: 10.31857/S0233475520020061

**Тезисы докладов в рецензируемых журналах:**

1. Zverev, A.A. NPY regulates electrical activity rats atrial cells / A.A. Zverev, T.A. Anikina, A.A. Rizvanov, **N.G. Iskakov**, T.P. Zefirova // Molecular biology of the cell. – 2018. – Т. 29. - №. 26. - P. 3475, (WoS).

WOS:000505772704600

2. **Iskakov, N.G.** Developmental changes of NPY1-receptor rats myocardial cells contractility regulation / N.G. Iskakov, A.A. Zverev, T.A. Anikina, A.A. Rizvanov, T.P. Zefirova // Molecular biology of the cell. – 2018. – Т. 29. - №. 26. - P. 3476, (WoS).

WOS:000505772704601

3. Zefirov, T.L. Role of NPY<sub>1,5</sub>-receptors in the neonatal rats myocardial contractility // T.L. Zefirov, A.A. Zverev, N.G. Iskakov, P.M. Masliukov, T.A. Anikina // European journal of clinical investigation. - 2018. - V.48. – Suppl.1. - P.140-141, (WoS).

WOS:000434100200304

4. Zverev, A.A. NPY regulates electrical activity atrial and ventricle cardiomyocytes in postnatal ontogenesis of rats / A.A. Zverev, T.A. Anikina, N.G. Iskakov, E.N. Zvereva, T.L. Zefirov // European Journal of Clinical Investigation. – 2019. – V.49. - Suppl.1. – P. 146, (WoS).

WOS:000466956400290

#### Статьи в отечественных журналах, входящих в перечень ВАК

1. Зверев, А.А. Участие Y<sub>1</sub>-рецепторов в регуляции электрической активности кардиомиоцитов крыс в раннем постнатальном онтогенезе / А.А. Зверев, Н.Г. Искаков, Т.А. Аникина, Е.Н. Зверева, Т.Л. Зефирова // Российский физиологический журнал им. Сеченова. - 2019. – Т. 105. - №. 10.- С. 1305-1315. (статья ВАК),

DOI: 10.1134/S0869813919100133

#### Тезисы докладов международных и российских конференций

1. **Искаков, Н.Г.** Изменение параметров потенциала действия препарата правого предсердия крыс на фоне блокады NPY<sub>1</sub> рецепторов / Н.Г. Искаков // Адаптация развивающегося организма: материалы XIV Международной научной конференции. 1-2 октября 2018 г. – Казань: Отечество, 2018. - С. 69.

2. Зверев, А.А. Нейропептид Y изменяет форму потенциала действия крыс / А.А. Зверев, **Н.Г. Искаков**, Т.А. Аникина, Т.Л. Зефирова // Адаптация развивающегося организма: материалы XIV Международной научной конференции. 1-2 октября 2018 г. – Казань: Отечество, 2018. - С. 62-63.

3. **Искаков, Н.Г.** Блокатор В<sub>1В</sub>Р 3226 изменяет параметры потенциала действия рабочих кардиомиоцитов правого предсердия крыс / Н.Г. Искаков, А.А. Зверев, Т.А. Аникина, Т.Л. Зефирова // Современные проблемы нейробиологии. Материалы III международной научной конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора Шилкина Валентина Викторовича. – Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2018. - С. 27-28.

4. Зверев, А.А. Нейропептид Y изменяет форму потенциала действия рабочих кардиомиоцитов крыс / А.А. Зверев, **Н.Г. Искаков**, Т.А. Аникина, Е.Н. Зверева, Т.Л. Зефирова // Современные проблемы нейробиологии. Материалы III международной научной конференции, посвященной памяти заслуженного деятеля науки РФ, профессора Шилкина Валентина Викторовича. – Ярославль: ФГБОУ ВО ЯГМУ Минздрава России, 2018. - С. 26-27.

5. Зверев, А.А. Роль селективного агониста NPY<sub>1</sub>-рецепторов в генерации потенциала действия рабочих кардиомиоцитов правого предсердия крыс / А.А. Зверев, **Н.Г. Искаков**, Т.А. Аникина, А.В. Крылова, Т.Л. Зефирова // Фундаментальная и клиническая электрофизиология сердца. Актуальные вопросы аритмологии: сборник материалов II Всероссийской научно-практической конференции с

международным участием, посвященной А.Ф. Самойлову. Казань, 6-7 апреля 2018 г. - Казань: Медицинский издательский дом ООО «Практика», 2018. – С. 22-23.

6. Зверев, А.А. Изменение формы потенциала действия рабочих кардиомиоцитов предсердий 21- и 100-дневных крыс под влиянием нейропептида Y / А.А. Зверев, Т.А. Аникина, **Н.Г. Исаков**, Е.Н. Зверева, А.В. Крылова, Т.Л. Зефилов // Сборник тезисов. III Международного конгресса, посвященного А.Ф. Самойлову. «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы аритмологии». 5–6 апреля 2019г., г. Казань. М.: Издательство ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 2019. – С. 58.

7. Аникина, Т.А. Изменение формы потенциала действия рабочих кардиомиоцитов предсердий 7- и 100-дневных крыс под влиянием нейропептида Y / Т.А. Аникина, А.А. Зверев, **Н.Г. Исаков**, Е.Н. Зверева, А.В. Крылова, Т.Л. Зефилов // Сборник тезисов. III Международного конгресса, посвященного А.Ф. Самойлову. «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы аритмологии». 5–6 апреля 2019г., г. Казань. М.: Издательство ФГАОУ ВО Первый МГМУ им. И.М. Сеченова Минздрава России, 2019. - С. 51.

8. **Исаков, Н.Г.** Пептидэргическая регуляция сердца / Н.Г. Исаков, Салман. Раша, А.А. Зверев, Т.А. Аникина, А.С. Шалавина, Р.В. Терехин, Т.Л. Зефилов // Сборник материалов IV-й Международной конференции, посвященной А.Ф. Самойлову «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы аритмологии» планировавшиеся даты: 7-8 апреля 2020 года, г. Казань. — М.: Издательство ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). - 2020. - С. 32.

9. **Исаков, Н.Г.** Роль NPY в изменениях параметров потенциала действия рабочих кардиомиоцитов, а также силы и частоты спонтанной активности правого предсердия взрослых крыс / Н.Г. Исаков, А.А. Зверев, Т.А. Аникина, А.С. Шалавина, Д.А. Ирдинкин, Т.Л. Зефилов // Сборник материалов IV-й Международной конференции, посвященной А.Ф. Самойлову «Фундаментальная и клиническая электрофизиология. Актуальные вопросы аритмологии» планировавшиеся даты: 7-8 апреля 2020 года, г. Казань. - М.: Издательство ФГАОУ ВО Первый МГМУ имени И.М. Сеченова Минздрава России (Сеченовский Университет). - 2020. - С. 31-32.

10. **Исаков, Н.Г.** Роль NPY1-рецепторов в регуляции силы и частоты спонтанной активности правого предсердия крыс / Н.Г. Исаков, Е.Н. Зверева, Т.А. Аникина, Т.Л. Зефилов // Актуальные проблемы биомедицины - 2020: Сборник тезисов XXVI Всероссийской конференции молодых ученых с международным участием, Санкт-Петербург, 26-27 марта. / Отв. Ред. Т.Д. Власов. - СПб.: РИЦ ПСПбГМУ, 2020. - С. 243-245.

11. Зверев, А.А. Нейропептидэргическая регуляция правого предсердия крыс / А.А. Зверев, **Н.Г. Исаков**, Т.А. Аникина, Е.Н. Зверева, Н. Мансур, Т.Л. Зефилов // Физиология и патология кровообращения: VII Всероссийская с международным участием школа-конференция. Москва, 3-6 февраля 2020 г.: Тезисы докладов. - М.: РА «ИЛЬФ», 2020. - С. 51.

12. **Исаков, Н.Г.** Нейропептид Y регулирует силу и частоту сокращения предсердного миокарда 21-дневных крыс / Н.Г. Исаков, А.А. Зверев, Т.А. Аникина, Н.Н. Чершинцева, А.С. Шалавина, Т.Л.

Зефилов // Самойловские чтения. Современные проблемы нейрофизиологии: сборник тезисов Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 145-летию кафедры физиологии человека и животных (Казань, 27 февраля 2021 г.) под общ. Ред. Г.Ф. Ситдиковой. - Казань: Издательство Казанского университета, 2021. – С. 125-126.

13. **Искаков, Н.Г.** Эффект NPY в генерации потенциала действия рабочих кардиомиоцитов правого предсердия новорожденных крысят / Н.Г. Искаков, А.А. Зверев, Т.А. Аникина, Д.А. Ирдинкин, А.М. Валиева, А.В. Крылова, Т.Л. Зефилов // Самойловские чтения. Современные проблемы нейрофизиологии: сборник тезисов Всероссийской конференции с международным участием, посвященной 145-летию кафедры физиологии человека и животных (Казань, 27 февраля 2021 г.) под общ. Ред. Г.Ф. Ситдиковой. - Казань: Издательство Казанского университета, 2021. - С. 127-128.

Эл. почта автора: [nikitaiskakov1992@mail.ru](mailto:nikitaiskakov1992@mail.ru)

Адрес для отзывов на автореферат: 420008, Казань, ул. Кремлевская, 18, Казанский (Приволжский) федеральный университет, отдел аттестации научно-педагогических кадров, ученому секретарю Диссертационного совета КФУ.03.06 Аникиной Татьяне Андреевне,

факс: +7 (843) 238-76-01

эл. почта: [tania57vgl@rambler.ru](mailto:tania57vgl@rambler.ru)

### **Благодарности**

Автор выражает искреннюю благодарность Звереву Алексею Анатольевичу за чуткое руководство, помощь и поддержку на всех этапах исследования; Зефилову Тимуру Львовичу за внимательное отношение и рекомендации к работе; Ситдикову Фариту Габдулхаковичу за внимательное прочтение и рецензирование работы; Татьяне Андреевне Аникиной за помощь в получении результатов и написании статей и рекомендации к работе; Зиятдиновой Нафисе Ильгизовне за рецензирование работы.

Автор выражает глубокую благодарность сотрудникам кафедры охраны здоровья человека Института фундаментальной медицины и биологии Казанского (Приволжского) федерального университета и кафедры нормальной физиологии Казанского Государственного медицинского университета за всестороннюю помощь и поддержку.